



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
APLICADAS A PRODUTOS PARA SAÚDE**

JOÃO SALVIANO SIMÕES CHAGAS DA SILVA

**Estudo da fototerapia antimicrobiana mediada por curcumina
contra biofilmes de leveduras do gênero *Candida***

**Anápolis
2025**

JOÃO SALVIANO SIMÕES CHAGAS DA SILVA

**Estudo da fototerapia antimicrobiana mediada por curcumina
contra biofilmes de leveduras do gênero *Candida***

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Aplicadas a Produtos para Saúde da
Universidade Estadual de Goiás para
obtenção do Título de Mestre em Ciências
Aplicadas a Produtos para Saúde.

Orientador: Plínio Lázaro Faleiro Naves
Co-orientador: Lucas Danilo Dias

**Anápolis
2025**

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluno(a): João Salviano Simões Chagas da Silva

Orientador(a): Plínio Lázaro Faleiro Naves

Co-Orientador(a): Lucas Danilo Dias

Membros:

1. Plínio Lázaro Faleiro Naves

2. Lilian Carla Carneiro

3. Flávio Monteiro Ayres

OU

4. Alliny das Graças Amaral

5. Ricardo Carvalho Silva

Data: 13/06/2025

Dedico este trabalho aos meus pais, Ione Simões da Silva e Severino Chagas da Silva, por todo o suporte e incentivo aos meus estudos; à minha prima, Sirlene Luiza Simões da Silva Pereira, por todo o apoio; à minha amiga, Bruna Moraes de Oliveira, por toda a ajuda e incentivo; à toda a minha família por todo carinho, suporte e dedicação dispensados.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela saúde e por me ajudar a lutar e superar todos os obstáculos e por me permitir realizar tantos sonhos, na minha vida. Agradeço aos meus amados pais, Ione Simões da Silva e Severino Chagas da Silva, que me incentivaram e sempre estiveram ao meu lado e me deram o suporte necessário para enfrentar todas as dificuldades.

Aos meus avós maternos, Luiza Mariana da Silva (in memoriam) e Darci Simões da Silva (in memoriam), e aos meus avós paternos, Adelaide Chagas da Silva (in memoriam) e Pedro Chagas da Silva (in memoriam), com todo meu amor e gratidão. A todos os meus familiares e amigos que foram importantes e me incentivaram.

Ao meu prezado professor orientador Dr. Plínio Lázaro Faleiro Naves por todo o aprendizado e apoio. Agradeço ao meu co-orientador, Dr. Lucas Danilo Dias, por todo o apoio e suporte, que sempre me motivou com relação à profissão e disposto a esclarecer as dúvidas, que surgiram.

Agradeço em especial às minhas amigas Bruna Moraes de Oliveira, Isabela Náthaly Machado da Silva, Milena Araújo Angra, Lorena Cristina da Mata, Maria José Barbaresco e meu amigo Reuber Mendes Rocha, que estiveram sempre me ajudando, incentivando e compartilhando conhecimentos comigo.

À Universidade Estadual de Goiás, pela oportunidade, através do programa de mestrado em Ciências aplicadas a produtos para a saúde (CAPS). À coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (CAPES) pela bolsa concedida.

Agradeço a todos que direto ou indiretamente contribuíram para a realização desse sonho.

Por fim, agradeço a toda a equipe do Laboratório de Bioensaios, todos os professores(as), alunos de iniciação científica e todos os funcionários do programa de mestrado CAPS, por toda a ajuda, suporte e conhecimentos adquiridos através do ensino de qualidade ofertado pela Instituição.

TABELAS, FIGURAS E ANEXOS.....	7
SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS.....	9
RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	12
APRESENTAÇÃO.....	14
1. INTRODUÇÃO.....	16
2. OBJETIVOS.....	18
3. MÉTODOS.....	19
4. RESULTADOS.....	20
4.1 Artigo 1.....	21
4.1.1 INTRODUÇÃO.....	23
4.1.2 METODOLOGIA.....	25
4.1.2.1 Registro do protocolo da pesquisa.....	25
4.1.2.2 Pergunta norteadora e Base de dados.....	25
4.1.2.3 Critérios de inclusão.....	26
4.1.2.4 Critérios de exclusão.....	26
4.1.2.5 Seleção dos artigos e extração de informações.....	26
4.1.2.6 Avaliação dos termos mais empregados nos trabalhos avaliados...	27
4.1.2.7 Análise do risco de viés nos estudos individuais.....	27
4.1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
4.1.3.1 Resultados da busca.....	28
4.1.3.2 Termos mais empregados nos trabalhos avaliados.....	33
4.1.3.3 Risco de viés.....	33
4.1.4 CONCLUSÃO.....	35
4.1.5 AGRADECIMENTOS.....	35
4.1.6 REFERÊNCIAS.....	36
4.2 Artigo 2.....	40
4.2.1 INTRODUCTION.....	41
4.2.2 METHODOLOGY.....	42
4.2.3 RESULTS AND DISCUSSION.....	45
4.2.4 CONCLUSIONS.....	47
4.2.5 REFERENCES.....	49
4.3 Artigo 3.....	51
4.3.1 INTRODUCTION.....	52
4.3.2 Materials and Methods.....	53

4.3.2.1 Biofilm formation assays.....	53
4.3.2.2 Evaluation of the activity of non-photoactivated compounds.....	55
4.3.2.2.1 Determination of MIC.....	55
4.3.2.2.2 Determination of minimum biofilm inhibitory concentration (MBIC ₅₀).....	56
4.3.2.3 Effect of photodynamic action on biofilm formation.....	56
4.3.2.4 Statistical analysis.....	57
4.3.3 Results and Discussion.....	57
4.3.3.1 Biofilm Formation and Characterization.....	57
4.3.3.2 Determination of the mic of non-photoactivated compounds.....	58
4.3.3.3 Photoinhibition of biofilm formation by combination of curcumin and chlorhexidine at sub-inhibitory concentrations.....	60
4.3.4 CONCLUSIONS.....	64
4.3.5 REFERENCES.....	65
4.4 Artigo 4.....	70
4.4.1 INTRODUÇÃO.....	72
4.4.2 METODOLOGIA.....	74
4.4.2.1 Micro-organismos avaliados.....	74
4.4.2.2 Preparo da curcumina.....	75
4.4.2.3 Formação de biofilme.....	75
4.4.2.4 Efeito da terapia fotodinâmica na formação do biofilme.....	76
4.4.2.5 Efeito da terapia fotodinâmica no biofilme maduro.....	78
4.4.3 Resultados e Discussão.....	79
4.4.3.1 Determinação da biomassa total método cristal violeta.....	79
4.4.3.2 Efeito da terapia fotodinâmica na formação do biofilme.....	81
4.4.3.3 Efeito da terapia fotodinâmica nos biofilmes maduros.....	83
4.4.4 CONCLUSÃO.....	85
4.4.5 AGRADECIMENTOS.....	86
4.4.6 REFERÊNCIAS.....	86
5. CONCLUSÃO.....	89
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	90
7. PRODUTOS GERADOS.....	92
REFERÊNCIAS.....	93
ANEXOS.....	94
APÊNDICES.....	100

Artigo 1

Figura 1. Triagem, elegibilidade e inclusão de artigos conforme o diagrama de fluxo PRISMA (adaptado).....	29
Tabela 1. Principais características dos estudos selecionados conforme os critérios de elegibilidade.....	30
Figura 2. Identificação dos termos mais abordados nos artigos avaliados.....	33
Tabela 2. Risco de viés nos estudos sobre a atividade antimicrobiana da terapia fotodinâmica mediada por curcumina contra biofilmes de leveduras do gênero <i>Candida</i>	34

Artigo 2

Figure 1. Toothbrushes used in the study A. General appearance and B. Detail of head and bristles.....	43
Figure 2. Test for the formation of <i>Candida</i> biofilm on toothbrushes.....	44
Figure 3. Processing the biofilms adhered to the toothbrushes.....	44
Figure 4. Counts of viable yeasts (cfu mL ⁻¹) in biofilm formation tests on toothbrushes.....	46

Artigo 3

Figure 1. Biofilm formation - OD _{620nm} detected by the crystal violet method.....	57
Table 1. Fungistatic (MIC), fungicidal (MFC) and biofilm inhibitory (MBIC ₅₀) activities of chlorhexidine.....	59
Figure 2. Normalized UV-Vis absorption spectra of curcumin (CUR), chlorhexidine (CHX), and their combination (CUR + CHX).....	61
Table 2. Minimum Biofilm Formation Inhibitory Concentration (MBIC ₅₀) of photoactivated curcumin and in association with sub-inhibitory concentrations of chlorhexidine.....	62
Figure 3. Optical densities of yeast biofilms in the absence and presence of ¼ MIC chlorhexidine in function of curcumin concentration (0-40 µM) at 100 J/cm ²	63

Artigo 4

Tabela 1. Critérios para a classificação da formação de biofilme das leveduras.....	76
Figura 1. Ensaio de avaliação do efeito da terapia fotodinâmica na formação do biofilme.....	77
Figura 2. Ensaio de avaliação do efeito da terapia fotodinâmica contra o biofilme maduro.....	78
Figura 3. Biomassa total (DO _{620nm}) dos biofilmes formados pelas leveduras.....	80
Tabela 2. DO _{620nm} do biofilme formado após a fototerapia mediada por curcumina e dos controles não fotoativados.....	82
Tabela 3. DO _{620nm} dos biofilmes maduros após fototerapia mediada por curcumina e dos controles não fotoativados.....	83

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

aPDT: *Antimicrobial Photodynamic Therapy*

PS: *Photosensitizer*

ATCC: *American Type Culture Collection*

°C: Grau Celsius

nm: Nanômetro

μM: Micromolar

μg: Micrograma

mL: Mililitro

mm: Milímetro

UFC: Unidade Formadora de Colônias

PBS: Solução Salina Tamponada com Fosfato

BHI: *Brain Heart Infusion*

MIC: *Minimum Inhibitory Concentration*

MFC: *Minimum Fungicidal Concentration*

OD: *Optical Densities*

CUR: *Curcumin*

CHX: *Chlorhexidine*

LED: Diodo Emissor de Luz

SFE: Solução fisiológica estéril

CIMB₅₀: Concentração inibitória mínima do biofilme

No atual cenário da saúde pública e devido aos problemas gerados pelas infecções fúngicas e pela resistência aos antimicrobianos, a *Antimicrobial Photodynamic Therapy* (aPDT) emerge como uma alternativa promissora. Essa tecnologia é baseada na produção de espécies reativas de oxigênio, quando compostos que absorvem a luz (fotossensibilizadores) são ativados com a luz. Entretanto, para a utilização extensiva dessa tecnologia no contexto clínico, mais estudos são necessários para se identificar as lacunas existentes do conhecimento. Neste contexto, o presente estudo objetivou avaliar o efeito da fototerapia mediada por curcumina (CUR) contra biofilmes de leveduras do gênero *Candida* spp. por meio da busca de evidências com uma revisão sistemática da literatura atual, da avaliação da atividade da curcumina fotoativada contra biofilmes de *Candida krusei* Ck7 e *Candida albicans* ATCC 10231 aderidos a escovas de dentes, da avaliação da eficácia da combinação de clorexidina e curcumina fotoativada na inibição da formação de biofilme de *Candida* spp. isolada da cavidade oral e da avaliação da eficácia da fototerapia mediada por curcumina na inibição da formação e combate de biofilmes maduros de *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida metapsilosis* ATCC 96143, *Candida dubliniensis* ATCC MYA-646, *Candida orthopsilosis* ATCC 96141 e *Candida parapsilosis* ATCC 22019. A revisão sistemática foi realizada na plataforma de Revisão Sistemática Rayyan, nas bases de dados Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), *PubMed*, *Web of Science* e *Scopus*, tendo como resultado 24 publicações, mas após a triagem, foram selecionados cinco trabalhos que abordaram diferentes espécies de *Candida* spp. e concentrações de curcumina. A atividade da curcumina fotoativada contra biofilmes de *Candida krusei* Ck7 e *Candida albicans* ATCC 10231 aderidos em escovas dentais foi avaliada utilizando luz LED azul com comprimento de onda de 450 nm. Além disso, foram realizados testes para determinar a biomassa total do biofilme pelo método do cristal violeta, a concentração mínima inibitória (CMI), a concentração mínima fungicida (CMF) e a concentração inibitória mínima do

biofilme (CIMB₅₀) para verificar a eficácia da combinação de clorexidina e curcumina, com e sem fotoativação, contra isolados clínicos de *Candida* spp. Assim como, foram realizados ensaios para verificar a eficácia da fototerapia mediada por curcumina na inibição da formação e na erradicação de biofilmes maduros de diferentes espécies de *Candida*. por meio do ensaio de determinação da biomassa total do biofilme pelo método do cristal violeta. A revisão sistemática evidenciou que a aPDT mediada por curcumina, reduziu significativamente a viabilidade de biofilmes e tem efeito antimicrobiano contra leveduras do gênero *Candida* spp. O estudo do efeito da curcumina contra biofilmes aderidos em escovas verificou que a curcumina fotoativada proporcionou uma forte redução do número de leveduras viáveis associadas ao biofilme. A combinação de clorexidina e curcumina fotoativada inibiu a formação de biofilmes por leveduras. O ensaio de inibição da formação e erradicação de biofilmes maduros, demonstrou que a aPDT mediada por CUR, foi capaz de inibir e erradicar o biofilme maduro com melhores percentuais de redução na inibição do biofilme. Portanto, a revisão sistemática verificou que a fototerapia mediada por curcumina, apresenta atividade contra biofilmes de leveduras do gênero *Candida* spp, e os estudo experimentais evidenciaram que a curcumina apresenta atividade contra biofilmes de isolados clínicos de *C. albicans*, *C. krusei* e contra a formação e na erradicação de biofilmes de diferentes espécies de *Candida*. Nesse sentido, a fototerapia mediada por curcumina pode ser considerada uma terapia alternativa complementar aos antimicrobianos convencionais.

Palavras-chave: Antibiofilme. Produto natural. Fototerapia antimicrobiana. Cavidade oral.

In the current public health scenario and due to the problems generated by fungal infections and antimicrobial resistance, Antimicrobial Photodynamic Therapy (aPDT) is emerging as a promising alternative. This technology is based on the production of reactive oxygen species, when light-absorbing compounds (photosensitizers) are activated with light. However, for the extensive use of this technology in the clinical context, more studies are needed to identify the existing gaps in knowledge. In this context, the present study aimed to evaluate the effect of curcumin-mediated phototherapy against biofilms of yeasts of the genus *Candida* spp. by searching for evidence with a systematic review of the current literature, evaluating the activity of photoactivated curcumin against biofilms of *Candida krusei* Ck7 and *Candida albicans* ATCC 10231 adhered to toothbrushes, evaluating the efficacy of the combination of chlorhexidine and photoactivated curcumin in inhibiting the formation of biofilm of *Candida* spp. isolated from the oral cavity and evaluating the efficacy of curcumin-mediated phototherapy in inhibiting the formation and combating mature biofilms of *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida metapsilosis* ATCC 96143, *Candida dubliniensis* ATCC MYA-646, *Candida orthopsilosis* ATCC 96141 and *Candida parapsilosis* ATCC 22019. The systematic review was carried out on the Rayyan Systematic Review platform, in the Virtual Health Library (VHL), PubMed, Web of Science and Scopus databases, resulting in 24 publications, but after screening, five studies were selected that addressed different species of *Candida* spp. and concentrations of curcumin. The activity of photoactivated curcumin against *Candida krusei* Ck7 and *Candida albicans* ATCC 10231 biofilms adhered to toothbrushes was evaluated using blue LED light with a wavelength of 450 nm. In addition, tests were carried out to determine the total biofilm biomass by the crystal violet method, the minimum inhibitory concentration (MIC), the minimum fungicidal concentration (MFC) and the minimum biofilm inhibitory concentration (MICB₅₀) to verify the efficacy of the combination of chlorhexidine and curcumin, with and without photoactivation, against clinical isolates of *Candida*

against clinical isolates of *Candida* spp. Tests were also carried out to verify the efficacy of curcumin-mediated phototherapy in inhibiting the formation and eradication of mature biofilms of different *Candida* species by determining the total biofilm biomass using the crystal violet method. The systematic review showed that curcumin-mediated aPDT significantly reduced the viability of biofilms and has an antimicrobial effect against yeasts of the genus *Candida* spp. The study of the effect of curcumin against biofilms adhered to toothbrushes found that photoactivated curcumin provided a strong reduction in the number of viable yeasts associated with the biofilm. The combination of chlorhexidine and photoactivated curcumin inhibited the formation of biofilms by yeasts. The test to inhibit the formation and eradication of mature biofilms showed that CUR-mediated aPDT was able to inhibit and eradicate the mature biofilm with better percentages of reduction in biofilm inhibition. Therefore, the systematic review found that curcumin-mediated phototherapy has activity against biofilms of yeasts of the genus *Candida* spp, and the experimental studies showed that curcumin has activity against biofilms of clinical isolates of *C. albicans*, *C. krusei* and against the formation and eradication of biofilms of different *Candida* species. In this sense, curcumin-mediated phototherapy can be considered a complementary alternative therapy to conventional antimicrobials.

