

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 18/12/2019.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
"JULIO DE MESQUITA FILHO"  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
CÂMPUS DE ARARAQUARA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS E BIOTECNOLOGIA  
APLICADAS À FARMÁCIA

**Sarah Raquel De Annunzio**

**Atividade antimicrobiana sinérgica da terapia fotodinâmica e  
tetraciclina contra *Propionibacterium acnes***

**Processo CNPq nº 130182/2016-8**

Araraquara - SP  
2017

**Sarah Raquel De Annunzio**

**Atividade antimicrobiana sinérgica da terapia  
fotodinâmica e tetraciclina contra *Propionibacterium*  
*acnes***

Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós - graduação em Biociências e Biotecnologias aplicadas à Farmácia, da faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho”, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia.

Orientadora: Profa. Dra. Carla Raquel Fontana

Araraquara - SP  
2017

**Ficha Catalográfica**

Elaborada Por Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
UNESP – Campus de Araraquara

**D281a** De Annunzio, Sarah Raquel  
Atividade antimicrobiana sinérgica da terapia fotodinâmica e tetraciclina contra  
*Propionibacterium acnes* / Sarah Raquel De Annunzio. – Araraquara, 2017.  
87 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”.  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Programa de Pós-Graduação em Biociências e  
Biotecnologia Aplicadas à Farmácia. Área de pesquisa em Bacteriologia.

Orientador: Carla Raquel Fontana.

1. Terapia Fotodinâmica. 2. Acne vulgar. 3. *Propionibacterium acnes*. 4. Curcumina.  
5. Tetraciclina. 6. Terapia combinada. I. Fontana, Carla Raquel, orient. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada por Maria Irani Coito CRB-8/4.440

**CAPES: 40500005**

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:** Atividade antimicrobiana sinérgica da terapia fotodinâmica e tetraciclina contra *Propionibacterium acnes*

**AUTORA:** SARAH RAQUEL DE ANNUNZIO

**ORIENTADORA:** CARLA RAQUEL FONTANA MENDONÇA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em BIOCÊNCIAS E BIOTECNOLOGIA APLICADAS À FARMÁCIA, área: ANÁLISES CLÍNICAS pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. CARLA RAQUEL FONTANA MENDONÇA  
Depto de Análises Clínicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas- Araraquara-UNESP



Profa. Dra. ILANA LOPES BARATELLA DA CUNHA CAMARGO  
Departamento de Física e Ciências Interdisciplinares / UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



Dra. JULIANA CABRINI CARMELLO  
Doutora em Reabilitação Oral / Faculdade de Odontologia do Câmpus de Araraquara da UNESP

Araraquara, 18 de dezembro de 2017

*Dedico esse trabalho aos meus pais e ao meu irmão, pelo apoio e incentivo em todos os momentos!*

## AGRADECIMENTOS

*À Deus, por me dar forças e serenidade em todos os momentos e por ter colocado em meu caminho tantas pessoas maravilhosas!*

*Aos meus pais, por sempre terem me incentivado e por muitas vezes abrirem mão dos seus sonhos para que eu pudesse realizar os meus! O apoio de vocês foi fundamental para que esse trabalho fosse realizado! NÓS conseguimos!*

*Ao meu irmão Renato, que sempre esteve presente para me apoiar, com seu jeito divertido, sempre me ajudando e animando nos momentos difíceis!*

*À minha tia Elza, por sempre torcer por mim, me apoiar e incentivar!*

*À minha orientadora Carla, por compartilhar comigo toda sua bagagem de conhecimentos, e não apenas por ser minha orientadora, mas também por ser minha amiga! O meu eterno carinho, respeito, gratidão e admiração por você, Carla! Não apenas por ser essa excelente profissional, mas por ser esse ser humano incrível! Sou muito grata por ter uma orientadora como você!*

*À técnica de laboratório Elaine, por todas as ajudas no laboratório, pela excelente convivência, pela amizade! Minha eterna gratidão e carinho por você!*

*Aos amigos do laboratório, Malu, Laura, Lucas e Laís! Com certeza a minha trajetória no mestrado foi mais alegre, divertida e leve com a presença de vocês! Sou muito grata por ter tido a oportunidade de trabalhar com pessoas tão especiais como vocês!*

*A todos os professores e funcionários da FCFAr, em especial as meninas da seção técnica de pós graduação: Cláudia, Daniela, Aniele e Chirstiane, por serem sempre tão gentis e solícitas!*

*Às meninas da república Colgatas: Gardenha, Larissa e Raquel, por terem sido minha família nesse período, pela convivência harmoniosa, por me ajudarem e incentivarem nos momentos difíceis e por tornarem meus dias mais leves, felizes e divertidos!*

*Aprendi muito com todas vocês! A minha eterna gratidão e carinho por vocês!*

*Ao Cnpq (número do processo: 130182/2016-8 , pelo apoio financeiro deste trabalho!*



*O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.*  
*(José de Alencar)*

## LISTA DE FIGURAS

## PÁGINA

FIGURA 1.....	28
FIGURA 2 .....	30
FIGURA 3 .....	32
FIGURA 4.....	44
FIGURA 5 .....	45
FIGURA 6 .....	45
FIGURA 7.....	46
FIGURA 8 .....	47
FIGURA 9 .....	48
FIGURA 10 .....	49
FIGURA 11 .....	49
FIGURA 12 .....	50
FIGURA 13 .....	51
FIGURA 14 .....	52
FIGURA 15 .....	53
FIGURA 16 .....	53
FIGURA 17 .....	54
FIGURA 18 .....	55
FIGURA 19 .....	55
FIGURA 20 .....	56
FIGURA 21 .....	57
FIGURA 22 .....	58
FIGURA 23 .....	59
FIGURA 24 .....	60
FIGURA 25 .....	61
FIGURA 26 .....	62
FIGURA 27 .....	63
FIGURA 28 .....	64
FIGURA 29 .....	65
FIGURA 30 .....	67
FIGURA 31 .....	68
FIGURA 32 .....	69
FIGURA 33 .....	70

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1.....	35
TABELA 2 .....	39

## LISTA DE ABREVIATURAS

+L	Presença de luz
5-ALA	Ácido 5-aminolevulínico
ANOVA	Análise de Variância
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
CA	Califórnia
CBM	Concentração bactericida mínima
CN	Controle negativo
CV	Controle de veículo
COCs	Contraceptivos Orais Combinados
D.O.	Densidade ótica
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
EUA	Estados Unidos da América
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FS	Fotossensibilizador
IPL	<i>Intensed Pulsed Light</i>
LED	<i>Light Emitting Diodes</i>
Log <sub>10</sub>	Logarítimo na base 10
LPS	Lipopolissacarídeo
MH	Caldo <i>Mueller Hinton</i>
Min.	Minutos
Ns	Não significativo
N	Número amostral
PBS	Salina tamponada com fosfato
<i>P. acnes</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>
RCA	<i>Reinforced Clostridial Agar</i>
Seg.	Segundos
TLRs	<i>Toll-like Receptors</i>
TSB	Caldo <i>Tryptic Soy Broth</i>

TETRA	Tetraciclina
UV-VIS	Ultravioleta-Visível

### LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
<b>cél/mL</b>	Célula por mililitro
<b>g/mol</b>	Gramas por mol
<b>IL-12</b>	Interleucina 12
<b>IL-17</b>	Interleucina 17
<b>IL-1<math>\alpha</math></b>	Interleucina 1 alfa
<b>IL-8</b>	Interleucina 8
<b>J/cm<sup>2</sup></b>	Joules por centímetro quadrado
<b>mL</b>	Mililitro
<b>mW/cm<sup>2</sup></b>	Milliwatts por centímetro quadrado
<b>nm</b>	Nanômetros
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Fator de Necrose Tumoral alfa
<b>UFC/mL</b>	Unidades Formadoras de Colônia por mililitro
<b><math>\mu</math>g/mL</b>	Micrograma por mililitro
<b><math>\mu</math>L</b>	Microlitros

## SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	12
1. INTRODUÇÃO .....	17
1.1. <i>Propionibacterium acnes</i> .....	18
1.2. Biofilme bacteriano e a Acne vulgar .....	19
1.3. Tratamentos Convencionais para acne vulgar .....	20
1.4. Terapia Fotodinâmica.....	22
2. OBJETIVOS.....	25
2.1. Objetivo geral .....	25
2.2. Objetivos Específicos .....	25
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
3.1. Materiais de Consumo e Instrumentais.....	26
3.2. Equipamentos.....	27
3.3. Método – Estudo I (Avaliação da TFDa mediada por curcumina dissolvida em caldo TSB e solução de sacarose 0,5% em fase planctônica e biofilme) .....	27
3.3.1. Reativação da Cepa.....	27
3.3.2. Curva de crescimento .....	28
3.3.3. Fotossensibilizador e fonte de Luz .....	29
3.3.4. Espectro de absorção da solução de Curcumina .....	30
3.3.5. Terapia Fotodinâmica.....	30
3.3.6. Avaliação da viabilidade celular em fase planctônica (UFC/mL) .....	31
3.3.7. Grupos avaliados em fase planctônica.....	33
3.3.8. Desenvolvimento do biofilme e avaliação da viabilidade celular (UFC/mL) .....	35
3.3.9.1. Inibição da formação do biofilme.....	37
3.3.9.2. Grupos avaliados em biofilme .....	37
-Grupo controle negativo (CN) .....	37
3.3.9.3. Análise estatística .....	39
3.4. Método – Estudo II (Avaliação da atividade sinérgica da TFDa e tetraciclina) .....	39
3.4.2. Terapia combinada em fase planctônica.....	40
3.4.3. TFDa seguida de antibiótico.....	40
3.4.4. Antibiótico seguido de TFDa .....	41
3.4.5. Terapia combinada em biofilme .....	42
3.4.6. Análise Estatística .....	44
4. RESULTADOS.....	44

4.1. ESTUDO I.....	44
4.1.2. Curva de crescimento .....	44
4.1.3. Espectros de absorção de luz.....	45
4.1.4. Terapia fotodinâmica mediada por curcumina dissolvida em caldo TSB em fase planctônica.....	47
4.1.5. Terapia fotodinâmica mediada por curcumina dissolvida em sacarose 0,5% em fase planctônica.....	52
4.1.6. Terapia fotodinâmica mediada por Curcumina dissolvida em TSB em biofilme .....	55
4.1.7. Terapia fotodinâmica mediada por Curcumina dissolvida em sacarose 0,5% em biofilme .....	59
4.1.8. Avaliação da biomassa total do biofilme – curcumina dissolvida em caldo TSB.....	61
4.1.9. Avaliação da biomassa total do biofilme – curcumina dissolvida em sacarose 0,5% .....	62
4.1.9.1. Inibição da formação do biofilme – curcumina dissolvida em caldo TSB.....	63
4.1.9.2. Inibição da formação do biofilme – curcumina dissolvida em sacarose 0,5% .....	64
4. 2. ESTUDO II.....	64
4.2.1. Concentração bactericida mínima (CBM).....	64
4.2.2. Avaliação da terapia combinada em suspensão.....	66
4.2.3. Avaliação da terapia combinada em biofilme .....	67
4.2.3. Avaliação da biomassa total - terapia combinada .....	68
4.2.4. Avaliação da inibição da formação do biofilme – terapia combinada .....	69
5. Discussão .....	70
6. Conclusões.....	75
REFERÊNCIAS.....	76
CAPÍTULO II: Susceptibility of <i>Enterococcus faecalis</i> and <i>Propionibacterium acnes</i> to antimicrobial photodynamic therapy .....	87

# **CAPÍTULO I**

## RESUMO

A Acne vulgar é uma das mais comuns doenças dermatológicas atingindo adolescentes e adultos. A principal causadora da acne é a infecção pela bactéria *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*). Atualmente, as opções de tratamento para acne vulgar são numerosas, porém muitas vezes com extensos efeitos colaterais. Fatores como resistência aos antibióticos, e a ação inicial lenta das terapias tópicas têm levado pesquisadores a buscar tratamentos alternativos. Desta forma, o presente estudo objetivou avaliar a eficácia da inativação fotodinâmica mediada por curcumina dissolvida em caldo (*TrypticSoyBroth*) TSB e solução de sacarose 0,5% e a combinação dessa terapia com a tetraciclina, contra *P. acnes* em fase planctônica e biofilme. A viabilidade celular foi avaliada através da quantificação das colônias formadas por mililitro de amostra (UFC/mL). A concentração bactericida mínima (CBM) da tetraciclina sobre *P. acnes* foi determinada através do método de microdiluição em caldo. Foi realizada a avaliação da biomassa total e inibição da formação do biofilme através do método de coloração por cristal violeta 0,5%. A análise estatística dos dados foi feita através do teste de Análise de Variância (oneway ANOVA) com pós-teste de Tukey. Os resultados do presente estudo mostraram que a terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDa) mediada por curcumina foi eficiente na redução microbiana quando realizada a quantificação das colônias formadas, comparada ao grupo controle negativo em forma planctônica bem como em biofilme tanto diluída em caldo TSB quanto em solução de sacarose 0,5% sendo capaz de reduzir toda a carga bacteriana. Uma redução de mais de 28% da biomassa total do biofilme e uma inibição de mais de 70% foi alcançada após o tratamento. Foi possível concluir que aTFDa mediada por curcumina dissolvida em caldo TSB e solução de sacarose 0,5% foi eficiente para a redução total da carga microbiana em fase planctônica e biofilme. A curcumina dissolvida em solução de sacarose 0,5% possibilitou essa redução utilizando menores concentrações e doses de luz. A terapia combinada não apresentou efeito sinérgico.

**Palavras-chave:** Terapia Fotodinâmica. Acne vulgar. *Propionibacterium acnes*. Curcumina. Tetraciclina. Terapia combinada.