Keywords: Antibiofilm. Natural product. Antimicrobial phototherapy. Oral cavity.

A terapia fotodinâmica antimicrobiana (*Antimicrobial Photodynamic Therapy* - aPDT) é um tratamento que utiliza fotossensibilizadores que uma vez excitados por luz em um comprimento de onda específico, reagem com o oxigênio molecular e produzem espécies reativas de oxigênio que levam a morte celular (Correia *et al.*, 2021). A aPDT surge como uma alternativa eficaz contra micro-organismos, tanto resistentes quanto sensíveis aos antibióticos (Ferrisse *et al.*, 2022). Nesse contexto, a curcumina é utilizada na aPDT como fotossensibilizador, por causa da sua capacidade de absorção da luz azul (Trigo-Gutierrez *et al.*, 2021).

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Bioensaios da Universidade Estadual de Goiás, com a linha de pesquisa de Desenvolvimento de Produtos para Saúde do Programa de Pós Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde.

Nosso estudo buscou reunir e sintetizar as principais evidências disponíveis sobre o efeito da terapia fotodinâmica antimicrobiana mediada por curcumina contra biofilmes de leveduras do gênero *Candida* spp. e avaliar a atividade da curcumina fotoativada contra biofilmes de *Candida krusei* Ck7 e *Candida albicans* ATCC 10231 aderidos a escovas de dentes, assim como, avaliar a eficácia da combinação de clorexidina e curcumina fotoativada e a eficácia da fototerapia mediada por curcumina para inibir a formação e erradicar biofilmes maduros de diferentes espécies de *Candida*.

Dentre os principais resultados obtidos nesta pesquisa, destacamos que o tratamento com aPDT mediada por curcumina, pode ser considerada uma alternativa terapêutica viável contra as infecções relacionadas a biofilmes de *Candida*. Nesse sentido, os ensaios evidenciaram que o tratamento fotodinâmico tem potencial efeito na inibição da formação de biofilmes e contra biofilmes maduros. Ademais, foi observado que a aPDT mediado por curcumina tem aplicação contra biofilmes formados em diferentes superfícies e a combinação entre a clorexidina e a curcumina

fotoativada tem efeito contra a formação de biofilmes de isolados clínicos de leveduras do gênero *Candida*.

APLICABILIDADE

a) Levantamento de estudos sobre o efeito da terapia fotodinâmica antimicrobiana mediada por curcumina e a sua ação em biofilmes de leveduras do gênero *Candida*.

b) Desenvolvimento de protocolos alternativos de tratamento com o uso da terapia fotodinâmica antimicrobiana mediada por curcumina na inibição da formação de biofilmes e contra biofilmes maduros de leveduras do gênero *Candida*.

c) No estudo de tratamentos com o uso da terapia fotodinâmica antimicrobiana mediada por curcumina na desinfecção de superfícies, como por exemplo na descontaminação de escovas dentais.

IMPACTOS SOCIAIS, ECONÔMICOS E AMBIENTAIS

O presente estudo, evidencia a importância da terapia fotodinâmica antimicrobiana como uma alternativa viável para inibição da formação de biofilmes e contra biofilmes maduros de leveduras do gênero *Candida*. Devido a isso, os impactos sociais e econômicos esperados é a redução de custos em saúde pública, tendo em vista, uma diminuição de internações por infecções fúngicas, e consequentemente menor utilização de antifúngicos de alto custo. Além disso, a geração de novos mercados com o desenvolvimento de produtos médicos e novas formulações.

Dentre os impactos ambientais, destaca-se a questão da redução da poluição farmacêutica, pois ocorre uma menor descarga de antibióticos no meio ambiente. Ademais, a curcumina é um produto natural derivado da cúrcuma, que é biodegradável e de cultivo sustentável.

Diversos micro-organismos são capazes de formar biofilmes na cavidade oral, contribuindo para o surgimento de doenças bucais e a ineficácia de tratamentos. Além disso, os métodos convencionais de tratamento antimicrobiano mecânicos e químicos possuem limitações na eliminação desses micro-organismos e na prevenção da formação dos biofilmes microbianos e podem contribuir para o desenvolvimento de micro-organismos resistentes aos medicamentos. Devido a isso, a prevenção e o controle do biofilme oral têm representado um desafio global (Sun *et al.*, 2024; Pourhajibagher; Bahrami; Bahador, 2024).

Nesse contexto, a terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) surge como uma abordagem promissora para a eliminação do biofilme oral, por causa das suas características notáveis, como baixa probabilidade de resistência e ação antimicrobiana de amplo espectro (Sun *et al.*, 2024). A aPDT combina *lasers* de baixa potência e um agente fotossensibilizador (*photosensitizer* - PS) para eliminar micro-organismos (Pourhajibagher; Bahrami; Bahador, 2024). A curcumina é utilizada como um fotossensibilizador, no processo de inativação microbiana, ao ser exposta à luz, produz espécies reativas de oxigênio, que ocasionam a erradicação de micro-organismos de forma eficaz (Joshi *et al.*, 2024).

O aumento da presença de micro-organismos da cavidade oral resistentes aos tratamentos convencionais, evidencia a necessidade da busca de novas abordagens terapêuticas. Nesse cenário, a aPDT se destaca como uma alternativa eficaz para o tratamento de micro-organismos resistentes ou não aos antibióticos (Ferrisse *et al.*, 2022). O objetivo desse estudo foi realizar uma revisão sistemática sobre a aPDT mediada por curcumina contra biofilmes de leveduras do gênero *Candida* spp, verificar a atividade da aPDT mediada por curcumina na formação de biofilmes de *Candida* spp. em escovas dentais, avaliar a inativação fotodinâmica de isolados clínicos de *Candida* spp. utilizando tratamentos combinados de

curcumina e clorexidina e verificar o efeito da curcumina na inibição da formação e na erradicação de biofilmes de diferentes espécies de *Candida*.

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a eficácia da fototerapia mediada por curcumina contra leveduras do gênero *Candida* spp.

2.2 Objetivo Específicos

Artigo 1 - Buscar evidências sobre o uso da fototerapia contra a formação de biofilmes de leveduras do gênero *Candida* spp.

Artigo 2 - Verificar o efeito da atividade fotodinâmica da curcumina contra biofilmes de *Candida* formados em escovas de dentes.

Artigo 3 - Analisar a inativação fotodinâmica de isolados clínicos de *Candida* através de tratamentos combinados de curcumina e clorexidina.

Artigo 4 - Avaliar a terapia fotodinâmica antimicrobiana mediada por curcumina na inibição da formação e na erradicação de biofilmes de diferentes espécies de *Candida* spp.

Artigo 1 - Revisão sistemática da literatura nas bases de dados BVS, PubMed, Web of Science e Scopus, utilizando a estratégia PICO para selecionar os estudos publicados e a plataforma de Revisão Sistemática Rayyan.

Artigo 2 - Formação de biofilmes de *Candida krusei* Ck7 isolado da cavidade bucal de estudantes da Universidade Estadual de Goiás e *Candida albicans* ATCC 10231. Foram realizados testes para verificar o efeito da atividade fotodinâmica da curcumina contra os biofilmes de *Candida* formados em escovas de dentes.

Artigo 3 - Formação de biofilmes de *Candida* spp. isolados da cavidade bucal de estudantes da Universidade Estadual de Goiás e *Candida albicans* ATCC 10231. Foram realizados testes de CMI, CMF e CMI₅₀ para analisar a inativação fotodinâmica da formação de biofilme dos isolados clínicos de *Candida* spp. através de tratamentos combinados de curcumina e clorexidina.

Artigo 4 - Avaliação da atividade da terapia fotodinâmica antimicrobiana na inibição da formação e na erradicação de biofilmes de diferentes espécies de *Candida* spp. Os biofilmes serão formados em microplacas de 96 poços e irradiados com luz LED com comprimento de onda de 450nm.

4. RESULTADOS

Artigo 1 – Uso da terapia fotodinâmica antimicrobiana contra biofilmes de leveduras do gênero *Candida*: Revisão Sistemática da Literatura

Autores: João Salviano Simões Chagas da Silva, Lorena Cristina da Mata, Lucas Danilo Dias, Plínio Lázaro Faleiro Naves

Submetido a Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia

Qualis Capes (2017-2020): A3

Artigo 2 – Photodynamic activity of curcumin against *Candida* biofilms on toothbrushes

Autores: João Salviano Simões Chagas da Silva, Maria José Barbaresco, Maria Gabriella Fernandes Ribeiro Eliseu, Reuber Mendes Rocha, Alliny das Graças Amaral, Lucas Danilo Dias, Plínio Lázaro Faleiro Naves

Publicado na Revista Caderno Pedagógico

Qualis Capes (2017-2020): A2

Artigo 3 – Combined Curcumin and Chlorhexidine Photodynamic Treatment Effectively Inhibits Biofilm Formation of Clinical *Candida* Isolates from the Oral Cavity

Autores: João Salviano Simões Chagas da Silva, Maria José Barbaresco, Reuber Mendes Rocha, Maria Gabriella Fernandes Ribeiro Eliseu, Marina de Andrade, Lucas Danilo Dias, Plínio Lázaro Faleiro Naves

Submetido a Revista Photodiagnosis and Photodynamic Therapy

Qualis Capes (2017-2020): A2 | Fator de Impacto: 3.1

Artigo 4 – Atividade da terapia fotodinâmica antimicrobiana mediada por curcumina contra biofilmes de leveduras do gênero *Candida*

Autores: João Salviano Simões Chagas da Silva, Lorena Cristina da Mata, Maria Gabriella Fernandes Ribeiro Eliseu, João Gabriel Ferreira Ribeiro, Lucas Danilo Dias, Plínio Lázaro Faleiro Naves

4.1. Artigo 1

USO DA TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA CONTRA BIOFILMES DE LEVEDURAS DO GÊNERO *Candida*: REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA

USE OF ANTIMICROBIAL PHOTODYNAMIC THERAPY AGAINST *Candida* YEAST BIOFILMS: A SYSTEMATIC LITERATURE REVIEW

João Salviano Simões Chagas da Silva, Lorena Cristina da Mata, Lucas Danilo Dias, Plínio Lázaro Faleiro Naves

RESUMO

Leveduras do gênero *Candida* são patógenos que ocasionam doenças fúngicas oportunistas resistentes aos antifúngicos convencionais. As *Candida* spp. podem formar biofilmes e isso pode agravar a situação do paciente, o que exige o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas. Nesse contexto, a terapia fotodinâmica antimicrobiana (*antimicrobial photodynamic therapy* - aPDT) é considerada uma alternativa promissora, uma vez que o tratamento com aPDT envolve um fotossensibilizador (*photosensitizer* - PS) que associado a luz e ao oxigênio molecular, produz espécies de oxigênio altamente reativas (*reactive oxygen species* - ROS) que ocasionam a oxidação dos componentes celulares. A curcumina é um dos fotossensibilizadores utilizados na aPDT para promover a inativação microbiana. Nesta revisão sistemática, foram avaliados estudos sobre a fototerapia mediada por curcumina contra a formação de biofilmes por leveduras do gênero *Candida*. A busca resultou num total de 24 publicações, sendo 5 (20,8%) artigos obtidos na *Scopus*, 6 (25,0%) na *Web of Science*, 5 (20,8%) na *PubMed* e 8 (33,3%) na Biblioteca Virtual em Saúde (BVS). Destes, 5 artigos foram selecionados e após a análise detalhada dos estudos incluídos, evidenciamos que a curcumina fotoativada possui efeito contra biofilmes de vários isolados clínicos e cepas padrão de *Candida* spp. Portanto, a literatura especializada demonstra que a aPDT mediada por curcumina é eficaz contra *Candida* spp. e pode ser considerada uma opção viável de terapia alternativa aos antimicrobianos convencionais.

Palavras-chave: Curcumina; Inativação antimicrobiana; Resistência antifúngica.

ABSTRACT

Yeasts of the genus *Candida* are pathogens that cause opportunistic fungal diseases that are resistant to conventional antifungal drugs. *Candida* spp. can form biofilms and this can aggravate the patient's situation, a fact that reinforces the need to develop new therapeutic approaches. In this context, antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) is considered a promising alternative, since treatment with aPDT involves a photosensitizer (PS) which, in combination with light and molecular oxygen, produces highly reactive oxygen species (ROS) that cause oxidation of cellular components. Curcumin is one of the photosensitizers used in aPDT to promote microbial inactivation. This systematic review evaluated studies on curcumin-mediated phototherapy against the formation of biofilms by yeasts of the *Candida* genus. The search resulted in a total of 24 publications, of which 5 (20.8%) were obtained from Scopus, 6 (25.0%) from Web of Science, 5 (20.8%) from PubMed and 8 (33.3%) from the Virtual Health Library (VHL). Of these, 5 articles were selected and after detailed analysis of the included studies, we found that photoactivated curcumin has an antifungal effect against biofilms of various clinical isolates and standard strains of *Candida* spp. Therefore, the specialized literature shows that aPDT mediated by curcumin has an antimicrobial effect against yeasts of the *Candida* genus and can be considered a viable alternative therapy option to conventional antimicrobials.

Keywords: Curcumin; Antimicrobial inactivation; Antifungal resistance.

4.1.1. INTRODUÇÃO

A habilidade de formar biofilmes é uma capacidade notória das leveduras do gênero *Candida* o que as permitem colonizar superfícies bióticas e abióticas, seja de forma isolada ou em comunidades de espécies mistas (Ramage *et al.*, 2023).

Os biofilmes são comunidades microbianas organizadas e envoltas por matriz extracelular tridimensional de composição complexa formada por várias substâncias poliméricas extracelulares (*extracellular polymeric substances* - EPS) e que também inclui proteínas, polissacarídeos, lipídios, amiloides e DNA extracelular (eDNA) (Rodrigues; Gomes; Rodrigues, 2019; Karygianni *et al.*, 2020; Flemming *et al.*, 2023).

As infecções por *Candida* representam um sério problema médico e tendem a ser agravadas com o desenvolvimento de biofilmes, uma vez que isso pode aumentar o risco de que possam se espalhar para quase todos os órgãos do corpo e se relacionam com o aumento da morbidade e da mortalidade em ambientes hospitalares (Massey; Zarnowski; Andes, 2023).

A formação de biofilme é um processo complexo no qual as *Candida* tardam em torno de 38 a 72 horas. O primeiro estágio é a adesão da levedura a uma superfície, o estágio seguinte é o desenvolvimento do biofilme por meio da proliferação celular. Em seguida, ocorre a maturação do biofilme e o último estágio é o de dispersão, no qual algumas células se desprendem do biofilme e se disseminam para outros sítios (Malinovská; Čonková; Váczi, 2023).

As repercussões clínicas devido à maior resistência à terapia antifúngica e à capacidade das células dentro dos biofilmes de suportar as defesas imunológicas do hospedeiro impactam no tratamento clínico e agravam a morbidade e a mortalidade das infecções fúngicas (Ramage; Martínez; López-Ribot, 2006).