## **ABSTRACT**

Acne vulgaris is one of the most common dermatological and adult diseases. The main cause of acne is an infection by the bacterium *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*). Currently there are many treatment options for acne vulgaris, although often with extensive side effects. Factors such as antibiotic resistance and slow initial action of topical therapies led researchers to seek alternative treatments. Thus, the present study aimed to evaluate the efficacy of curcumin-mediated photodynamic inactivation in broth (*Tryptic Soy Broth*) TSB and 0.5% sucrose solution and the combination of this therapy with tetracycline against planktonic phase *P. acnes* and biofilm. Cell viability was evaluated by quantification of the colonies formed per milliliter of sample (CFU / mL). The minimum bactericidal concentration (MBC) of tetracycline over *P. acnes* was determined by the broth microdilution method. The evaluation of the total biomass and inhibition of the formation of the biofilm was performed through the method of staining by violet crystal 0.5%. The statistical analysis of the data was done through the variance analysis (ANOVA one way) test with Tukey's post test. The results of this study showed that curcumin-mediated photodynamic antimicrobial therapy (TFDa) was efficient in microbial reduction when quantification of the colonies was performed, compared to the negative control group in planktonic form as well as in biofilm both diluted in TSB broth and in solution sucrose 0.5% being able to reduce all bacterial load. A reduction of more than 28% of the total biofilm biomass and an inhibition of more than 70% was achieved after treatment. It was possible to conclude that curcumin-mediated TFDa dissolved in TSB broth and 0.5% sucrose solution was efficient for the total reduction of the planktonic and biofilm microbial load. Curcumin dissolved in 0.5% sucrose solution allowed this reduction using lower concentrations and doses of light. Combination therapy had no synergistic effect.

**Keywords:** Antimicrobial photodynamic therapy. Acne vulgaris.

*Propionibacterium acnes*. Curcumin. Tetracycline. Combination therapy.

## 1. INTRODUÇÃO

A acne vulgar é uma das doenças de pele mais frequentes em dermatologia. Pode ser definida como uma doença inflamatória crônica do folículo pilosebáceo caracterizando-se inicialmente pela presença de comedões. Isso ocorre em função da obstrução do orifício de saída do folículo com o acúmulo de secreções, restos celulares e por micro-organismos, sendo *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) a principal bactéria relacionada à etiologia da acne vulgar (BRENNER *et al.*, 2006; RIBAS; OLIVEIRA, 2008; DESSINIOTI; KATSAMBAS, 2010).

Essa dermatose ocorre com maior frequência em jovens e adolescentes e pode evoluir até a idade adulta. Embora não apresente risco de vida, causa temor entre os adolescentes (FALCOCCHIO *et al.*, 2006; DA SILVA *et al.*, 2014). Diversos problemas têm sido relatados na literatura associados à acne, como por exemplo, um impacto negativo na autoestima dos pacientes, depressão e tendências suicidas (HALVORSEN *et al.*, 2011).

Fatores de riscos diversos têm sido associados ao surgimento da acne vulgar, dentre eles, a predisposição genética, o aumento nos níveis de hormônios androgênicos e da resistência à insulina podem apresentar relação com a presença de acne em mulheres que apresentam a Síndrome do Ovário Policístico, dieta rica em alimentos com alta carga glicêmica e gordurosos, o estresse emocional, uso de cosméticos oclusivos, tabagismo, sendo este último relacionado com a formação da acne em adultos (DI LANDRO *et al.*, 2012.; ALBUQUERQUE *et al.*, 2014; AYDEMIR, 2014; YANG *et al.*, 2014; LAMBERT, 2015; CHEN *et al.*, 2011; RIBEIRO *et al.*, 2015). Além dos fatores mencionados acima, alguns fármacos utilizados para o tratamento de depressão, epilepsia, tuberculose, o uso de anabolizantes esteroides também têm sido associados à acne vulgar (DESSINIOTI *et al.*, 2014; FERREIRA *et al.*, 2014).

A formação da acne envolve quatro processos principais: o aumento da produção de sebo pelas glândulas sebáceas, a hiperqueratinização folicular ou hiperproliferação folicular ocasionando a obstrução dos folículos e levando a formação de microcomedões, sendo estes precursores de comedões, pápulas e pústulas; a colonização bacteriana dos folículos pilosebáceos por *P. acnes* e

a inflamação em torno da glândula sebácea por meio da liberação de mediadores inflamatórios (THIBOUTOT *et al.*, 2009; WILLIAMS *et al.*, 2012).

Atualmente, há uma variedade de terapias de sucesso que são usadas regularmente para o tratamento de acne vulgar. No entanto, o tratamento médico continua sendo o padrão ouro, incluindo medicamentos tópicos e sistêmicos, que são eficientes no tratamento da acne vulgar. Porém, algumas desvantagens associadas a estes tratamentos, dentre elas, a ação inicial lenta, extensos efeitos colaterais e a resistência bacteriana frente aos antibióticos (DESSINIOTI; KATSAMBAS, 2016), têm levado à procura de novas alternativas terapêuticas (COATES *et al.*, 2002; GOLD, 2007). Além disso, esses tratamentos muitas vezes requerem uso diário e podem levar a uma má adesão dos pacientes (BOEN *et al.*, 2017).

O tratamento com a luz, denominado fototerapia e o tratamento com a luz associado a uma substância fotossensível (Terapia Fotodinâmica antimicrobiana - TFDa) vêm sendo recentemente utilizados no combate as bactérias causadoras da acne visando diminuir os efeitos colaterais e melhorar a eficiência das terapias contra à acne (WAN; LIN, 2014; BOEN *et al.*, 2017).

Estudos recentes têm demonstrado que protocolos *in vitro* combinando tratamentos com ação antimicrobiana apresentam uma maior eficiência em comparação a protocolos que envolvem a monoterapia. A terapia combinada apresenta importantes benefícios, tais como, a redução do desenvolvimento da resistência aos fármacos, uma vez que um patógeno é menos susceptível a desenvolver resistência a múltiplos tratamentos simultaneamente, além de ser possível a utilização de menores concentrações das drogas combinadas, podendo minimizar os efeitos colaterais e a toxicidade (RONQUI *et al.*, 2016; KASHEF *et al.*, 2017).

### **1.1. *Propionibacterium acnes***

*Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) faz parte da microbiota normal da pele, é um micro-organismo Gram-positivo, anaeróbio facultativo. Essa bactéria habita a unidade pilossebácea e é considerado um patógeno oportunista, pois sua proliferação aumenta quando existe uma maior produção de sebo na unidade pilossebácea (DESSINIOTI; KATSAMBAS, 2010).

O crescimento de *P. acnes* é favorecido com a formação dos comedões, propiciando um ambiente anaeróbio e rico em lipídios. *P. acnes* apresenta a capacidade de estimular a inflamação e a resposta imune. Esse micro-organismo consegue causar o rompimento da parede folicular por meio da liberação de enzimas, tais como proteases, hialuronidases e lipases (QUINTERO *et al.*, 2015). Outra característica importante é a liberação de fatores quimiotáticos para o recrutamento de linfócitos, macrófagos e neutrófilos. Essa bactéria age também sobre a imunidade inata, estimulando a ativação de receptores do tipo Toll, ou toll-like (TLRs) em queratinócitos, macrófagos e linfócitos T e B, e, assim, desencadeando uma cascata inflamatória com a produção de citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucinas (IL-1  $\alpha$  L-8, IL-6, IL-12 e IL-17), e metaloproteinases, que degradam a matriz celular. (WILLIAMS *et al.*, 2012; BEYLOT *et al.*, 2014; GOLLNICK, 2015).