A proteção das células do biofilme através do encapsulamento na matriz extracelular, o que confere um fenótipo de resistência predominante aos medicamentos. Nesse contexto, a composição complexa da matriz pode estar relacionada ao sequestro e inativação de antifúngicos. Tal mecanismo de resistência é comum em todas as espécies do gênero *Candida* e afeta

todas as classes de antifúngicos disponíveis (Massey; Zarnowski; Andes, 2023).

Os fungos são eucariontes e isso dificulta a especificidade da terapia antifúngica sem ocasionar algum grau de toxicidade para o paciente. Desta forma, as opções disponíveis para o tratamento de infecções fúngicas são restritas aos azólicos, polienos, alilaminas, análogos de pirimidina e equinocandinas (Tsui; Kong; Jabra-Rizk, 2016).

Nesse contexto, as alternativas terapêuticas para o tratamento de infecções fúngicas são mais limitadas quando comparadas às opções disponíveis para infecções bacterianas (Roemer; Krysan, 2014).

A resistência antimicrobiana é um problema global que afeta negativamente a expectativa de vida da população (Polat; Kang, 2021). Nesse contexto, uma alternativa promissora é a terapia fotodinâmica antimicrobiana (*antimicrobial photodynamic therapy* - aPDT), que apresenta vantagens como a baixa toxicidade sistêmica e em cepas bacterianas resistentes, têm demonstrado eficácia notável (Melo *et al.*, 2021; Chen *et al.*, 2024).

O tratamento com aPDT envolve o uso de um fotossensibilizador (*photosensitizer* - PS) associado ao oxigênio molecular e luz, o produto disso é a produção de espécies de oxigênio altamente reativas (*reactive oxygen species* - ROS), ocasionando a oxidação dos componentes celulares (Melo *et al.*, 2021; Khatoon *et al.*, 2018).

A curcumina (CUR) é encontrada na cúrcuma, é um agente bioativo potente e utilizada como remédio para tratar várias doenças, assim como, possui atividades anti-inflamatórias, antioxidantes, quimiopreventivos e anti-infecciosos, também pode suprimir a inflamação e promover a angiogênese (Bhawana *et al.*, 2011; Mohammadi *et al.*, 2022). A curcumina pode ser utilizada como fotossensibilizador (*photosensitizer* - PS), quando submetida a luz, esse composto produz ROS, e promove consequentemente a inativação microbiana (Joshi *et al.*, 2024).

Nesse sentido, a presente revisão tem o objetivo de reunir, analisar criticamente e sintetizar as principais evidências disponíveis sobre a terapia fotodinâmica antimicrobiana mediada por curcumina contra biofilmes de leveduras do gênero *Candida* por meio da descrição sistemática dos

protocolos experimentais, das espécies do gênero *Candida* que foram avaliadas, do tipo de fonte de luz e das concentrações de curcumina utilizada em estudos selecionados.

4.1.2. METODOLOGIA

4.1.2.1 Registro do protocolo da pesquisa

O protocolo da revisão sistemática foi registrado no repositório OSF (*Open Science Framework*) e as informações do protocolo podem ser acessadas em: <https://doi.org/10.17605/OSF.IO/7R6FU> (MOHER *et al.*, 2015).

4.1.2.2 Pergunta norteadora e Bases de dados

A revisão sistemática foi realizada em quatro bases de dados para a busca de artigos: Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), *PubMed*, *Web of Science* e *Scopus* para responder à pergunta norteadora: “A fototerapia mediada por curcumina possui atividade contra biofilmes de leveduras do gênero *Candida*?”

Além da busca pelos artigos para responder à pergunta norteadora, esta revisão da literatura foi realizada com a estratégia PICO - *Problem-Intervention-Comparison-Outcomes* empregada na área da saúde e que se baseia na definição de critérios de revisão, busca e caracterização dos estudos incluídos na revisão sistemática (Cochrane Library, 2024).

Nesse sentido, a busca dos artigos foi definida, utilizando a estrutura adaptada PICO, na qual o **P** (População) são os biofilmes de leveduras do gênero *Candida*, **I** (Intervenção) refere-se ao tratamento com fototerapia mediada por curcumina, **C** (Comparação) são os grupos não tratados ou estudos que utilizaram biocidas tradicionais/clássicos e **O** (Resultados) a eficiência da inibição ou morte de biofilmes de leveduras do gênero *Candida*.

A pesquisa foi realizada com os descritores *MeSH Terms* (*Medical Subject Headings*): ((Curcumin OR “Curcumin Phytosome” OR *Diferuloylmethane* OR “Turmeric Yellow” OR “Yellow, Turmeric”) AND (“Photodynamic Therapy” OR *aPDT* OR *Photochemotherapies* OR “Therapy,

Photodynamic” OR “*Photodynamic Therapies*” OR “*Therapies, Photodynamic*” OR “*Photodynamic Therapy*”) AND (Yeasts OR Yeast) AND (*Candida*) AND (*Biofilm* OR “*Anti biofilm*”).

4.1.2.3 Critérios de inclusão

Os critérios de elegibilidade para a revisão sistemática sobre a atividade da fototerapia mediada por curcumina contra biofilmes de leveduras do gênero *Candida* foram:

- Estudos que demonstrem a atividade antifúngica da curcumina associada a terapia fotodinâmica contra biofilmes de *Candida* spp.;
- Pesquisas que explorem os mecanismos de ação da curcumina fotoativada contra biofilmes de *Candida* spp.;
- Estudos que comparam a terapia fotodinâmica contra biofilmes de leveduras do gênero *Candida* com outros agentes biocidas tradicionais/clássicos e
- Estudos com modelos experimentais que avaliem a eficácia da terapia fotodinâmica com o uso de curcumina.

4.1.2.4 Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão foram definidos como: revisões literárias, capítulos de livro, artigos com retratação, resumos de conferências, monografias, dissertações ou teses não publicadas, relatos de casos clínicos, série de casos, estudos que não abordam a terapia fotodinâmica com o uso de curcumina e estudos sem artigo completo.

4.1.2.5 Seleção dos artigos e extração de informações

Os levantamentos bibliográficos foram realizados e exportados em cada base de dados nos formatos “.ris” ou “.csv” para a plataforma de Revisão Sistemática Rayyan do *Qatar Computing Research Institute* (QCRI). Seguidamente, as duplicatas foram removidas e dois pesquisadores realizaram a seleção dos artigos de forma independente, quando não houve concordância entre as duas análises, um terceiro pesquisador foi acionado para avaliar cada caso isoladamente.

Os estudos elegíveis foram selecionados por meio da leitura dos títulos e resumos. Ademais, a leitura e a seleção dos artigos foi realizada de forma independente por cada pesquisador, conforme a mesma estratégia descrita anteriormente (Johnson; Phillips, 2018; Ouzzani *et al.*, 2016). Após a seleção dos estudos, foi realizada a leitura na íntegra dos artigos e esses foram avaliados para verificar se estavam conforme os critérios de inclusão e exclusão. Em seguida, foi realizada a construção do fluxograma conforme a recomendação PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*).

Posteriormente, foi realizada a avaliação dos artigos com enfoque na investigação da ação da aPDT mediada por CUR contra biofilmes de leveduras do gênero *Candida*. Aspectos como o tipo de estudo, as espécies do gênero *Candida* avaliadas, o tipo de fonte de luz e comprimento de onda, a forma de preparo e as concentrações de curcumina avaliadas. Posteriormente, os dados extraídos foram organizados em tabela, evidenciando os principais achados.

4.1.2.6 Avaliação dos termos mais empregados nos trabalhos avaliados

Os títulos, resumos e palavras-chave dos artigos selecionados foram analisados pela ferramenta: *WordArt* disponível em <<https://wordart.com/>> para a verificação da co-ocorrência dos termos mais frequentes e representação de forma visual com a criação de uma “nuvem de palavras”.

4.1.2.7 Análise do risco de viés nos estudos individuais

Dois pesquisadores avaliaram o risco de viés em cada estudo de forma independente e em caso de divergência, um terceiro foi consultado para desempate. Os itens a seguir foram considerados para verificação do risco de viés:

- Item 1: Foi descrita a presença de grupos controle?
- Item 2: O estudo apresenta concordância entre a metodologia proposta e a descrição completa dos resultados?

- Item 3: Os parâmetros da fotoativação como o tipo de fonte de luz, a dose e o comprimento de onda foram descritos?
- Item 4: Os autores descreveram o equipamento de fotoativação?
- Item 5: Os autores deram informação detalhada sobre o fotossensibilizador, incluindo a origem e o método de preparo prévio aos ensaios?
- Item 6: Os autores detalharam os parâmetros microbiológicos da metodologia empregada?
- Item 7: Foram incluídas cepas-padrão de *Candida* nos ensaios?
- Item 8: Houve a identificação do tempo de incubação na etapa de pré-irradiação?
- Item 9: Foi realizado cegamento da leitura dos resultados?
- Item 10: Foram realizados testes estatísticos para validação da significância dos resultados?

Publicações com menos de quatro itens foram classificadas de alto risco de viés; quatro e seis, risco moderado; e acima de seis, baixo risco. Discrepâncias foram resolvidas por discussão entre os pesquisadores. (Zhang *et al.*, 2023; Cochrane Training, 2024).

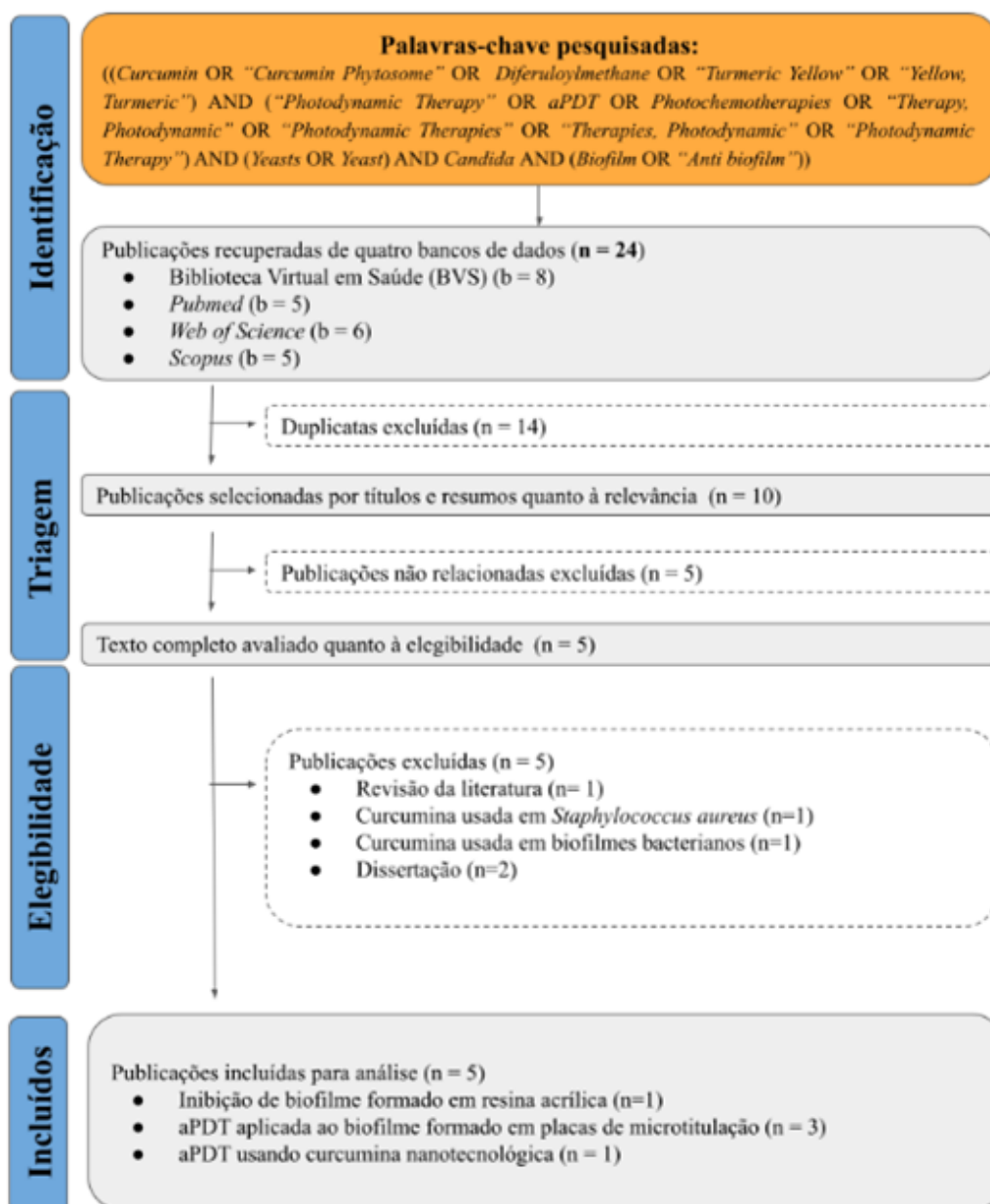
4.1.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1.3.1 Resultados da busca

Foram selecionadas 24 publicações, sendo 5 (20,8%) artigos obtidos na *Scopus*, 6 (25,0%) na *Web of Science*, 5 (20,8%) na *PubMed* e 8 (33,3%) na Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), publicadas entre abril de 2011 a fevereiro de 2024. Após a exclusão de 14 publicações duplicadas, 10 estudos passaram para a fase seguinte de análise dos títulos e dos resumos. Segundo os critérios de elegibilidade, foram excluídos 3 (12,5%) artigos que não abordavam o tema da revisão. Dessa forma, 7 (20,8%) artigos foram selecionados para a leitura completa. Na etapa seguinte, 2 (8,3%) estudos foram excluídos por não fornecerem informações completas. A existência de outros trabalhos que atendiam os critérios de inclusão e que poderiam ser incluídos nesta revisão sistemática foi verificada nas referências dos artigos selecionados.

Um total de 5 artigos foi selecionado para compor a revisão sistemática, dos quais 2 foram estudos com biofilmes multiespécies com a presença de leveduras do gênero *Candida*, 3 com biofilmes formados em microplacas de poliestireno e 1 com biofilme formado em resina acrílica para base de prótese, conforme o fluxograma na Figura 1 e a Tabela 1.

Figura 1. Triagem, elegibilidade e inclusão de artigos conforme o diagrama de fluxo PRISMA (adaptado)



Fonte: Os autores, 2025

Tabela 1. Principais características dos estudos selecionados conforme os critérios de elegibilidade

Autores, Ano de publicação e País	Ravazzi <i>et al.</i> , 2023 Brasil	Sanitá <i>et al.</i> , 2018 Brasil	Quishida <i>et al.</i> , 2016 Brasil	Dovigo <i>et al.</i> , 2011a Brasil	Dovigo <i>et al.</i> , 2011b Brasil
Tipo de estudo e metodologia empregada	aPDT mediada por CUR nanotecnológica foi avaliada contra biofilmes microbianos multiespécies pré-formados transferidos para canais radiculares de 40 dentes humanos naturais <i>in vitro</i>	aPDT medida por CUR contra biofilmes formados em microplacas de poliestireno de 96 poços, por meio de ensaio metabólico baseado na redução de XTT. A penetração da curcumina através do biofilme foi avaliada por meio da observação em microscópio.	Inativação fotodinâmica mediada por CUR em biofilmes multiespécies em resina acrílica para base de prótese. Avaliação da viabilidade do biofilme, com a quantificação de colônias, verificação da atividade metabólica pelo ensaio de redução XTT e quantificação da biomassa total com coloração com cristal violeta	Avaliação da aPDT mediada por CUR contra biofilmes formados em microplacas de poliestireno de 96 poços por meio de ensaio metabólico baseado na redução de XTT. Quantificação das células aderidas aos poços realizada por meio do ensaio com cristal violeta	Investigação do efeito fotodinâmico da curcumina contra biofilmes formados em microplacas de poliestireno de 96 poços com ensaio metabólico baseado na redução de XTT. Os espectros de absorção e fluorescência da curcumina foram avaliados
Espécies de <i>Candida</i>	<i>C. albicans</i> ATCC 90029	Isolados clínicos de pacientes HIV-positivos (CD6; CD7; CD8) e uma cepa de referência <i>C. dubliniensis</i> CBS 7987	<i>C. albicans</i> ATCC 90028 <i>C. glabrata</i> ATCC 2001	15 isolados clínicos de leveduras compreendendo <i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> e <i>C. tropicalis</i>	<i>Candida albicans</i> ATCC 90028
Tempo de pré-irradiação	9 minutos	20 minutos	20 minutos	20 minutos	5 e 20 minutos
Fonte de Luz, comprimento de onda	LED azul; Comprimento de onda de 450 nm com largura espectral de 395 a 480 nm	Diodo emissor de luz LED Comprimento de onda de 455 nm	Diodo emissor de luz LED; Comprimento de onda entre 440 e 460 nm	Diodo emissor de luz composto por oito LED azuis royal de 440 a 460 nm, com emissão máxima em 455 nm	Diodo emissor de luz composto por oito LED azuis royal de 440 a 460 nm, com emissão máxima em 455 nm
Preparo da curcumina	Técnica de microemulsão	Solubilizada em DMSO a 10%	Solubilizada em DMSO a 10%	Solubilizada em DMSO e diluída em solução salina	Solubilizada em DMSO a 10% e diluída em solução salina

Concentração de curcumina	80 µg mL ⁻¹	20, 30 e 40 µM	80, 100 e 120 µM	20, 30 e 40 µM	5, 10, 20, 30 e 40 µm
Resultados	Redução do número de Log ₁₀ UFC/mL, apresentou redução em média 0,71 Log ₁₀ UFC mL ⁻¹ para a <i>C. albicans</i>	Redução do metabolismo das leveduras no biofilme de <i>C. dubliniensis</i> . Além disso, nos biofilmes foi observada uma maior resistência à aPDT mediada por CUR	Os biofilmes (24 h e 48 h) foram suscetíveis a inativação fotodinâmica antimicrobiana mediada por CUR	A atividade metabólica dos biofilmes de <i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> e <i>C. tropicalis</i> foi reduzida em 85%, 85% e 73%, respectivamente, por CUR a 40 µM e dose de luz 18 J/cm ² . Evidenciando que baixas concentrações de CUR em associação à excitação de luz, podem ser eficazes para inativar isolados de <i>Candida</i>	A curcumina irradiada com luz LED azul, provou ser um agente fotossensibilizador eficaz para a inativação de <i>C. albicans</i> na forma de biofilme. Melhor resultado com a curcumina a 40 µm e tempo de pré-irradiação de 20 minutos.

Fonte: Os autores, 2025

Os artigos selecionados foram publicados entre 2011 e 2023, por autores do Brasil, que avaliaram biofilmes pré-formados: 3 (60%) em placas de poliestireno, 1 (20%) em resina acrílica e 1 (20%) em canais radiculares. Apenas 2 (40%) usaram isolados clínicos, enquanto 3 (60%) empregaram cepas ATCC (*American Type Culture Collection*).

Os estudos avaliaram biofilmes de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis* e *C. tropicalis*. A maioria 4 (80%) usou diodo emissor de luz LED, com CUR em concentrações de 5 a 120 μM em 4 (80 %) estudos e um 1 (20 %) estudo utilizou 80 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os tempos de pré-irradiação variaram entre 5 e 20 minutos.

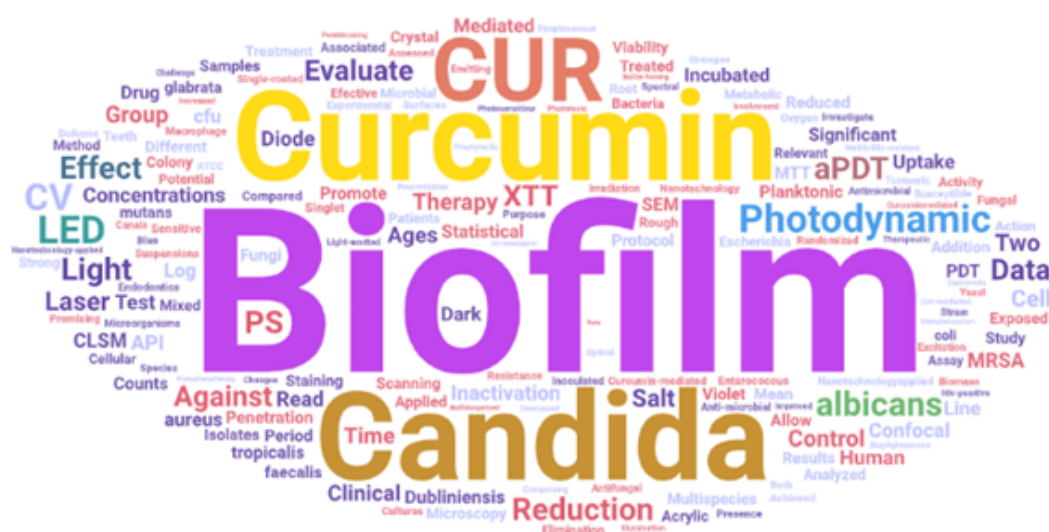
O efeito da aPDT mediada por CUR e aplicada a nanotecnologia foi verificado contra biofilmes multiespécies formados em canais radiculares de dentes humanos extraídos. Os resultados demonstraram que houve uma redução média de 0,71 Log_{10} UFC mL^{-1} comparado ao grupo controle (Ravazzi *et al.*, 2023). Em outro estudo, a aPDT com CUR reduziu o metabolismo e a viabilidade (57,70% a 82,05%) em biofilmes de *C. dubliniensis* de isolados clínicos de pacientes HIV+ e uma cepa de referência (CBS 7987) (Sanitá *et al.*, 2018).

Em um dos estudos foi verificado que a aPDT mediada por CUR, reduziu significativamente a viabilidade de *C. albicans* em biofilmes de 24h (80, 100 e 120 μM) e em 48h (120 μM) formados em resina acrílica. Para *C. glabrata*, todas as concentrações foram eficazes, independentemente do tempo do biofilme (Quishida *et al.*, 2016). Outro trabalho, evidenciou que a aPDT mediado por CUR (40 μM e 18 J/cm^2) reduziu a atividade metabólica dos biofilmes em 85% (*C. albicans* e *C. glabrata*) e 73% (*C. tropicalis*), assim como, diminuiu a biomassa em 52,3%, 69,1% e 64,1%, respectivamente, em biofilmes de isolados clínicos de candidíase oral (Dovigo *et al.*, 2011a). A aPDT mediada por CUR diminuiu significativamente a atividade metabólica de biofilmes de *Candida albicans* ATCC 90028 em todas as concentrações testadas, com diminuição da viabilidade conforme o aumento da concentração de CUR (Dovigo *et al.*, 2011b).

4.1.3.2 Termos mais empregados nos trabalhos avaliados

Após a avaliação dos títulos, resumos e palavras-chave dos artigos selecionados, foi possível identificar os termos recorrentes e mais abordados de forma panorâmica com a visualização da relevância dentro do escopo desta revisão. O resultado gráfico está representado na Figura 2 a seguir.

Figura 2. Identificação dos termos mais abordados nos artigos avaliados



Legenda: Co-ocorrência dos principais termos presentes nos “Títulos, Resumos e Palavras-chave” das publicações elegíveis das bases de dados utilizadas nesta revisão sistemática.

Fonte: Os autores, 2025

A análise da co-ocorrência permitiu a verificação dos termos mais frequentes na nuvem de palavras. Os artigos selecionados abordaram a aPDT mediada por CUR, contra biofilmes de leveduras do gênero *Candida* principalmente *C. albicans*. Os termos mais citados foram *biofilm*=30, *Candida*=20, *CUR*=19, *curcumin*=20, *photodynamic* e LED com 15 cada, *albicans*=13, *effect*, *aPDT*, *light* e *reduction*=12.

4.1.3.3 Risco de Viés

O presente estudo verificou a qualidade dos artigos incluídos nesta revisão sistemática, através da análise do risco de viés. Essa análise foi

realizada por dois pesquisadores independentes. A Tabela 2 apresenta o risco de viés nos estudos selecionados.

Tabela 2. Risco de viés nos estudos sobre a atividade antimicrobiana da terapia fotodinâmica mediada por curcumina contra biofilmes de leveduras do gênero *Candida*.

n.º	Estudo Autores, ANO	Item avaliado										Score	Risco de viés
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	Ravazzi <i>et al.</i> , 2023	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	9	Baixo
2	Sanità <i>et al.</i> , 2018	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	8	Baixo
3	Quishida <i>et al.</i> , 2016	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	8	Baixo
4	Dovigo <i>et al.</i> , 2011a	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	7	Baixo
5	Dovigo <i>et al.</i> , 2011b	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	8	Baixo

Legenda: ● : Item incluído no estudo; ● : Item não incluído no estudo ; Item 1- Foi descrita a presença de grupos controle?; Item 2- O estudo apresenta concordância entre a metodologia proposta e a descrição completa dos resultados?; Item 3- Os parâmetros da fotoativação como o tipo de fonte de luz, a dose e o comprimento de onda foram descritos?; Item 4- Os autores descreveram o equipamento de fotoativação?; Item 5- Os autores deram informação detalhada sobre o fotossensibilizador, incluindo a origem e o método de preparo prévio aos ensaios?; Item 6- Os autores detalharam os parâmetros microbiológicos da metodologia empregada?; Item 7- Foram incluídas cepas-padrão de *Candida*. nos ensaios?; Item 8- Houve a identificação do tempo de incubação na etapa de pré-irradiação?; Item 9- Foi realizado cegamento da leitura dos resultados?; Item 10- Foram realizados testes estatísticos para validação da significância dos resultados?

Fonte: Os autores, 2025

Os estudos selecionados apresentaram baixo risco de viés com Score mínimo de sete. Sendo observado que dentre os itens avaliados o “Item 4” foi contemplado, apenas em um estudo de Ravazzi *et al.*, (2023). O “Item 7” evidenciou que apenas um estudo de Dovigo *et al.*, (2011a), não utilizou cepas padrão. Na avaliação do “Item 9” foi observado que nenhum dos estudos realizou o cegamento da leitura dos resultados.

4.1.4. CONCLUSÃO

Dentre os principais achados, a aPDT mediada por CUR demonstrou eficácia contra biofilmes de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis* e *C. tropicalis*, reduzindo sua atividade metabólica e viabilidade celular. Além disso, estudos revelaram que o DMSO e formulações nanotecnológicas potencializaram a penetração da CUR na matriz do biofilme, aumentando a produção de ROS e danos às membranas celulares e biomoléculas.

As limitações observadas foram a heterogeneidade metodológica (variações em concentrações de CUR, fontes de luz e tempos de exposição) dificultou comparações diretas. O uso de modelos *in vitro* e cepas ATCC limitou a extrapolação para isolados clínicos resistentes.

A aPDT mediada por curcumina emerge como opção adjuvante para o tratamento de candidíases associadas a biofilmes, principalmente em infecções orais e relacionadas a dispositivos médicos. No campo da pesquisa, a otimização de protocolos, para padronização de parâmetros (e.g., comprimento de onda, concentração de PS) e estudos *in vivo* são necessários para validar a eficácia e segurança. As combinações terapêuticas, para avaliar a sinergia entre aPDT e antifúngicos convencionais merece investigação para superar a problemática da resistência antifúngica.

Portanto, concluímos que a aPDT mediada por curcumina é uma estratégia promissora contra biofilmes de *Candida* spp. Apesar das limitações, os achados da presente revisão sistemática da literatura sustentam sua viabilidade como terapia complementar e reforça a necessidade de pesquisas voltadas para aplicação em diferentes contextos clínicos. A padronização de protocolos e a exploração de sinergias terapêuticas são essenciais para consolidar seu uso no tratamento de infecções fúngicas emergentes.

4.1.5. AGRADECIMENTOS

Agradecemos à CAPES pela concessão de bolsa para o primeiro autor. À Universidade Estadual de Goiás (UEG) pela bolsa destinada ao segundo autor e à empresa Quimilab Comércio e Representações Ltda.

4.1.6. REFERÊNCIAS

Bhawana; Basniwal, R. K.; Buttar, H. S.; Jain, V. K.; Jain, N. Curcumin nanoparticles: preparation, characterization, and antimicrobial study. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 59, n. 5, p. 2056-2061, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf104402t>

Chen, S.; Huang, B.; Tian, J.; Zhang, W. Advancements of Porphyrin-Derived Nanomaterials for Antibacterial Photodynamic Therapy and Biofilm Eradication. **Advanced Healthcare Materials**, v. 13, n. 27, p. 2401211, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1002/adhm.202401211>

Cochrane Library. Cochrane Library, 2024. **O que é PICO?**. Disponível em: <https://www.cochranelibrary.com/about-pico>. Acesso em: 08 set. 2024.

Cochrane Training. **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions**. Disponível em: <https://training.cochrane.org/handbook/current>. Acesso em: 10 out. 2024.

Dovigo *et al.* Susceptibility of clinical isolates of *Candida* to photodynamic effects of curcumin. **Lasers in surgery and medicine**, v. 43, n. 9, p. 927-934, 2011a. DOI: <https://doi.org/10.1002/lsm.21110>

Dovigo *et al.* Investigation of the photodynamic effects of curcumin against *Candida albicans*. **Photochemistry and photobiology**, v. 87, n. 4, p. 895-903, 2011b. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2011.00937.x>

Flemming *et al.* The biofilm matrix: multitasking in a shared space. **Nature Reviews Microbiology**, v. 21, n. 2, p. 70-86, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00791-0>

Johnson, N.; Phillips, M. Rayyan for systematic reviews. **Journal of Electronic Resources Librarianship**, v. 30, n. 1, p. 46-48, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1080/1941126X.2018.1444339>

Joshi *et al.* Enhancing the efficacy of antimicrobial photodynamic therapy through curcumin modifications. **Photochemistry and Photobiology**, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1111/php.14000>

Karygianni, L.; Ren, Z.; Koo, H.; Thurnheer, T. Biofilm matrixome: extracellular components in structured microbial communities. **Trends in microbiology**, v. 28, n. 8, p. 668-681, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.03.016>

Khatoon, Z.; McTiernan, C. D.; Suuronen, E. J.; Mah, T. F.; Alarcon, E. I. Bacterial biofilm formation on implantable devices and approaches to its treatment and prevention. **Heliyon**, v. 4, n. 12, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e01067>

Malinovská, Z.; Čonková, E.; Váczi, P. Biofilm formation in medically important *Candida* species. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 10, p. 955, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof9100955>

Massey, J; Zarnowski, R; Andes, D. Role of the extracellular matrix in *Candida* biofilm antifungal resistance. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 47, n. 6, p. fuad059, 2023

Melo, W. C. M. A. ; Celiešiūtė-Germanienė, R.; Šimonis, P.; Stirke, A. Antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) for biofilm treatments. Possible synergy between aPDT and pulsed electric fields. **Virulence**, v. 12, n. 1, p. 2247-2272, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1960105>

Mohammadi, A.; Hosseinzadeh Colagar, A.; Khorshidian, A.; Amini, S. M. The functional roles of curcumin on astrocytes in neurodegenerative diseases. **Neuroimmunomodulation**, v. 29, n. 1, p. 4-14, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1159/000517901>

Moher *et al.* Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. **Systematic reviews**, v. 4, p. 1-9, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1186/2046-4053-4-1>

Ouzzani, M.; Hammady, H.; Fedorowicz, Z.; Elmagarmid, A. Rayyan - a web and mobile app for systematic reviews. **Systematic Reviews**, v. 5, p. 1-10, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13643-016-0384-4>

Polat, E.; Kang, K. Natural photosensitizers in antimicrobial photodynamic therapy. **Biomedicines**, v. 9, n. 6, p. 584, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines9060584>.