Além da bactéria *P. acnes*, outros micro-organismos também estão relacionados com a acne vulgar, sendo eles: *Propionibacterium avidum*, *Propionibacterium granulosum*, *Staphylococcus epidermidis* e *Malassezia furfur*, ambos são micro-organismos pertencentes à microbiota normal do folículo sebáceo, no entanto também podem apresentar relação com a acne vulgar, embora ainda seja inconclusiva a relevância desses micro-organismos na patogênese dessa doença (RIBEIRO *et al.*, 2015; FOX *et al.*, 2016).

## 1.2. Biofilme bacteriano e a Acne vulgar

Um biofilme microbiano é uma comunidade estruturada de células bacterianas que se encontram fechadas em uma matriz polimérica auto-produzida (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002). A matriz contém polissacarídeos, proteínas e DNA microbiano extracelular. Essa matriz protege das adversidades ambientais, como o sistema imunológico do hospedeiro. Infecções bacterianas crônicas diversas envolvem o biofilme, tornando tais infecções muito mais difíceis de serem erradicadas pela terapia convencional antibiótica (TARASZKIEWICZ *et al.*, 2013).

*P. acnes* pode ser encontrado nos folículos em forma de biofilme (JAHNS *et al.*, 2012). Em um estudo *in vitro* foi observado que as células sésses de *P. acnes* são mais resistentes a agentes antimicrobianos do que

células planctônicas e revelaram que a formação do biofilme pode contribuir para o aumento da expressão de genes de virulência contribuindo para a patogênese da acne (COENYE *et al.*, 2007).

O biofilme envolvendo *P. acnes* foi identificado como um polímero de glicocálix, que age como uma cola biológica. Quando presente no sebo esse polímero leva a adesão dos queratinócitos, contribuindo dessa forma, com a formação dos comedões (BURKHART; BURKHART, 2007).

### **1.3. Tratamentos Convencionais para acne vulgar**

Os tratamentos com antibióticos são os mais utilizados na terapêutica clínica dermatológica. As tetraciclinas (tetraciclina, doxiciclina, minociclina) são as mais prescritas para a acne, visto que apresentam propriedades anti-inflamatórias e antibacterianas (AYDEMIR, 2014; TAN, 2016; NAGLER *et al.*, 2016). As tetraciclinas são antibióticos de amplo espectro, apresentando grande eficiência frente a diversas bactérias, podendo ser tanto aeróbios quanto anaeróbios Gram-positivos e Gram-negativos (PATRICK, 2005). O mecanismo de ação dessa classe de antibióticos se dá através da inibição da síntese de proteínas por meio da ligação com a subunidade 30S dos ribossomos, impedindo a ligação do aminoacil-tRNA, dessa forma, a adição de novos aminoácidos para o aumento da cadeia proteica é bloqueada (VON NUSSBAUM *et al.*, 2006).

Uma opção de tratamento que apresenta grande efetividade contra *P.acnes* é a utilização do peróxido de benzoíla. Que atua liberando radicais livres de oxigênio oxidando as proteínas bacterianas (ZAENGLEIN *et al.*, 2016). Essa opção de tratamento é indicada para os casos de acne leve a moderada (PARTH *et al.*, 2016). No entanto, pode causar irritação no local de aplicação (WILLIAMS *et al.*, 2012; DRÉNO *et al.*, 2013).

A isotretinoína oral é um fármaco derivado da vitamina A, e age impedindo que ocorra a formação do sebo. Esse tratamento apresenta eficiência para acne sendo amplamente indicado para um tipo muito grave de acne, denominada acne cística (LEYDEN *et al.*, 2014). No entanto, devido ao fato da isotretinoína inibir a formação do sebo de todas as glândulas sebáceas presentes no corpo, diversos efeitos colaterais são relatados. (PELCZAR, 1997; MELNIK *et al.*, 2011; TAN *et al.*, 2016). A administração de retinóicos

tópicos também é amplamente utilizada, porém, não deve ser realizada de forma contínua tendo em vista que o seu uso no período de tempo de dois a três meses pode causar irritação, eritema, queimação e secura da pele (SMITH *et al.*, 2011).

Outra opção de tratamento disponível são os “peelings” químicos, que consistem da aplicação de ácidos, como ácidos glicólicos, salicílicos e os “peelings” mecânicos sendo estes, mais utilizados nos casos de acne grau I e II, além de serem utilizados também para tratar as cicatrizes deixadas pela acne (KEMPIAK E UEBELHOER, 2008, WANG *et al.*, 2010).

Os tratamentos cosméticos também são considerados uma opção de tratamento. Essa abordagem consiste na utilização de cosméticos que atuam em todas as causas que levam a formação da acne, apresentando funções como, limpeza, esfoliação, antissépticos, ação queratolítica, cicatrizante, hidratante, esfoliante, clareamento, sebonormalizante, ação anti-inflamatória, ação adstringente, bactericida e bacteriostática (GOODMAN, 2000, LANQUE, 2015).

O tratamento da acne em mulheres diagnosticadas com a Síndrome do Ovário Policístico consiste frequentemente de contraceptivos orais combinados (COCs). Esses contraceptivos possuem um estrógeno e uma progestina, sendo o estrógeno responsável pela supressão da atividade da glândula sebácea e redução da produção de andrógenos ovarianos e adrenais (WELL, 2013; ZAENGLEIN *et al.*, 2016). Esses medicamentos aumentam o risco de doenças cardiovasculares e câncer, além disso, podem causar efeitos adversos como, a cefaléia, náuseas, distensão abdominal, aumento de peso, alterações hepáticas, entre outros. Dessa forma, há contra indicação do uso desses contraceptivos em casos de gravidez, casos de tromboembolismo, doenças cardíacas ou hepáticas (BETTOLI *et al.*, 2015; HARPER, 2016).

Terapias baseadas em luz, como a luz intensa pulsada (IPL), fototerapia e TFDa estão sendo amplamente empregadas no tratamento da acne vulgar pois podem controlar a inflamação e reduzir as cicatrizes formadas (PEI *et al.*, 2015).

A IPL é uma modalidade de tratamento que emprega luz policromática. A hipótese em torno deste tratamento é que a IPL promove a fototermólise, ocorrendo absorção de luz por cromóforos endógenos na pele gerando calor e

energia suficiente para atingir os vasos sanguíneos que suprem as glândulas sebáceas reduzindo a produção de sebo. Porém, a IPL causa dor, inchaço, eritema, formação de vesículas e crostas, pois o dano térmico não é específico (PEI *et al.*, 2015; BARAKAT *et al.*, 2016).

A luz azul possui atividade antimicrobiana dispensando a utilização de um agente fotossensibilizante exógeno, pois apresenta a capacidade de excitar as porfirinas endógenas, levando à produção de espécies reativas do oxigênio e causando a microbiana. Além disso, a fototerapia possui efeito sobre as células epiteliais que formam as glândulas sebáceas promovendo a diminuição da produção de sebo e conseqüentemente à redução da inflamação (DAI *et al.*, 2012; YIN *et al.*, 2013; BROWNELL *et al.*, 2016).

A TFDa mediada pelo ácido 5 - aminolevulínico (5-ALA) como agente fotossensível vem sendo empregada como tratamento em dermatologia para o controle da acne vulgar em pacientes resistentes ou que são intolerantes às terapias convencionais e tem apresentado efetividade na erradicação de *P. acnes* (MA *et al.*, 2013; DONG *et al.*, 2016; FOX *et al.*, 2016).

#### **1.4. Terapia Fotodinâmica**

Durante a década de 90 foi descrito pela primeira vez o princípio da fotodinâmica. Esse feito foi realizado na Alemanha, por um estudante de medicina aluno do professor Herman Von Tappeiner, chamado Oscar Raab que observou a morte de um protozoário (paramécio) após ter sido exposto à luz na presença do corante acridina. Feita essa observação, os pesquisadores passaram a questionar se existia influencia da luz nos resultados. Mais tarde, com a continuação das pesquisas confirmou-se que a acridina e a luz aumentavam a toxicidade do protozoário (JUARRANZ *et al.*, 2008). Estudos realizados posteriormente pelo professor Herman Von Tappeiner permitiram cunhar o termo “ação fotodinâmica” para descrever uma reação dependente de oxigênio após fotossensibilização (RKEIN e OZOG, 2014).

Três componentes fundamentais são necessários para a realização da TFD: oxigênio, fotossensibilizador (FS) e luz visível (DENIS *et al.*, 2011; KIM *et al.*, 2015; HAMBLIN, 2016).

FS é uma substância que leva a sensibilidade luminosa a processos físicos e/ ou químicos que normalmente não são sensíveis a luz (SIBATA *et al.*,

2000). Um agente FS deve apresentar algumas características específicas, dentre elas: ser biologicamente estável; quimicamente puro de composição conhecida; apresentar toxicidade mínima no escuro; preferencialmente ser retido pelo tecido alvo, ser excretado rapidamente pelo corpo para que não ocorra toxicidade sistêmica, possuir facilidade para absorver ou emitir fótons, custo baixo e ser facilmente sintetizado, boa seletividade, estabilidade cinética e termodinâmica (MACHADO, 2000; ALLISON *et al.*, 2004; NAGATA *et al.*, 2012).

Um exemplo de agente fotossensibilizador é a curcumina 1,7-bis-(hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona, um dos três pigmentos curcuminóides encontrados na cúrcuma. É um composto fenólico, apresenta coloração amarelo-alaranjado, pode ser obtido através da extração dos rizomas da planta *Curcuma longa*, popularmente conhecida como “açafrão da terra” ou sintetizado quimicamente. Esse pigmento apresenta inúmeros efeitos antimicrobianos, antiinflamatórios, imunomoduladores, antioxidante (MIQUEL *et al.*, 2002; BRUZELL *et al.*, 2005; ALMEIDA, 2006).

Além das atividades mencionadas a cima, a curcumina vêm sendo amplamente utilizada em TFDa como agente fotossensibilizador (HAUKVIK, 2009; DOVIGO *et al.*, 2011, TONON *et al.*, 2005; NAJAFI *et al.*, 2016). Devido ao fato dessa molécula ser comprovadamente não tóxica através de diversos estudos realizados em cultura celular e em animais, a curcumina torna-se um fotossensibilizador promissor, tanto empregado contra infecções bacterianas quanto fúngicas (HAUKVIK *et al.*, 2011). A curcumina possui um espectro de absorção de luz de 300-500nm, apresentando um pico em 430nm (CIEPLIK *et al.*, 2014), sendo assim, sua utilização é bastante associada com a aplicação da luz azul.

O mecanismo de ação da morte microbiana da TFDa ocorre quando o FS absorve energia, gerando a produção de substâncias altamente reativas, que acarretam danos aos micro-organismos ou à célula-alvo. Este FS que foi excitado por luz de comprimento de onda específico pode interagir de duas formas, denominadas de reações tipo I e II.

Durante a reação tipo I, o FS no estado tripleto excitado reage com biomoléculas como, por exemplo, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos transferindo cargas para dar origem a radicais e íons radicais que então



reagem com o oxigênio molecular resultando na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) como por exemplo, o ânion superóxido, radicais hidroxila e peróxido de hidrogênio. Durante a reação tipo II, o FS tripleto excitado transfere energia diretamente ao oxigênio em seu estado tripleto fundamental, em um fenômeno denominado aniquilação tripleto-tripletto, produzindo oxigênio singlete, altamente reativo e citotóxico. As duas reações ocorrem ao mesmo tempo e a relação entre esses dois processos depende da molécula fotossensível aplicada, das concentrações de substrato e oxigênio e também da afinidade de ligação do FS com o substrato (DOLMANS *et al.*, 2003; KHARKWAL *et al.*, 2011; HAMBLIN, 2016).

Uma das vantagens relacionadas à TFDa, é que até o momento não há relatos de desenvolvimento de resistência microbiana a essa modalidade de tratamento. Os fotossensibilizadores utilizados em TFDa agem através da produção de oxigênio singlete, sendo assim, não existe resistência microbiana natural. Além do mais, a morte microbiana pode ocorrer em um tempo curto o que torna pouco provável o desenvolvimento de resistência dos alvos das bactérias (HAMBLIN; HASAN, 2004).

Fontes de luz diversas podem ser utilizadas em terapia fotodinâmica como, por exemplo, as lâmpadas fluorescentes, que apresentam amplo espectro, os lasers e LEDs. As lâmpadas de amplo espectro foram as primeiras fontes de luz utilizadas devido ao fato de apresentarem baixo custo emitirem luz com diversos comprimentos de onda. Já os lasers emitem luz monocromática, com um comprimento de onda específico podendo apresentar compatibilidade com o pico de absorção do fotossensibilizador utilizado. O uso dessa fonte de luz proporciona danos menores ao tecido adjacente e ação em um pequeno tempo. Além de que, podem transmitir luz através de fibras ópticas que promovem o direcionamento da iluminação. No entanto, os lasers apresentam custo elevado, e apenas iluminam pequenas áreas da pele (CARNEIRO; CATÃO, 2012; NAGATA *et al.*, 2012).

As fontes de luz LED são aparelhos constituídos por semicondutores sólidos ligados entre si produzindo luz, que têm sido utilizados amplamente na TFD, pois são simples e de fácil manuseio, baixo custo, geram luz monocromática de alta potência em estreitas faixas espectrais com comprimentos de onda correspondentes ao pico de absorção do FS, não

ocasionando aquecimento intenso. Além das vantagens mencionadas anteriormente, podem ser distribuídos em painéis para iluminar uma área maior, aumentando a eficiência em TFDa (TOREZAN *et al.*, 2009; AMARAL *et al.*, 2010).

## 6. Conclusões

De acordo com as metodologias empregadas e as limitações desse estudo, podemos concluir que a TFDa mediada por curcumina aplicada como monoterapia foi eficiente para a redução microbiana de *P. acnes* em fase planctônica e biofilme. No entanto, a terapia combinada (Tetraciclina + TFD) não apresentou atividade sinérgica.