Quishida *et al.* Photodynamic inactivation of a multispecies biofilm using curcumin and LED light. **Lasers in Medical Science**, v. 31, p. 997-1009, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10103-016-1942-7>

Ramage *et al.* Our current clinical understanding of *Candida* biofilms: where are we two decades on?. **APMIS**, v. 131, n. 11, p. 636-653, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1111/apm.13310>

Ramage, G.; Martínez, J. P.; López-Ribot, J. L. *Candida* biofilms on implanted biomaterials: a clinically significant problem. **FEMS yeast research**, v. 6, n. 7, p. 979-986, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2006.00117.x>

Ravazzi *et al.* The effects of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) with nanotechnology-applied curcumin and 450nm blue led irradiation on multi-species biofilms in root canals. **Lasers in Medical Science**, v. 38, n. 1, p. 254, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10103-023-03925-9>

Rodrigues, M. E.; Gomes, F.; Rodrigues, C. F. *Candida* spp./bacteria mixed biofilms. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 1, p. 5, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof6010005>

Roemer, T.; Krysan, D. J. Antifungal drug development: challenges, unmet clinical needs, and new approaches. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 4, n. 5, p. a019703, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019703>

Sanitá *et al.* Curcumin-mediated anti-microbial photodynamic therapy against *Candida dubliniensis* biofilms. **Lasers in Medical Science**, v. 33, p. 709-717, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10103-017-2382-8>

Tsui, C.; Kong, E. F.; Jabra-Rizk, M. A. Pathogenesis of *Candida albicans* biofilm. **FEMS Pathogens and Disease**, v. 74, n. 4, p. ftw018, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1093/femspd/ftw018>

Zhang *et al.* Peptide designs for use in caries management: a systematic review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 4, p. 4247, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24044247>

4.2. Artigo 2

Photodynamic activity of curcumin against *Candida* biofilms on toothbrushes

João Salviano Simões Chagas da Silva, Maria José Barbaresco, Maria Gabriella Fernandes Ribeiro Eliseu, Reuber Mendes Rocha, Alliny das Graças Amaral, Lucas Danilo Dias, Plínio Lázaro Faleiro Naves.

ABSTRACT

Oral hygiene is necessary for maintaining human health, and regular brushing is recommended to control oral microbial biofilm. Toothbrushes are manufactured free of microorganisms, but after the first use they become contaminated and can represent a potential source of cross-contamination. Regular replacement or decontamination of toothbrushes is recommended. In this context, antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) is a technology based on the production of reactive oxygen species, when light-absorbing compounds (photosensitizers) react with light and oxygen. The products of these reactions have antimicrobial activity and are used in dentistry to control microbial biofilms. Take into account, this study evaluated the activity of curcumin photoactivated with 450nm LED light against *Candida krusei* Ck7 and *Candida albicans* ATCC 10231 biofilms adhered to toothbrushes. Curcumin without photoactivation reduced the number of viable cells by 77.5% and 91.73%, respectively. Photoactivated curcumin reduced the biofilm of *C. krusei* Ck7 by 97.94% and *C. albicans* by 98.8%. Therefore, photoactivated curcumin provided a powerful reduction in the number of viable yeasts associated with the biofilm and may represent a promising complementary technique to conventional antimicrobial agents.

Keywords: Phototherapy. Antimicrobial activity. Yeasts. Blue LED light.

4.2.1 INTRODUCTION

A diverse oral microbiota is essential for maintaining oral and systemic health. Communities of bacteria, fungi and viruses that reside in different niches of the oral cavity normally make up and participate in homeostasis, however the use of antiseptics can result in an imbalance in the microbiome, making it dysbiotic and less diverse (Brokes *et al.*, 2020).

Oral hygiene is necessary for maintaining human health, as the formation of microbial biofilm in this anatomical site can cause or aggravate periodontal diseases, caries and different infections by various microbial species, including *Candida* (Menezes *et al.*, 2020).

Although toothbrushes are the most commonly used oral hygiene devices in the world, there is still no consensus on the effectiveness of different brushing techniques. A recent systematic review with meta-analysis found no evidence to support these recommendations, considering the evidence limited and that more research is needed to attest to the effectiveness of brushing (Deinze *et al.*, 2024).

In addition, another study reinforces that conventional brushing may be insufficient for oral hygiene, and it is necessary to complement oral hygiene with dental floss and oral irrigators (Al-Moharib *et al.*, 2024).

Toothbrushes are manufactured free of microorganisms, but after the first use they are contaminated by the microbiota present in the oral cavity or in the external environment and can represent a potential source of cross-contamination for the user (Álvarez *et al.*, 2023; Chellappa *et al.*, 2021).

Thus, the toothbrush is contaminated after the first use and with continued use the level of contamination increases. Factors such as humidity in the storage area, the use of a plastic cap, the shape of the toothbrush and the type of bristles tend to increase contamination (Khan *et al.*, 2023).

Although in dentistry it is emphasized that brushes should be stored correctly, disinfected and changed at regular intervals, there are few articles on the disinfection of brushes (Chellappa *et al.*, 2021).

In a previous study, all the toothbrushes analyzed were contaminated with different microorganisms when used for a month. Conventional antiseptics were evaluated to decontaminate the brushes and the most effective was chloroxylenol, followed by Listerine® and chlorhexidine. The authors also concluded that rinsing with tap water was ineffective (Pradeep *et al.*, 2022).

The inappropriate use of antimicrobials leads to the selection and emergence of drug-resistant microorganisms. Photodynamic therapy (PDT) is an alternative approach with satisfactory results in microbiological tests, and is based on the production of reactive oxygen species when light-absorbing compounds react with light and oxygen. When this technique is used to eradicate microorganisms, it is called antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) (Khatoon *et al.*, 2018).

Photodynamic therapy technology is used in dentistry mainly in research into the treatment of dental plaque-related diseases, but can be used to combat biofilm-related infections on implants, such as joint prosthesis infections and ventilator-associated pneumonia (Li *et al.*, 2021).

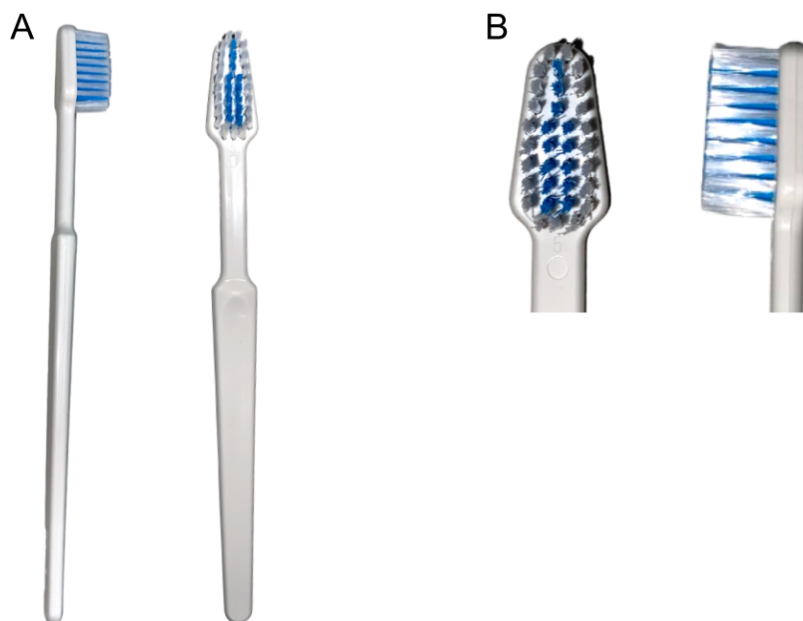
In this context, and due to the need to develop new antimicrobial agents and/or technologies capable of overcoming the challenges caused by fungal infections, this study aims to evaluate the effect of antimicrobial photodynamic therapy mediated by curcumin as a photosensitizer on the formation of biofilms of the yeasts *Candida albicans* and *Candida krusei* on toothbrushes.

4.2.2 METHODOLOGY

The tests were carried out by inoculating the standard yeast *Candida albicans* 10231 and the clinical isolate *Candida krusei* Ck7, that

belong to the microorganism collection of the Bioassay Laboratory of the Research and Postgraduate Center of the State University of Goiás, onto previously sterilized disposable toothbrushes with a size of 167 mm, a 12 mm head, 34 tufts and 747 white and 444 blue bristles, totaling 1191 nylon bristles (Figure 1).

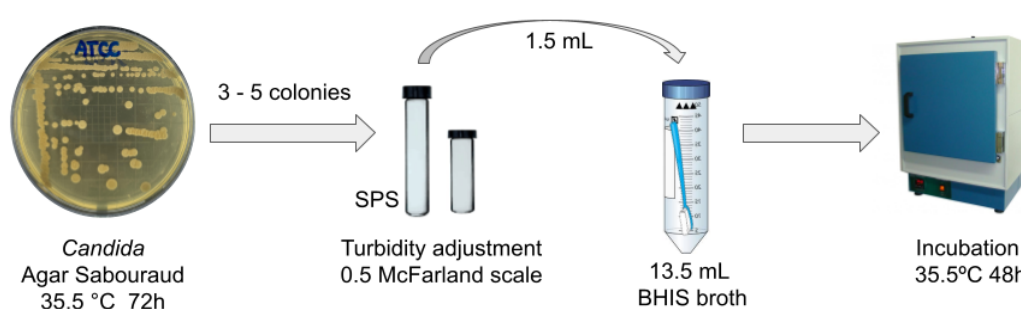
Figure 1. Toothbrushes used in the study A. General appearance and B. Detail of head and bristles



Source: The authors

Yeast colonies grown on Sabouraud agar (FIRSTLAB, MicroMedia, Hungary) at 35.5 °C for 72 hours were resuspended in sterile physiological solution (SPS) and the turbidity adjusted using the 0.5 MacFarland scale. Subsequently, 1.5 mL of the suspensions were transferred to Falcon tubes containing the toothbrush and 13.5 mL of Brain Heart Infusion broth plus 2% sucrose (BHIS) (HIMEDIA®, HiMedia Laboratories, India) and then the tubes were incubated at 35.5 °C for 48 h for the biofilms to develop (Figure 2).

Figure 2. Test for the formation of *Candida* biofilm on toothbrushes



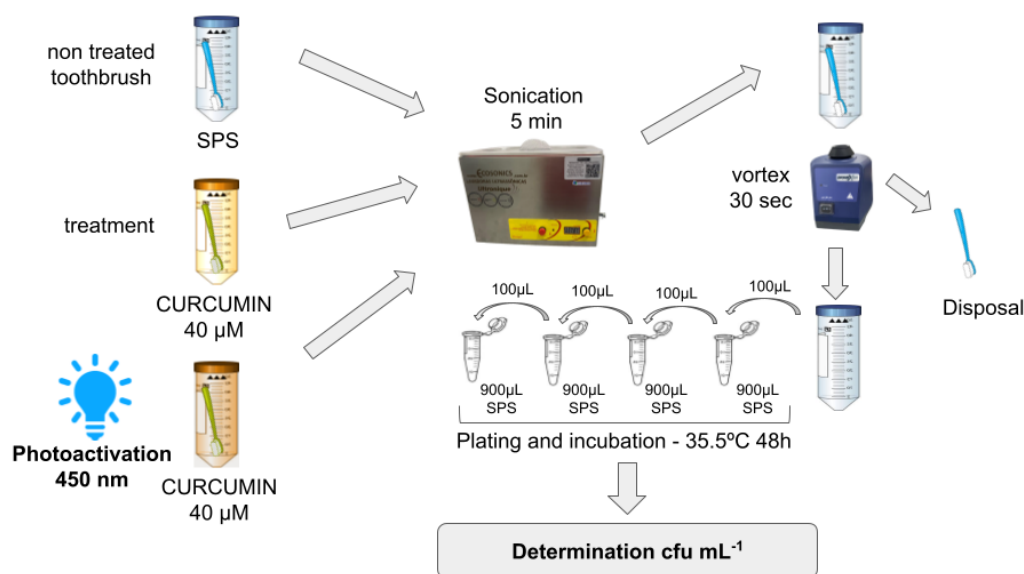
Legends: SPS -sterile physiological solution, BHIS -Brain Heart Infusion broth plus 2% sucrose.

Source: The authors

After incubation, the toothbrush was transferred to another Falcon tube with 15 mL of SPS to remove the planktonic yeasts and then placed in another Falcon tube with 15 mL of SPS for sonication in an ultrasonic bath (Ultronique Q3.8/40A, Indaiatuba, São Paulo) for 5 minutes at room temperature and vortexed for 30 seconds to detach the cells associated with the biofilm.

Afterward, the toothbrush was discarded and the SPS was diluted and plated for microbial counting and calculation of cfu mL⁻¹. The procedures were carried out to determine the number of viable yeasts at the start of the experiments, on untreated toothbrushes (viability control) and on toothbrushes treated with 40 µM curcumin solution, not photoactivated and photoactivated at 450 nm with LED light (Figure 3).

Figure 3. Processing the biofilms adhered to the toothbrushes



Legends: SPS -sterile physiological solution

Source: The authors

The same process was carried out on inoculated toothbrushes to determine the initial yeast inoculum before biofilm formation. All tests were carried out in independent triplicates to calculate means and standard deviations.

4.2.3 RESULTS AND DISCUSSION

The results of the counts of viable yeasts adhered to the brushes under the conditions evaluated are shown in Figure 4.

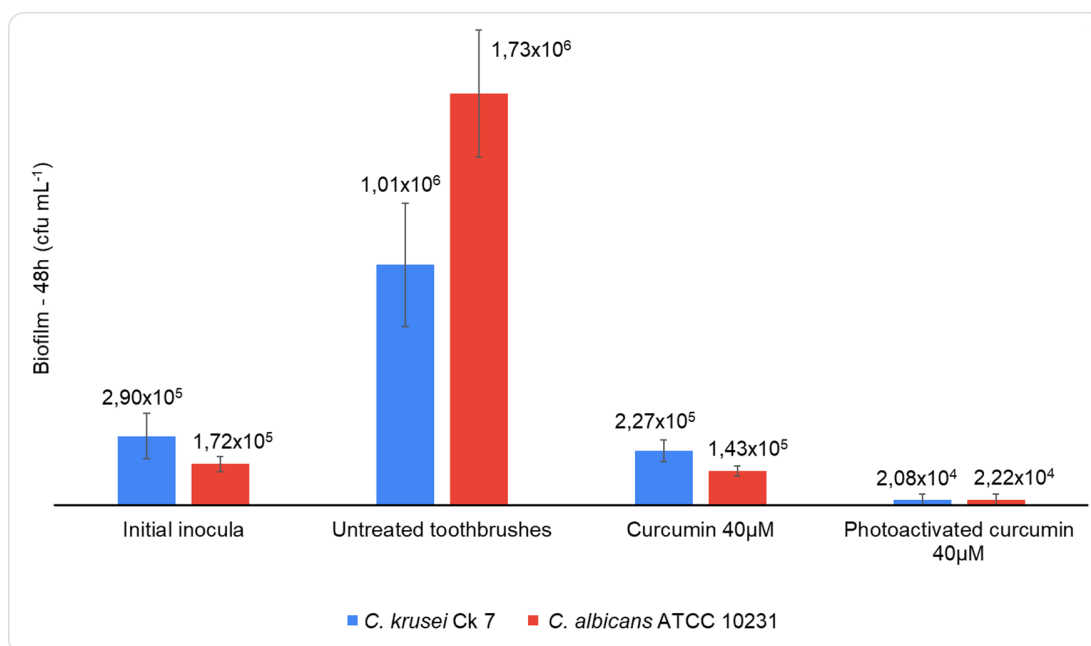
Both yeasts were capable of forming biofilms, with counts of 1.01×10^6 cfu mL⁻¹ for *C. krusei* Ck7 and 1.73×10^6 cfu mL⁻¹ for *C. albicans* ATCC 10231. The count of viable yeasts used as the initial inoculum in the biofilm formation tests was determined as 2.9×10^5 cfu mL⁻¹ for *Candida krusei* Ck7 and 1.72×10^5 cfu mL⁻¹ for *Candida albicans* ATCC 10231.

Yeasts form complex and resistant biofilms on the surface of dental materials and are the main etiological factor in protein stomatitis, which results in damage to the oral mucosa. Even so, there is no consensus in the literature on the most appropriate method for preventing or combating biofilms on the surface of these materials (Moraes *et al.*, 2021).