De forma pontual podemos concluir:

- 1- A aplicação da TFDa mediada por curcumina dissolvida em solução contendo caldo TSB apresentou redução de toda a carga microbiana de *P. acnes* em fase planctônica bem como em biofilme.
- 2- A TFDa mediada por curcumina dissolvida em solução contendo sacarose 0,5% foi eficaz na redução de contagem de colônias, possibilitando toda a redução da carga microbiana com baixas concentrações de curcumina e doses de luz menores comparada aos testes em fase planctônica com a curcumina dissolvida em solução contendo caldo TSB.
- 3- A biomassa total do biofilme foi reduzida em mais de 28% para a TFDa mediada por curcumina em caldo TSB e solução de sacarose 0,5%.
- 4- TFDa mediada por curcumina em caldo TSB e solução de sacarose 0,5% foi capaz de inibir em mais de 70% a formação do biofilme de *P. acnes*.

## REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, R. G. R. et al. Could adult female acne be associated with modern life? **Archives of Dermatological Research**, v. 306, n. 8, p. 683-688, 2014.

ALLISON, R.R. *et al.* Photosensitizers in clinical PDT. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 1, n. 1, p. 27-42, 2004.

ALMEIDA, L. P. **Caracterização de pigmentos da *Curcuma longa*, avaliação da atividade antimicrobiana e morfogênese in vitro na produção de pigmentos curcuminoides e óleos essenciais.** Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) Universidade federal de Minas Gerais, 2006.

ALMEIDA ISSA, M. C.; MANELA-AZULAY, M. Photodynamic therapy: a review of the literature and image documentation. **Anais Brasileiros De Dermatologia**, v. 85, n.4, p. 501-511, Julho – Agosto, 2010.

AMARAL, R.R. *et al.* Terapia fotodinâmica na endodontia: revisão de literatura. **Revista da Faculdade de Odontologia - Universidade de Passo Fundo(UPF)**, v. 15, n. 2, p. 207-211, 2010.

ARAÚJO, N.C.; MENEZES, R.F.D; CARNEIRO, v. s. m; *et al.* Photodynamic Inactivation of Cariogenic Pathogens Using Curcumin as Photosensitizer. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 20, n. 20, p. 1-5, 2016.

AYDEMIR, E. H. Acne vulgaris. **Turkish Archives of Pediatrics/ Türk Pediatri Arşivi**, v. 49, n. 1, p. 13, 2014.

BARAKAT, M. T. *et al.* Significant reduction of inflammation and sebaceous glands size in acne vulgaris lesions after intense pulsed light treatment. **Dermatologic Therapy**, v. 30, n. 1.p. 1-5, 2016.

BETTOLI, V.; ZAULI, S.; VIRGILI, A. Is hormonal treatment still an option in acne today? **British Journal of Dermatology**, v. 172, n. S1, p. 37-46, 2015.

BEYLOT, C. *et al.* *Propionibacterium acnes*: an update on its role in the pathogenesis of acne. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 28, n. 3, p. 271-278, 2014.

BOEN,M; BROWNELL, J. PATEL, P; TSOUKAS, M.M. The Role of Photodynamic Therapy in Acne: An Evidence-Based Review. **American Journal of Clinical Dermatology**, v.18, n.3, p. 311-321, Março, 2017.

BRENNER, F.M.; ROSAS, F.M.B.; SULZBACH, M.L.; CARVALHO, V.G. Acne: um tratamento para cada paciente. **Revista Ciências Médicas**, Campinas, v.15, p. 257-266, 2006.

BROWNELL, J.; WANG, S.; TSOUKAS, Maria M. Phototherapy in Cosmetic Dermatology. **Clinics in Dermatology**, v. 34, n. 5, p. 623-627, 2016.

BRUZELL, E.M.; MORISBAK, E.; TONNESEN, H.H. Studies on curcumin and curcuminoids. XXIX. Photoinduced cytotoxicity of curcumin in selected aqueous preparations. **Photochemical and Photobiological Sciences**, v. 4, p. 523-530, 2005.

BURKHART, C. G.; BURKHART, C. N. Expanding the microcomedone theory and acne therapeutics: *Propionibacterium acnes* biofilm produces biological glue that holds corneocytes together to form plug. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 57, p.722-724, 2007

CARDOSO, B.C. **Efeito de antifúngicos em suspensões e biofilmes de *Candida albicans* e *Candida dubliniensis***. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) Universidade do Minho, Porto, 2004.

CARNEIRO, V. S. M.; CATÃO, M. H. C. V. Aplicações da terapia fotodinâmica na odontologia. **Revista da Faculdade de Odontologia de Lins**, v. 22, n. 1, p. 25-32, 2012.

CASTRO, D.T. **Efeito da incorporação de vanadato de prata nano estruturado na atividade antimicrobiana, propriedades mecânicas e morfologia de resinas acrílicas**. Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral) Universidade de São Paulo, 2014.

CASSIDY, C.M.; DONNELLY, R.F.; ELBORN, J.S.; MAGEE, N.D.;TUNNEY, M.M.; Photodynamic Antimicrobial Chemotherapy (PACT) in combination with antibiotics for treatment of *Burkholderiacepaciacomplex* infection. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v. 106, p. 95-100, 2012.

CHEN, Mei-Jou.,*et al.* High sérumdehydroepiandrosterone sulfate is associated with phenotypic acne and a reduced risk of abdominal obesity in women with polycystic ovary syndrome. **Human Reproduction**, v. 26, n. 1, p.227–34, 2011.

CIEPLIK, F. *et al.* Antimicrobial photodynamic therapy for inactivation of biofilms formed by oral key pathogens. **Frontiers in Microbiology**, v. 5, p. 1–4,2014.

COATES, P. *et al.* Prevalence of antibiotic-resistant Propionibacteria on the skin of acne patients: 10-year surveillance data and snapshot distribution study. **British Journal of Dermatology**, v.5, n.146, p. 840-848, 2002.

COENYE, T.; PEETERS, E.; NELIS, H.J. Biofilm formation by *Propionibacterium acnes* is associated with increased resistance to antimicrobial agents and increased production of putative virulence factors. **Research in Microbiology**, v. 158, p. 386-392, 2007.

CULLER, H.F. Formação de biofilme por *Escherichia coli* enteropatogênica atípica. **Dissertação de Mestrado** (Biotecnologia) Universidade de São Paulo, 2010.

DA SILVA, A. M. F.; DA COSTA, F. P.; MOREIRA, M. Acne vulgar: diagnóstico e manejo pelo médico de família e comunidade. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**, v.9, p. 54-63, 2014.

DAI, T.*et al.* Blue light for infectious diseases: Propionibacterium acnes, Helicobacter pylori, and beyond? **Drug Resistance Updates**, v. 15, n. 4, p. 223-236, 2012.

DENIS, T. G. *et al.* All you need is light: antimicrobial photoinactivation as an evolving and emerging discovery strategy against infectious disease. **Virulence**, v. 2, n. 6, p. 509-520, 2011.

DOLMANS, D. E.; FUKUMURA, D.; JAIN, R. K. Photodynamic Therapy for Cancer. **Nature Reviews Cancer**, v. 3, n. 5, p. 375–80, 2003.