Several studies have shown that the environment within a fungal biofilm, including the morphological variation within this structure (yeasts, pseudohyphae and hyphae), confers advantages over free-living planktonic growth (PONDE *et al.*, 2021).

Toothbrushes treated with non-photoactivated 40 μM curcumin showed a 77.5 % reduction in the number of viable cells of *C. krusei* Ck7 and a 91.73 % reduction in *C. albicans* ATCC 10231. The reduction in yeasts associated with the biofilm was greater in the brushes treated with curcumin photoactivated with LED, reaching 97.94 % for *C. krusei* Ck7 and 98.8 % for *C. albicans* compared to the untreated brushes (control group).

Figure 4. Counts of viable yeasts (cfu mL⁻¹) in biofilm formation tests on toothbrushes



Legends: *C. albicans* - *Candida albicans*, Ck - *Candida krusei*, ATCC - American Type Culture Collection.

Source: The authors

The results of the treatment with curcumin showed that there was a significant reduction in the viability of the yeasts compared to the untreated brushes. Furthermore, curcumin photoactivated with LED light was even more effective against the yeasts tested, reducing the count of the number of viable cells associated with the biofilm by around two Logs.

A comparison of the treatments with curcumin and photoactivated curcumin showed that candidicidal activity was enhanced by activating the compound with 450 nm LED light. When compared to the group treated with curcumin alone, photodynamic therapy reduced the number of viable *C. krusei* Ck7 on toothbrushes by 90.86 % and *C. albicans* ATCC 10231 by 84.50 %. Thus, photoactivation significantly increased the effectiveness of curcumin treatment against yeasts.

The antifungal activity of photoactivated curcumin against *C. albicans* biofilms was reported in a previous study with the same concentration (40 μ M) used in our study and a light dose of 5.28 J cm⁻². The authors observed a 68 % and 87 % reduction in the metabolic activity of the biofilms with pre-irradiation of 5 and 20 minutes, respectively (Dovigo *et al.*, 2011).

The inactivation of microorganisms with photodynamic therapy and photochemical reactions occurs through the synergy of a number of factors: photosensitive molecules, light and cellular oxygen. The process begins with the photosensitizer accumulating in the cells after administration, which can be topical or systemic. Soon after, these photosensitized cells are exposed to light with a wavelength that corresponds to their absorption spectrum and two types of reactions occur, releasing reactive oxygen species and singlet oxygen, respectively, which lead the photosensitized cells to death (Zangirolami *et al.*, 2022).

4.2.4 CONCLUSIONS

Antimicrobial photodynamic therapy is a promising technology that offers an innovative approach to disinfecting surfaces prone to microbial colonization such as medical devices, dental instruments, public facilities and industrial environments. The activation of a photosensitizing agent with light produces an oxygen-rich environment that causes the destruction of the microbial load on these surfaces (Dube 2024; Zhou *et al.*, 2024).

Photodynamic antimicrobial therapy mediated by curcumin photoactivated with 450 nm LED light is effective against the formation of

yeast biofilms. In our work, we concluded that curcumin photoactivated with 450 nm LED light is effective against *C. krusei* Ck7 and *C. albicans* ATCC 10231 biofilms. Yeast biofilms were formed on the experimentally inoculated toothbrushes, treatment with 40 µM non-photoactivated curcumin was able to reduce the counts of adhered cells to levels close to those of inoculation, however 40 µM photoactivated curcumin provided a potent reduction in the number of viable yeasts associated with the biofilm on the brushes.

The results obtained help in the search for complementary techniques to the available antimicrobial arsenal, in a context where the emergence of resistant microorganisms and the impact this has on human health is being observed. With regard to the limitations of this study, we would point out that there are still few studies with an experimental design similar to ours. In addition, we suggest that future studies include other different microorganisms to verify the efficacy of curcumin-mediated aPDT.

Therefore, we conclude that this study contributes to the evaluation of the efficacy of aPDT in the photoinactivation of yeast biofilms and may represent a promising complementary technique to conventional antimicrobial agents, which will be evaluated in further work by the group.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank the Universidade Estadual de Goiás/Plataforma Institucional de Pesquisa e Inovação em Bioinsumos. To CAPES for the scholarships for the first and second authors, to UEG for the permanent scholarships for the third and fifth authors and to the company Quimilab Comércio e Representações Ltda.

4.2.5 REFERENCES

ALMOHARIB, H. S. et al. The effectiveness of water jet flossing and interdental flossing for oral hygiene in orthodontic patients with fixed appliances: a randomized clinical trial. **BMC Oral Health**, v. 24, n. 1, p. 498, 2024.

ÁLVAREZ, G. et al. Bacterial decontamination of toothbrushes by immersion in a mouthwash containing 0.05% chlorhexidine and 0.05% cetylpyridinium chloride: A randomized controlled trial. **International Journal of Dental Hygiene**, v. 21, n. 2, p. 357-364, 2023.

DUBE, E. Antimicrobial Photodynamic Therapy: Self-Disinfecting Surfaces for Controlling Microbial Infections. **Microorganisms**, v. 12, n. 8, p. 1573, 2024.

BROOKES, Z. L. S. et al. Current uses of chlorhexidine for management of oral disease: a narrative review. **Journal of dentistry**, v. 103, p. 103497, 2020.

CHELLAPPA, L. R. et al. Effectiveness of Alternate Methods of Toothbrush Disinfection: A Systematic. **Journal of Research in Medical and Dental Science**, v. 9, n. 1, p. 260-266, 2021.

DEINZER, R. et al. Manual toothbrushing techniques for plaque removal and the prevention of gingivitis—A systematic review with network meta-analysis. **Plos one**, v. 19, n. 7, p. e0306302, 2024.

DOVIGO, L. N. et al. Investigation of the photodynamic effects of curcumin against *Candida albicans*. **Photochemistry and photobiology**, v. 87, n. 4, p. 895-903, 2011.

KHAN, S. A. et al. An updated systematic review on toothbrush contamination: An overlooked oral health concern among general population. *International Journal of Dental Hygiene*, v. 22, n. 1, p. 95-105, 2024.

KHATOON, Z. et al. Bacterial biofilm formation on implantable devices and approaches to its treatment and prevention. **Heliyon**. v. 4, n. 12, 2018.

LI, X. et al. Novel approaches to combat medical device-associated biofilms. **Coatings**, v. 11, n. 3, p. 294, 2021.

MENEZES, M. L. F. V. et al. A importância do controle do biofilme dentário: uma revisão da literatura. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 55, p. e3698-e3698, 2020.

MORAES, G. S. et al. Is there an optimal method to detach *Candida albicans* biofilm from dental materials?. **Journal of Medical Microbiology**, v. 70, n. 10, p. 001436, 2021.

PONDE, N. O. et al. *Candida albicans* biofilms and polymicrobial interactions. **Critical reviews in microbiology**, v. 47, n. 1, p. 91-111, 2021.

PRADEEP, S. et al. A prospective study on assessment of microbial contamination of toothbrushes and methods of their decontamination. **Cureus**, v. 14, n. 10, 2022.

ZANGIROLAMI, A. C. et al. Impact of light-activated curcumin and curcuminoids films for catheters decontamination. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 213, p. 112386, 2022.

ZHOU, Z. et al. Borneol serves as an adjuvant agent to promote the cellular uptake of curcumin for enhancing its photodynamic fungicidal efficacy against *Candida albicans*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 253, p. 112875, 2024.

4.3. Artigo 3

Combined Curcumin and Chlorhexidine Photodynamic Treatment Effectively Inhibits Biofilm Formation of Clinical *Candida* Isolates from the Oral Cavity

João Salviano Simões Chagas da Silva, Maria José Barbaresco, Reuber Mendes Rocha, Maria Gabriella Fernandes Ribeiro Eliseu, Marina de Andrade, Lucas Danilo Dias, Plínio Lázaro Faleiro Naves

ABSTRACT

This study aimed to investigate the efficacy of the combination of chlorhexidine (CHX) and curcumin (CUR) under light irradiation in inhibiting the biofilm formation of *Candida* spp. isolated from the oral cavity. Tests were carried out to determine the total biofilm biomass using the crystal violet method, and biofilms were formed in Brain Heart Infusion broth supplemented with 2% sucrose (BHIS) and incubated at 35.5 °C for 48 hours, resulting in mature 48-hour-old biofilms. Subsequently, the minimum inhibitory concentration (MIC), the minimum fungicidal concentration (MFC), and the minimum biofilm inhibitory concentration (MBIC₅₀) of CHX combined with CUR were determined against clinical isolates of *Candida* spp., with and without photodynamic treatment. CUR stock solution was prepared in ethanol, diluted in BHIS, and used at final concentrations of 64, 32, 16, 8, and 4 µM. CHX was diluted to 2.97 µM, and 100 µL was combined with serial dilutions of CUR in the microplates. Immediately after combining, samples were photoactivated with blue LED light at 20 J/cm² or 100 J/cm². All the yeasts were able to form biofilms. The yeasts were sensitive to chlorhexidine with MICs varying between 5.94 and 23.74 µM and MFCs between 5.94 and 94.97 µM. Chlorhexidine was active against biofilm formation, with MBIC₅₀ ranging from 3.71 to 14.84 µM. Non-photoactivated curcumin showed no antimicrobial activity and did not inhibit biofilm formation. Photoactivated curcumin showed MBIC₅₀ against all yeasts. Curcumin associated with chlorhexidine inhibited *Candida* spp. biofilm formation under light irradiation (at 100 J/cm²) with MBIC₅₀ = 0.625 µM against all yeasts, except for *Candida albicans* Ca2 which was inhibited with MBIC₅₀ = 1.25 µM. The combination of chlorhexidine and curcumin photoactivated at 100 J/cm² inhibited the formation of biofilms by yeasts and may be a viable alternative for controlling the formation of *Candida* biofilms.

Keywords: Photodynamic inactivation; Curcumin; Oral cavity; Yeasts; Biofilm inhibition; Antimicrobial activity.

4.3.1. INTRODUCTION

Candida albicans is one of the leading causes of candidemia worldwide, causing infections ranging from superficial mucosal to disseminated candidiasis, presenting high clinical mortality rates (about 30-40%) [1,2]. This mortality is attributed to resistance to conventional antifungals agents and the ability to form biofilms on both medical devices' surfaces and host tissues, exacerbating infections and complicating antifungal therapy [3,4].

Among the antimicrobial agents used in clinical practice against *Candida albicans* infections, chlorhexidine (CHX), a broad-spectrum synthetic bisbiguanide, stands out for its use in mouthwashes, dressings, and central venous catheters [5,6]. Chlorhexidine is widely recommended for the treatment of oral candidiasis due to its broad-spectrum antimicrobial properties. It is particularly effective in managing fungal infections caused by *Candida* species, which are common in immunocompromised patients. CHX works by disrupting the cell membrane of microorganisms, leading to cell death and inhibiting the growth of the fungi. [7,8,9]. However, the indiscriminate use of antimicrobials can facilitate the development of microbial resistance, a growing challenge in healthcare [10].

A promising approach to mitigating this risk involves combining antimicrobial agents with innovative therapies that act via different mechanisms, allowing for dose reduction and thereby decreasing the likelihood of resistance [11]. In this regard, Photothermal therapy [12,13] and Antimicrobial Photodynamic Therapy (aPDT) appear as alternatives and complementary tools for controlling fungal infections [14]. Regarding aPDT, its mechanism is based on the formation of reactive oxygen species (ROS) such as ($^1\text{O}_2$, H_2O_2 , $\text{O}_2^{\bullet-}$, and $\bullet\text{OH}$) from the interaction between molecular oxygen (O_2), a photosensitizing molecule, and a light source [15].

Among the photosensitizers used in clinical practice and scientific research in antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) protocols, curcumin (CURC), whether synthetic or natural, has demonstrated significant therapeutic potential [16,17] Curcumin is a low-cost, naturally derived,

biocompatible, and widely available photosensitizer that, upon light activation, generates ROS, leading to microbial membrane damage, disruption of intracellular components, inhibition of biofilm formation, and suppression of virulence factors [18]. Additionally, curcumin exhibits anti-inflammatory and immunomodulatory properties, with minimal cytotoxicity to host tissues, making it a promising candidate for adjunctive antimicrobial therapies [19]. Its ability to generate ROS upon light activation makes it effective in combating a variety of microbial infections, including those caused by bacteria, fungi, and viruses. Despite its promising application, the combination of aPDT with antimicrobial agents has been the subject of numerous scientific studies [20,21]. This combination aims to enhance the antimicrobial effects of aPDT, improve treatment outcomes, and reduce the likelihood of resistance development by both modalities [16]. To the best of our knowledge, no systematic studies have investigated the combined use of chlorhexidine and curcumin for the inactivation of *C. albicans*.

The present study aims to systematically evaluate the activity of chlorhexidine combined with curcumin photosensitizer in inhibiting biofilm formation by *Candida* sp. yeasts isolated from the oral cavity.

4.3.2. Materials and Methods

4.3.2.1 Biofilm formation assays

Six yeasts isolated from the oral cavity of students at the State University of Goiás Central Campus (ethics committee no. 3.604.978) and the standard strain *Candida albicans* ATCC 10231 belonging to the microorganism collection of the Bioassay Laboratory of the Research and Postgraduate Center of the State University of Goiás were evaluated. The samples were streaked on CROMONEW CANDIDA chromogenic agar (Newprov, Brazil) for the phenotypic identification of *Candida* species. Biofilm formation was assessed by determining the total biomass of the biofilm using the crystal violet method described by Zayed *et al.* (2021) [22], with some modifications, and by counting the number of viable cells in the biofilm.

Briefly, colonies grown on Sabouraud agar (FIRSTLAB, MicroMedia, Hungary) were dissolved in 0.9 % sterile physiological saline (SPS) and the inocula density were adjusted using the 0.5 McFarland scale. Next, 500 μ L of the solutions were transferred to tubes containing 4500 μ L of Brain Heart Infusion broth with 2 % sucrose (BHIS) (HIMEDIA®, HiMedia Laboratories, India) and then 200 μ L of the inocula were aseptically transferred to sterile polystyrene microplate wells with 96 flat-bottomed wells (Cralplast, Cral, Brazil) and then the microplate was incubated at 35.5 °C for 48 hours. After incubation, the microplate was processed by removing the total growth, washing the wells, fixing the adhered biofilms with 96% ethanol (Itajá, Jalles Machado, Brazil), staining with 0.1 % crystal violet (Newprov, Brazil) and removing the excess dye with three washes with distilled water in the Aquari® automatic microplate washer (MA 615, Brazil). Finally, 200 μ L of 33 % glacial acetic acid was added to each well of the previously dried microplate and after 20 min the optical densities (OD_{620nm}) were read on a microplate spectrophotometer (Multiskan™ FC, Thermo Scientific™, China). The yeasts were tested in independent triplicates with a total of 20 wells, and the results obtained were organized as means and standard deviations. The average OD_{620nm} value obtained in the uninoculated control wells was used as a reference for classifying biofilm formation as weak when the OD_{620nm} of the yeasts were up to 0.300, moderate between 0.300 and 0.600 and strong above 0.600 [22]. The viable yeasts adhered to the biofilm were quantified by preparing the inocula in the same way as for the tests to determine the total biomass of the biofilm and then 100 μ L of the adjusted inocula were transferred to Eppendorf microtubes with 900 μ L of BHIS broth which were incubated at 35.5 °C for 48 h. After incubation, the microtubes were aseptically processed to detach the cells associated with the biofilm, by removing the grown broth and washing with 1 mL of SPS three times, sonication in an ultrasonic bath at 40 KHz (Ultronique Q3.8/40A, Indaiatuba, São Paulo) for 5 minutes at room temperature, vortex agitation for 30 seconds, dilution and plating to count the colonies and calculate the CFU mL⁻¹.

4.3.2.2 Evaluation of the activity of non-photoactivated compounds

4.3.2.2.1 Determination of MIC

The antifungal activity of curcumin and chlorhexidine was assessed by determining the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC) in sterile 96-well polystyrene microplates with a round bottom (Olen, China), adapting the method recommended by the Clinical and Laboratory Standard Institute [23].

The curcumin solution was prepared by dissolving 16.2 mg of 98 % synthetic curcumin (PDT Pharma, Brazil) in 20 mL of 96% ethanol (Itajá, Jalles Machado, Brazil), keeping it in an ultrasonic bath for 3 minutes for complete dissolution, and an aqueous solution of 640 μM was prepared from the stock solution. Chlorhexidine digluconate at 0.12 % was purchased commercially (Fagron, Brazil) and was diluted to 1/10 in BHIS broth (118.71 μM) before the tests. The yeast suspensions were prepared as described for the tests to determine the total biomass of the biofilm, and 20 μL of the inocula were transferred to the wells of the microplates containing 100 μL of the concentrations of the compounds. The microplates were then incubated at room temperature, and in absence of light for 20 minutes and then incubated at 35.5 °C for 48 hours. The concentrations tested ranged from 256 to 2 μM for curcumin and from 94.97 to 0.74 μM for chlorhexidine. The combination of compounds was tested with curcumin at concentrations of 64 to 4 μM and chlorhexidine at a concentration of 2.97 μM . The MIC was determined by visually reading the lowest concentration of the compounds capable of inhibiting yeast growth after incubating the microplates. The MFC was defined as the lowest concentration of the compounds that prevented the recovery of viable yeasts, determined by plating 100 μL from wells without visible turbidity onto Sabouraud agar and incubating the plates at 35.5 °C for 48 hours. All the tests were carried out in independent triplicates and the MIC and MFC values were obtained.

4.3.2.2.2 Determination of minimum biofilm inhibitory concentration (MBIC₅₀)

The activity of the non-photoactivated compounds against yeast biofilm formation was carried out as previously described in the total biofilm biomass assay [22]. Curcumin at concentrations of 320 to 2.5 μM , chlorhexidine from 59.36 to 0.46 μM and the combination of curcumin at concentrations of 40 to 0.625 μM and chlorhexidine at a sub-inhibitory concentration ($\frac{1}{4}$ MIC) were tested and the OD_{620nm} of the biofilms formed in the presence of the concentrations of the compounds were obtained in a microplate spectrophotometer (Multiskan™ FC, Thermo Scientific™, China) and compared with untreated controls. The lowest concentrations capable of inhibiting biofilm formation by at least 50% were the Minimum Biofilm Inhibitory Concentration (MBIC₅₀) [24]. MIC and MFC assessed antifungal activity against planktonic cells, while MBIC₅₀ assays were used to evaluate activity against biofilms, providing a more comprehensive analysis of antimicrobial efficacy.

4.3.2.3 Effect of photodynamic action on biofilm formation

The microplates were prepared as described above. Then, the curcumin and chlorhexidine solutions were added, incubated at room temperature (absence of light) for 20 minutes (pre-irradiation time) and illuminated for 15 minutes and 24 seconds (20 J/cm²) and 1 hour and 17 minutes (100 J/cm²) using a custom-built system equipped with 450 nm LEDs (Cree brand), delivering a total irradiance of 0.021 mW/cm² (calibrated using a powermeter - Thorlabs) to evaluate the impact of photoactivation of curcumin and in combination with chlorhexidine on yeast biofilm formation using the MBIC₅₀ determination test.

In addition to each isolated compound, combinations of chlorhexidine at a subinhibitory concentration of 2.97 μM and curcumin at concentrations of 80 to 0.625 μM were tested. After photoactivation, the microplates were incubated at 35.5 °C for 48 hours and processed as described above. All tests were carried out in independent triplicates to calculate means and standard deviations.

4.3.2.4 Statistical analysis

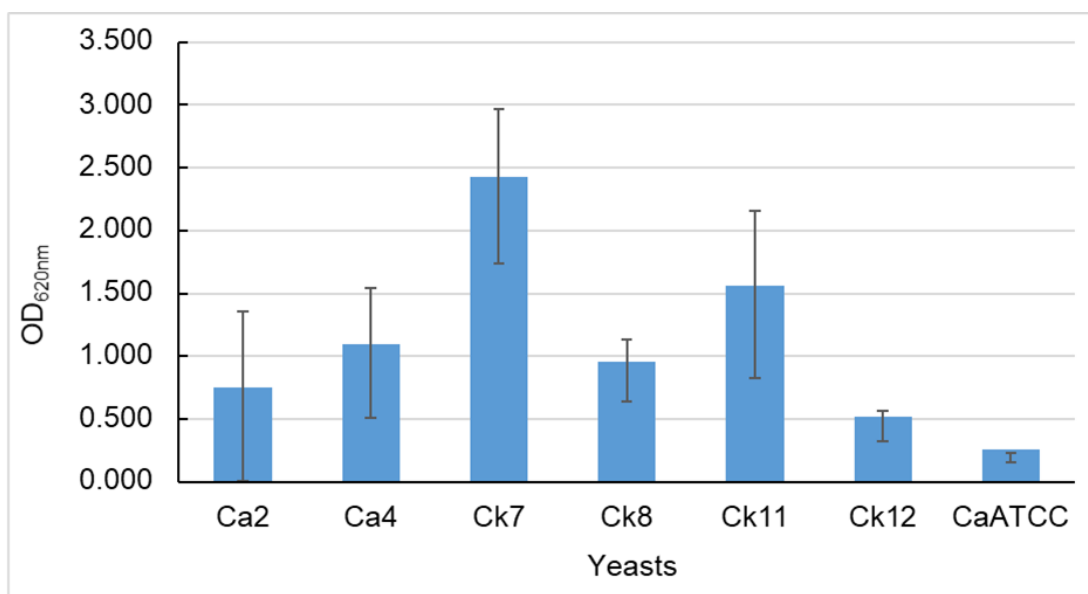
The statistical significance of differences between the treatments and untreated controls was evaluated by first assessing the normality of the data distribution using the Shapiro-Wilk test. Subsequently, the Kruskal-Wallis test was applied to determine significance levels, utilizing Jamovi software (version 2.4, The Jamovi Project, 2023). Results were considered statistically significant when $p < 0.05$.

4.3.3. RESULTS AND DISCUSSION

4.3.3.1 Biofilm Formation and Characterization

The biofilm formation of the seven yeasts included in this study, phenotypically identified as four *C. krusei* (Ck7, Ck8, Ck11 and Ck12), and three *C. albicans* (Ca2, Ca4 and CaATCC), was assessed by determining the total biomass of the yeasts adhered to the wells of the microplates after staining with crystal violet and reading the optical densities (OD_{620nm}) obtained in a microplate spectrophotometer. All the yeasts were able to form biofilms, five were identified as strong producers (*C. krusei* Ck7, *C. krusei* Ck11, *C. albicans* Ca4, *C. krusei* Ck8, and *C. albicans* Ca2) with OD_{620nm} readings greater than 0.600, one as moderate producer (*C. krusei* Ck12) with OD_{620nm} 0.448. *C. albicans* ATCC 10231 was identified as a weak biofilm former with readings below 0.194 (**Figure 1**). The number of viable cells in the biofilm varied between 2.38×10^4 and 2.19×10^6 CFU mL⁻¹.

Figure 1. Biofilm formation - OD_{620nm} detected by the crystal violet method.



Captions: OD_{620nm} = Optical density at 620 nm, Ca = *Candida albicans*, Ck = *Candida krusei*, and ATCC = American Type Culture Collection.

We found that there was heterogeneity between the biofilm formation profiles of the yeasts evaluated. *C. krusei* Ck7 was the biggest biofilm former and *C. albicans* ATCC 10231 the smallest. This difference may be explained by the surfaces used for the biofilm formation protocol being considered one of the most important exogenous factors [25]. In this regard, some authors described that *C. krusei* have been identified as more hydrophobic and with a greater ability to adhere to polystyrene [26]. In our study, the yeast *C. krusei* Ck7 was the biggest biofilm-former, which may be due to the polystyrene polymer used.

4.3.3.2 Determination of the mic of non-photoactivated compounds

The antifungal activity of curcumin and chlorhexidine was determined using the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum fungicidal concentration (MFC). The MIC results were obtained by visually reading the lowest concentration capable of inhibiting yeast growth in the microplate, while the MFC results were obtained by recovering viable yeasts after seeding the broth from the wells without detectable turbidity, as described in the methodology.

The yeasts were sensitive to chlorhexidine with MICs between 5.94 and 23.74 μM . The fungicidal activity of chlorhexidine was between 5.94 and 94.97 μM , *C. krusei* Ck8 was the most sensitive yeast, while *C. krusei* Ck7 and *C. krusei* Ck12 were the most resistant. Chlorhexidine was active against biofilm formation and all yeasts were sensitive, with MBIC₅₀ ranging from 3.71 to 14.84 μM (Table 1).

Table 1. Fungistatic (MIC), fungicidal (MFC) and biofilm inhibitory (MBIC₅₀) activities of chlorhexidine.

Yeasts	Chlorhexidine (μM)		
	MIC	MFC	MBIC ₅₀
<i>C. albicans</i> Ca2	11.87	11.87	7.42
<i>C. albicans</i> Ca4	11.87	11.87	7.42
<i>C. krusei</i> Ck7	23.74	94.97	14.84
<i>C. krusei</i> Ck8	5.94	5.94	3.71
<i>C. krusei</i> Ck11	11.87	94.97	3.71
<i>C. krusei</i> Ck12	23.74	94.97	3.71
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	11.87	11.87	3.71

Captions: MIC = Minimum Inhibitory Concentration, MFC = Minimum Fungicidal Concentration, and MBIC₅₀ = Minimum Biofilm Formation Inhibitory Concentration.

In previous studies, chlorhexidine showed variable results against *Candida*. The MIC of chlorhexidine was 4.33 μM (2.19 $\mu\text{g mL}^{-1}$) against *C. albicans* and 2.65 μM (1.34 $\mu\text{g mL}^{-1}$) against *C. krusei*. While MFC was 24.94 μM (12.69 $\mu\text{g mL}^{-1}$) and 6.75 μM (3.41 $\mu\text{g mL}^{-1}$) against *C. albicans* and *C. krusei*, respectively [27]. Chlorhexidine inhibited the growth of *C. albicans* at concentrations of 1.24 to 9.89 μM (0.625 to 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$) and was fungicidal at concentrations of 4.95 to 39.57 μM (2.5 to 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$) [28]. In another study, the inhibitory and fungicidal effect of CHX against *C. albicans* was detected at 154.32 μM (78 $\mu\text{g mL}^{-1}$) [29].

In our study, CHX showed inhibitory and fungicidal activity against *C. albicans* (MIC = MFC = 11.87 μM). The same phenomenon was observed for

C. krusei Ck8 (MIC = MFC = 5.94 μ M), but not for the other isolates, as the fungicidal activity of chlorhexidine was only achieved at higher concentrations than MIC.

Non-photoactivated curcumin did not inhibit the yeasts (MIC > 256 μ M) and even after photoactivation at 20 J/cm², curcumin showed MIC = 256 μ M only against *C. albicans* ATCC 10231 and MFC was not observed at the concentrations tested.

Several studies have evaluated the photodynamic effects of curcumin-mediated aPDT on *Candida albicans*. Results indicate that, while cell viability reduction in planktonic cultures is limited, significant reductions are observed in biofilm assays, particularly at higher curcumin concentrations (e.g., 120 μ M) and extended exposure times. Statistically significant decreases in biofilm viability were consistently noted compared to control groups, highlighting curcumin's potential in reducing *C. albicans* biofilm resilience [30-32].

4.3.3.3 Photoinhibition of biofilm formation by combination of curcumin and chlorhexidine at sub-inhibitory concentrations

Figure 2 shows UV-Vis absorption spectra of curcumin (CUR), chlorhexidine (CHX), and their combination (CUR + CHX). CUR (red line) displays an absorption band between 420-430 nm, corresponding to π - π^* electronic transitions associated with its conjugated diketone structure. In contrast, CHX (black line) exhibits strong absorbance in the ultraviolet region below 300 nm, attributed to its aromatic and heterocyclic functional groups [16]. These spectral features are retained in the combined CUR + CHX spectrum (blue line), indicating the absence of significant electronic interactions between the two compounds. The spectrum of the CUR + CHX mixture (blue line) demonstrates additive features of both components. Specifically, the UV absorption below 300 nm aligns closely with CHX, while the visible region around 420–430 nm remains consistent with the CUR spectrum. The absence of new peaks or significant spectral shifts in the CUR + CHX curve indicates that no major electronic interaction or chemical modification occurred upon mixing.

Therefore, it can be concluded that the combination of curcumin and chlorhexidine does not significantly alter their individual absorption spectra, suggesting that CUR and CHX retain their molecular integrity when co-administered.

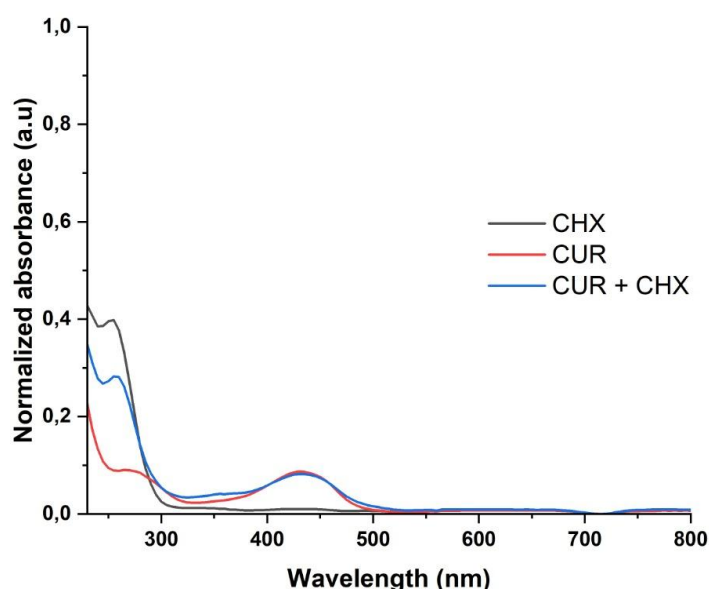


Figure 2. Normalized UV-Vis absorption spectra of curcumin (CUR), chlorhexidine (CHX), and their combination (CUR + CHX).

The activity of the combination of compounds against yeast biofilm formation was evaluated by exposing the isolates to sub-inhibitory concentrations of curcumin and chlorhexidine, both in the presence of absence of photoactivation. Under our experimental conditions, curcumin did not show antimicrobial activity against the yeasts, regardless of photoactivation with MIC and MFC > 256 μM (the highest tested concentration) and also did not inhibit biofilm formation with MBIC₅₀ > 320 μM . Nevertheless, upon photoactivated, curcumin demonstrated modest antibiofilm activity, exhibiting MBIC₅₀ = 80 μM against Ca2 and Ck7, MBIC₅₀ = 160 μM against Ck11 and Ck12, while for Ca4, Ck8 and Ca ATCC MBIC₅₀ = 320 μM (Table 2).

The effect of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) mediated by curcumin as a photosensitizer against *C. albicans* is described as highly variable across studies. Some authors have reported MIC and MFC values as low as 26.6 μM (9.8 $\mu\text{g mL}^{-1}$) [33], while others have shown that curcumin

at 600 μM photoactivated reduced the count of microorganisms associated with biofilms [34]. This heterogeneity is likely attributable to differences in strain virulence, biofilm maturity, light parameters, and experimental models employed. The sub-inhibitory concentration of chlorhexidine (2.97 μM) alone did not significantly inhibit biofilm formation, and the enhanced antifungal effect observed was attributable to the combination with photoactivated curcumin.

However, the combination of chlorhexidine at sub-inhibitory concentrations and curcumin showed variable effects on yeast biofilm formation. Although non-photoactivated curcumin did not act against biofilm formation, in association with chlorhexidine it was able to inhibit biofilm formation in all yeasts, with $\text{MBIC}_{50} = 2.5 \mu\text{M}$ for the most sensitive yeast - *C. albicans* Ca4. The most resistant yeast was *C. albicans* Ca2 with $\text{MBIC}_{50} > 80 \mu\text{M}$ (Table 2).