DESSINIOTI M. D.; KATSAMBAS, A. D. Propionibacterium acnes and antimicrobial resistance in acne. **Clinics in Dermatology**, v. 35, n. 2, p. 163-167, 2016.

DESSINIOTI, C.; ANTONIOU, C.; KATSAMBAS, A. Acne form eruptions. **Clinics in dermatology**, v. 32, n. 1, p. 24-34, 2014.

DESSINIOTI, C.; KATSAMBAS, A. D. The role of *Propionibacterium acnes* in acne pathogenesis: facts and controversies. **Clinics in Dermatology**, v. 28, n. 1, p. 2-7, 2010.

DI LANDRO, A. *et al.* Family history, body mass index, selected dietary factors, menstrual history, and risk of moderate to severe acne in adolescents and young adults. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 67, n. 6, p. 1129-1135, 2012.

DI POTO, A.; SBARRA, M.S.; PROVENZA, G.; VISAI, L; SPEZIALE, P. The Effect of photodynamic treatment combined with antibiotic action or host defense mechanisms on *Staphylococcus aureus* biofilms, **Biomaterials**, v. 30, n. 18, p.3158-3166, 2009.

DOVIGO, L.N., PAVARINA, A.C.; RIBEIRO, A.P.D.; BRUNETTI, I.L.; COSTA, C.A.S; JACOMASSI, D.P.; BAGNATO, V.S.; KURACHI, C. Investigation of Photodynamic effects of curcumin against *Candida albicans*. **Photochemistry and Photobiology**, v. 87, p. 895-903, 2011.

DONG, Y. *et al.* A new LED device used for photodynamic therapy in treatment of moderate to severe acne vulgaris. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 13, p. 188-195, 2016.

DRÉNO, B. *et al.* Adult female acne: a new paradigm. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 27, n. 9, p. 1063-1070, 2013.

FALCOCCHIO, S. *et al.* *Propionibacterium acnes* GehA lipase, an enzyme involved in acne development, can be successfully inhibited by defined natural substances. **Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic**, v. 40, n. 3-4, p. 132-137, 2006.

FERREIRA, Daniela Maranhão. **Estudos de sistemas nanocarreadores para o ácido 5-aminolevulínico (5-ALA) e seu éster derivado (8-ALA) aplicados na Eletroquimioterapia e Terapia Fotodinâmica contra o câncer de pele.** 2012. 93f. Tese (Doutorado em Medicamentos e Cosméticos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

FERREIRA, Lurdiano Osório *et al.* Efeitos Colaterais associados ao uso de Esteroides Anabolizantes Andrógenos Auto Relatados por Praticantes de Musculação do sexo Masculino. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 18, p. 35-42, 2014.

FONTANA, C.R. *et al.* The antibacterial effect of photodynamic therapy in dental plaque-derived biofilms. **Journal of Periodontal Research**, v.44, n. 6, p. 751-759, 2009.

FOX, L. *et al.* Treatment Modalities for Acne. **Molecules**, v. 21, n. 8, p. 1-20, 2016.

GOLD, M.H. Acne and PDT: new techniques with lasers and light sources. **Lasers in Medical Science**, v. 22, p.67-72, 2007.

GOLLNICK, H. P. M. From new findings in acne pathogenesis to new approaches in treatment. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 29, n. S5, p. 1-7, 2015.



GOODMAN, G. J. Post acne scarring: A review of its pathophysiology and treatment. **Dermatologic Surgery**, v. 26, n.9, p. 857-871, 2000.

GOULART, R.C; BOLEAN, M.; PAULINO, T.P.; THEDEI, G.; SOUZA, S.L.; TEDESCO, A.C. *et al.*, Photodynamic therapy in planktonic and biofilm cultures of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. **Photomedicine Laser Surgery**, v. 28, n.1, p.53-60, 2010.

HALVORSEN, J. A. *et al.* Suicidal Ideation, Mental Health Problems, and Social Impairment Are Increased in Adolescents with Acne: A Population-Based Study. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 131, n. 2, p. 363-370, 2011.

HAMBLIN, M. R.; HASAN, T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 3, n. 5, p. 436-450, 2004.

HAMBLIN, M. R. Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes. **Current Opinion in Microbiology**, v. 33, p. 67-73, 2016.

HARPER, J. C. Use of Oral Contraceptives for Management of Acne Vulgaris: Practical Considerations in Real World Practice. **Dermatologic Clinics**, v. 34, n. 2, p. 159-165, 2016.

HAUKVIK, T.; BRUZELL, E.; KRISTENSEN, S.; TONNESEN.H.H. Photokilling of bacteria by curcumin in different aqueous preparations. Studies on curcumin and curcuminoids XXXVII. **Pharmazie**, v. 64, p. 666-673, 2009.

HONGCHARU, W. *et al.* Topical ALA-photodynamic therapy for the treatment of acne vulgaris. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 115, n. 2, p. 183-192, 2000.

JAHNS, A.C. *et al.*, An increased incidence of Propionibacterium acnes biofilms in acne vulgaris: a case-control study. **British Journal of Dermatology**, v. 167, p. 50-58, 2012.

JEON, Y. *et al.* Antimicrobial photodynamic therapy using chlorin e6 with halogen light for acne bacteria-induced inflammation. **Life Sciences**, v. 124 p. 56-63, 2015

JUARRANZ, Á. *et al.* Photodynamic therapy of cancer. Basic principles and applications. **Clinical and Translational Oncology**, v. 10, n. 3, p. 148-154, 2008.

KHARKWAL, G. B. *et al.* Photodynamic Therapy for Infections: Clinical Applications. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 43, n. 7, p. 755–767, 2011.

KASHEF, N.; AKBARIZARE, M.; RAZZAGHI, M. R. In vitro Activity of Linezolid in Combination with Photodynamic Inactivation Against *Staphylococcus aureus* Biofilms. **Avicenna Journal of Medical Biotechnology**, v.9, n.1, p. 44-48, 2017.

KEMPIAK, S. J.; UEBELHOER, N. Superficial chemical peels and microdermabrasion for acne vulgaris. **Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery**, v. 27, n.3, p. 212-220, 2008.

KIM, R. H.; ARMSTRONG, A. W. Current state of acne treatment: Highlighting lasers, photodynamic therapy, and chemical peels. **Dermatology Online Journal**, v.17, n.3, p.1-8, 2011.

LAMBERT, L. Acne: review. **South African Family Practice**, v. 57, n. 6, p. 16-20, 2015.

LEYDEN, J.J.; DEL ROSSO, J.Q.; BAUM, E.W. The use of Isotretinoin in the treatment of acne vulgaris: Clinical Considerations and future directions. **The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology**, v.7, n.2, p. 3-21, 2014.

MACHADO, A. E. H. Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 237-243, 2000.

MA, Li *et al.* Low-dose topical 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy in the treatment of different severity of acne vulgaris. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 10, n. 4, p. 583-590, 2013.

MEI, X.; SHI, W.; PIAO, Y. Effectiveness of photodynamic therapy with topical 5-aminolevulinic acid and intense pulsed light in Chinese acne vulgaris patients.

**Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine**, v. 29, n. 2, p. 90-96, 2013.

MELNIK B. Isotretinoin and FoxO1: A scientific hypothesis. **Dermato-endocrinology**, v.3, n.3, p.141-165, 2011

MIQUEL, J; BERND, A; SEMPERE, JM; DÍAZ-ALPERI, J; RAMÍREZ, A  
The curcuma antioxidants: pharmacological effects and prospects for future clinical use. A review. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, v. 34, n.1, p. 37-46, 2002.

NAGATA, J. Y. *et al.* Antibacterial photodynamic therapy for dental caries: evaluation of the photosensitizers used and light source properties. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 9, n. 2, p. 122-131, 2012.

NAGLER, A. R.; MILAM, E. C.; ORLOW, S. J. The use of oral antibiotics before isotretinoin therapy in patients with acne. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 74, n. 2, p. 273-279, 2016.

NAJAFI, S. *et al.* An In Vitro Comparison of Antimicrobial Effects of Curcumin-Based Photodynamic Therapy and Chlorhexidine, on *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. **Journal of Lasers in Medical Sciences**, n.7, v.1, p. 21-25, 2016

NAKASE, K.; NAKAMINAMI, H.; NOGUCHI, N.; NISHIJIMA, S. SASATSU, M. First report of high levels of clindamycin-resistant *Propionibacterium acnes* carrying in Japanese patients with acne vulgaris. **Journal of Dermatology**, v. 9, n. 39, p. 794-796, 2012.

NESTOR, M. S. The use of photodynamic therapy for treatment of acne vulgaris. **Dermatologic Clinics**, v. 25, n. 1, p. 47, 2007.

NUMATA, S. *et al.* Analysis of facial skin-resident microbiota in Japanese acne patients. **Dermatology**, v. 228, n. 1, p. 86-92, 2013.

OPRICA C., *et al.* Antibiotic resistant *Propionibacterium acnes* on the skin of patients with moderate to severe acne in Stockholm. **Anaerobe**, n. 10, v.3, p. 155-164, 2004.

PARTH, S.; ACHARYA, N.; ROHAN, L. ; SRINIVASAN S. Acne Vulgaris: An Update on Current Therapy and Advances in Treatment Strategies. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 40, n.1, p. 234-244, 2016.

PATRICK, G. L.; An Introduction to Medicinal Chemistry, Oxford University Press: New York, cap. 16, 2005.

PEI, S. *et al.* Light-based therapies in acne treatment. **Indian Dermatology Online Journal**, v. 6, n. 3, p. 145, 2015.

PELCZAR, M. J. Microbiologia conceitos e aplicações. 2º. São Paulo: 1997.

PEETERS *et al.*, Comparison of multiple methods for quantification of microbial biofilms grown in microtiter plates. **Journal of Microbiological Methods**, v. 72 p. 157–165, 2008.

QUINTERO, Y. *et al.* *Propionibacterium acnes*: pasado, presente y futuro. **Dermatología Venezolana**, v. 53, n. 2, 2015.

RKEIN, A. M.; OZOG, D. M. Photodynamic therapy. **Dermatologic Clinics**, v. 32, n. 3, p. 415-425, 2014.

RIBAS, J.; OLIVEIRA, C.M.P.B. Acne vulgaris and well-being in medical students. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, v. 83, n. 6, 2008.

RIBEIRO, B.M. *et al.* Etiopatogenia da acne vulgar: uma revisão prática para o dia a dia do consultório de dermatologia. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, v. 7, n. 3, p. 20-26, 2015.

RONQUI, M. R; COLETTI, T. M. S. F. A., DE FREITAS, L. M. *et al.* Synergistic antimicrobial effect of photodynamic therapy and ciprofloxacin. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 158, p. 122-129, 2016

SBARRA, M.S.; ARCIOLA, C.R.; DI POTO, A.; SAINO, E.; ROHDE, H.;SPEZIALE, P.; VISAI, L. The photodynamic effect of tetra-substituted N-methylpyridyl- porphine combined with the action of vancomycin or host defense mechanisms disrupts *Staphylococcus epidermidis* biofilms. **The International journal of Artificial Organs**, v.32, n. 9, p. 574-583, 2009.

SMITH, E. V.; GRINDLAY, D. J. C.; WILLIAMS, H. C. What's new in acne? An analysis of systematic reviews published in 2009-2010. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 36, n. 2, p. 119-123, 2011.

SIBATA, C. H. *et al.* Photodynamic therapy: a new concept in medical treatment. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, n. 8, p. 869-880, 2000.

SOCRANSKY, S.; HAFFAJEE, A. D. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. **Periodontology**, v. 28, p. 12-55, 2002.

TAN, J.*et al.* Oral Isotretinoin: New Developments Relevant to Clinical Practice. **Dermatologic Clinics**, v. 34, n. 2, p. 175-184, 2016.

TARASZKIEWICZ, A.; FILA, G. GRINHOLC M., NAKONIECZNA J. Innovative strategies to overcome biofilm resistance. **Biomed Research International**, 2013.

THIBOUTOT, D. *et al.* New insights into the management of acne: an update from the Global Alliance to Improve Outcomes in Acne group. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 60, n. 5, p. S1-S50, 2009.

TONON, C.C. *et al.* Comparative effects of photodynamic therapy mediated by curcumin on standard and clinical isolate of *Streptococcus mutans*. **The Journal of Contemporary Dental Practice**, v.1, n. 16, p. 1-6, 2015.

TOREZAN, L. *et al.* Terapia fotodinâmica em dermatologia: princípios básicos e aplicações. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, n. 5, p. 445-459, 2009.

WAN, M. T.; LIN, J. Y. Current evidence and applications of photodynamic therapy in dermatology. **Clinical Comestic and Investigation Dermatology**, v.7, p. 145-163, 2014.

WANG, X. L. *et al.* Topical ALA PDT for the treatment of severe acne vulgaris. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 7, n. 1, p. 33-38, 2010.

WELL, D. Acne vulgaris: A review of causes and treatment options. **The Nurse Practitioner**, v. 38, n. 10, p. 22-31, 2013.

WILLIAMS, H. C.; DELLAVALLE, R. P.; GARNER, S. Acne vulgaris. **The Lancet**, v. 379, n. 9813, p. 361-372, 2012.

YANG, Y. S. *et al.* Cigarette smoke-induced interleukin-1 alpha may be involved in the pathogenesis of adult acne. **Annals of Dermatology**, v. 26, n. 1, p. 11-16, 2014.

YIN, R. *et al.* Investigation of optimal aminolaevulinic acid concentration applied in topical aminolaevulinic acid-photodynamic therapy for treatment of moderate to severe acne: a pilot study in Chinese subjects. **British Journal of Dermatology**, v.163, n. 5, p. 1064-1071, 2010.

VON NUSSBAUM, F.; BRANDS, M.; HINZEN, B.; WEIGAND, S.; HABICH, D. **Angewandte Chemie International Edition**, 2006.

ZAENGLEIN, A. L. *et al.* Guidelines of care for the management of acne vulgaris. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 74, n. 5, p. 945-973, 2016

ZEINA, B.; GREENMAN, J.; PURCELL, W.M. Killing of cutaneous microbial species by photodynamic therapy. **British Journal of Dermatology**, n. 144, v.2, p. 274-278, 2001.