Table 2. Minimum Biofilm Formation Inhibitory Concentration (MBIC_{50}) of photoactivated curcumin and in association with sub-inhibitory concentrations of chlorhexidine.

Yeasts	CURC (μM)	CHX+CURC (μM)		
	20 J/cm^2	NPA	20 J/cm^2	100 J/cm^2
<i>C. albicans</i> Ca2	80	> 40	20	1.25
<i>C. albicans</i> Ca4	320	2.5	5	0.625
<i>C. krusei</i> Ck7	80	40	40	0.625
<i>C. krusei</i> Ck8	320	5	5	0.625
<i>C. krusei</i> Ck11	160	5	5	0.625
<i>C. krusei</i> Ck12	160	40	5	0.625
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	320	5	5	0.625

Captions: CURC = Curcumin, CHX = Chlorhexidine, and CHX+CURC = Association of $\frac{1}{4}$ MIC chlorhexidine and curcumin photoactivated, NPA = Non-photoactivated

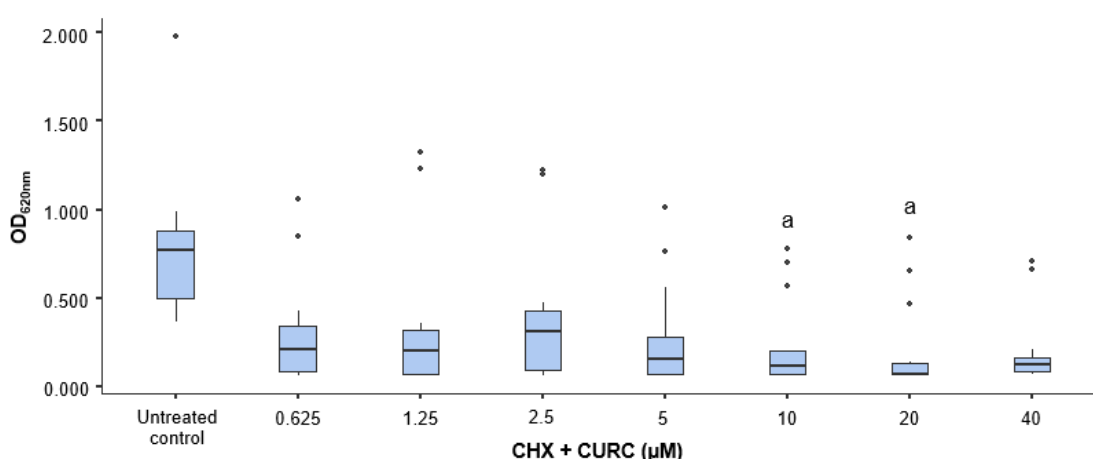
Photoactivation at 20 J/cm^2 did not show an increase when compared to the non-photoactivated combination, except for *C. albicans* 2 and, *C. krusei* Ck12 which were more sensitive. The CHX+CURC combination

photoactivated at 100 J/cm² showed an increased inhibitory activity on biofilm formation of all yeasts, even at the lowest curcumin concentration. On the other hand, the untreated control - UC, which corresponds only to LED exposure (up to 100 J/cm²), did not inhibit biofilm formation.

In comparison to CURC at 20 J/cm², the combination of CHX and CURC demonstrated increased inhibitory activity, as isolates Ca4, Ck8, and *C. albicans* ATCC required a CURC concentration 64 times lower than its MIC. In addition, we observed that at 100 J/cm² the combination of compounds was more effective against biofilm formation using concentrations 2 to 512 times lower than the MIC of CURC.

On the other hand, the antibiofilm activity of the compounds photoactivated at 100 J/cm² was enhanced and significantly ($p \leq 0.022$) inhibited biofilm formation by all yeasts with MBIC₅₀ = 0.625 and MBIC₅₀ = 1.25 μ M for the most resistant yeast - *C. albicans* Ca2. The optical density readings (OD_{620nm}) of the biofilms after treatment with sub-inhibitory concentration of CHX+CURC photoactivated at 100 J/cm² are shown in (Figure 3).

Figure 3. Optical densities of yeast biofilms in the absence and presence of 1/4 MIC chlorhexidine in function of curcumin concentration (0-40 μ M) at 100 J/cm².



Captions: OD_{620nm} = Optical density at 620 nm, UC - Untreated control, CHX+CURC = Association of 1/4 MIC chlorhexidine in function of curcumin concentration (0-40 μ M) at 100 J/cm². The letter "a" indicates that the 10 and

20 μM concentrations were significantly different from the untreated control ($P > 0.05$).

In a previous study, it was found that photodynamic therapy with 40 μM curcumin provided a reduction of approximately $1.5 \log_{10} \text{CFU mL}^{-1}$ in *C. albicans* biofilms due to the production photoactivated of reactive oxygen species (ROS) and modulation of gene expression [35]. Another study showed that the association between methylene blue and CHX at 19.78 μM (10 $\mu\text{g mL}^{-1}$) photosensitized reduced *Candida* spp. by 6 $\log_{10} \text{CFU}$ per 100 μL [36].

Microbial inactivation with photodynamic therapy depends on photochemical reactions and occurs through a set of factors such as photosensitive molecules, light and cellular oxygen. The inhibition process begins with the photosensitizer accumulating in the cells after administration. Soon after, these photosensitized cells are exposed to light with a wavelength that corresponds to their absorption spectrum and two types of reactions occur, producing reactive oxygen species and singlet oxygen, respectively. The combination of photoactivated CUR and CHX enhances antifungal effectiveness through complementary mechanisms. CHX disrupts fungal membranes, while CUR-generated ROS further damages cellular structures, increasing membrane permeability and facilitating CHX penetration. This additive results in greater inhibition of biofilm formation and fungal growth[37]. Moreover, the additive combination observed in our study, achieving biofilm inhibition at extremely low curcumin concentrations after photoactivation, offers a promising platform for the development of novel, minimally invasive therapies targeting *Candida* biofilms.

4.3.4. CONCLUSIONS

Our study demonstrated that, while curcumin alone (in the absence of light) exhibited no activity against *Candida* biofilm formation (in our experimental condition), its photoactivation at 100 J/cm^2 , in combination with chlorhexidine at a sub-inhibitory concentration, significantly reduced biofilm formation by *C. albicans* and *C. krusei* isolates from the oral cavity. The

potential cytotoxicity of the combined curcumin and chlorhexidine treatment on eukaryotic cells should be investigated in future studies to assess its therapeutic index and determine the safety profile for potential clinical applications. The limitations of our study include the use of free curcumin (which has lower bioavailability compared to encapsulated forms), the use of *in vitro* mature biofilms, and the absence of *in vivo* validation. Moreover, these findings lay the groundwork for future translational studies, including *in vivo* models, clinical device development, and trials to validate the effectiveness and safety of the combination therapy.

4.3.5. REFERENCES

1. Katsipoulaki, M.; Stappers, M. H.; Malavia-Jones, D.; Brunke, S.; Hube, B.; Gow, N. A. *Candida albicans* and *Candida glabrata*: global priority pathogens. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, p. e00021-23, 2024.
2. Macias-Paz, I. U.; Pérez-Hernández, S.; Tavera-Tapia, A.; Luna-Arias, J. P.; Guerra-Cárdenas, J. E.; Reyna-Beltrán, E. *Candida albicans* the main opportunistic pathogenic fungus in humans. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 55, n. 2, p. 189-198, 2023.
3. Amorim, C. F.; Iglesias, B. A.; Pinheiro, T. R.; Lacerda, L. E.; Sokolonski, A. R.; Pedreira, B. O.; Moreira, K. S.; Burgo, T. A. L.; Meyer, R.; Azevedo, V.; Portela, R. W. Photodynamic inactivation of different *Candida* species and inhibition of biofilm formation induced by water-soluble porphyrins. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 42, p. 103343, 2023.
4. Fan, F.; Liu, Y.; Liu, Y.; Lv, R.; Sun, W.; Ding, W.; Cai, Y.; Li, W.; Liu, X.; Qu, W. *Candida albicans* biofilms: antifungal resistance, immune evasion, and emerging therapeutic strategies. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 60, n. 5-6, p. 106673, 2022.
5. Karpanen, T. J.; Casey, A. L.; Conway, B. R.; Lambert, P. A.; Elliott, T. S. Antimicrobial activity of a chlorhexidine intravascular catheter site gel

dressing. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 66, n. 8, p. 1777-1784, 2011.

6. Abdel-Sayed, P.; Tornay, D.; Hirt-Burri, N.; Roessingh, A. B.; Raffoul, W.; Applegate, L. A. Implications of chlorhexidine use in burn units for wound healing. **Burns**, v. 46, n. 5, p. 1150-1156, 2020.

7. Chiewchalernsri, C.; Sompornrattanaphan, M.; Wongsas, C.; Thongngarm, T. Chlorhexidine Allergy: Current Challenges and Future Prospects. **Journal of asthma and allergy**, p. 127-133, 2020.

8. Jiang, Q.; Deng, Y.; Li, S.; Yang, D.; Tao, L. Sub-lethal concentrations of chlorhexidine inhibit *Candida albicans* growth by disrupting ROS and metal ion homeostasis. **Journal of Oral Microbiology**, v. 15, n. 1, p. 2278937, 2023.

9. Bouadma, L.; Karpanen, T.; Elliott, T. Chlorhexidine use in adult patients on ICU. **Intensive care medicine**, v. 44, p. 2232-2234, 2018.

10. Llor, C.; Bjerrum, L. Antimicrobial resistance: risk associated with antibiotic overuse and initiatives to reduce the problem. **Therapeutic advances in drug safety**, v. 5, n. 6, p. 229-241, 2014.

11. Worthington, R. J.; Melander, C. Combination approaches to combat multidrug-resistant bacteria. **Trends in biotechnology**, v. 31, n. 3, p. 177-184, 2013.

12. Hu, Y.; Zeng, G.; Wang, Y.; Yang, D. Nanorobots to Treat *Candida albicans* Infection. **Research**, v. 10, p. 0455, 2024.

13. Yang, D.; Tu, Y.; Wang, X.; Cao, C.; Hu, Y.; Shao, J.; Lixing Weng, L.; Mou, X.; Dong, X. A photo-triggered antifungal nanoplatform with efflux pump and heat shock protein reversal activity for enhanced chemo-photothermal synergistic therapy. **Biomaterials Science**, v. 9, n. 9, p. 3293-3299, 2021.

14. Khatoon, Z.; McTiernan, C. D.; Suuronen, E. J.; Mah, T. F.; Alarcon, E. I. Bacterial biofilm formation on implantable devices and approaches to its treatment and prevention. **Heliyon**, v. 4, n. 12, 2018.

15. Fabio, G. B.; Martin, B. A.; Dalmolin, L. F.; Lopez, R. F. V. Antimicrobial photodynamic therapy and the advances impacted by the association with nanoparticles. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 80, p. 104147, 2023.
16. Dias, L. D.; Blanco, K. C.; Mfouo-Tynga, I.; Inada, N. M.; Bagnato, V.S.; Curcumin as a photosensitizer: From molecular structure to recent advances in antimicrobial photodynamic therapy. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 45, p. 100384, 2020.
17. Alves, F.; Stringasci, M. D.; Requena, M. B.; Blanco, K. C.; Dias, L. D.; Corrêa, T. Q.; Bagnato, V. S. Randomized and controlled clinical studies on antibacterial photodynamic therapy: an overview. **Photonics**, 2022. p. 340.
18. Liu, S.; Liu, J.; He, L.; Liu, L.; Cheng, B.; Zhou, F.; Cao, D.; He, Y. A comprehensive review on the benefits and problems of curcumin with respect to human health. **Molecules**, v. 27, n. 14, p. 4400, 2022.
19. Kazantzis, K. T.; Koutsonikoli, K.; Mavroidi, B.; Zachariadis, M.; Alexiou, P.; Pelecanou, M.; Politopoulos, K.; Alexandratou, E.; Sagnou, M. Curcumin derivatives as photosensitizers in photodynamic therapy: photophysical properties and in vitro studies with prostate cancer cells. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 19, p. 193-206, 2020.
20. Barra, F.; Roscetto, E.; Soriano, A. A.; Vollaro, A.; Postiglione, I.; Pierantoni, G. M.; Palumbo, G.; Catania, M. R. Photodynamic and antibiotic therapy in combination to fight biofilms and resistant surface bacterial infections. **International journal of molecular sciences**, v. 16, n. 9, p. 20417-20430, 2015.
21. Kleinovink, J. W.; Driel, P. B. V.; Snoeks, T. J.; Prokopi, N.; Fransen, M. F.; Cruz, L. J.; Mezzanotte, L.; Chan, A.; Löwik, C. W.; Ossendorp, F. Combination of photodynamic therapy and specific immunotherapy efficiently eradicates established tumors. **Clinical Cancer Research**, v. 22, n. 6, p. 1459-1468, 2016.

22. Zayed, S. M.; Aboulwafa, M. M.; Hashem, A. M.; Saleh, S. E. Biofilm formation by *Streptococcus mutans* and its inhibition by green tea extracts. **AMB Express**, v. 11, n. 1, p. 73, 2021.
23. WAYNE, P. A. Clinical and laboratory standards institute: performance standards for antimicrobial susceptibility testing: informational supplement, M100. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**, 2018.
24. Martínez, A.; Manrique-Moreno, M.; Klaiss-Luna, M.C.; Stashenko, E.; Zafra, G.; Ortiz, C. I. Effect of essential oils on growth inhibition, biofilm formation and membrane integrity of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Antibiotics**, v.10, n.12, p.1474, 2021.
25. Malinovská, Z.; Čonková, E.; Váczi, P. Biofilm formation in medically important *Candida* species. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 10, p. 955, 2023.
26. Jamiu, A. T.; Albertyn, J.; Sebolai, O. M.; Pohl, C. H. Update on *Candida krusei*, a potential multidrug-resistant pathogen. **Medical mycology**, v. 59, n. 1, p. 14-30, 2021.
27. Giuliana, G.; Pizzo, G.; Milici, M. E.; Giangreco, R. In vitro activities of antimicrobial agents against *Candida* species. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 87, n. 1, p. 44-49, 1999.
28. Biernasiuk, A.; Szymańska, J.; Kustra, A.; Korona-Glowniak, I.; Malm, A. In vitro susceptibility of oral *Candida albicans* isolates to chlorhexidine. **Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research**, v. 75, n. 3, 2018.
29. Oncu, A.; Celikten, B.; Aydın, B.; Amasya, G.; Açık, L.; Sevimay, F. S. Comparative evaluation of the antifungal efficacy of sodium hypochlorite, chlorhexidine, and silver nanoparticles against *Candida albicans*. **Microscopy Research and Technique**, v. 85, n. 12, p. 3755-3760, 2022.
30. Hsieh, Y. H.; Zhang, J. H.; Chuang, W. C.; Yu, K. H.; Huang, X. B.; Lee, Y. C.; Lee, C. I. An in vitro study on the effect of combined treatment with photodynamic and chemical therapies on *Candida albicans*. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 2, p. 337, 2018.

31. Quishida, C. C. C.; Mima, E. G. O.; Jorge, J. H.; Vergani, C. E.; Bagnato, V. S.; Pavarina, A. C. Photodynamic inactivation of a multispecies biofilm using curcumin and LED light. **Lasers in Medical Science**, v. 31, p. 997-1009, 2016.
32. Dovigo, L. N.; Pavarina, A. C.; Mima, E. G. O.; Giampaolo, E. T.; Vergani, C. E.; Bagnato, V. S. Fungicidal effect of photodynamic therapy against fluconazole-resistant *Candida albicans* and *Candida glabrata*. **Mycoses**, v. 54, n. 2, p. 123-130, 2011.
33. Comeau, P.; Manso, A. A Systematic Evaluation of Curcumin Concentrations and Blue Light Parameters towards Antimicrobial Photodynamic Therapy against Cariogenic Microorganisms. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 12, p. 2707, 2023.
34. Méndez, D. A. C.; Gutierrez, E.; Dionisio, E. J.; Buzalaf, M. A. R.; Oliveira, R. C.; Machado, M. A. A. M.; Cruvinel, T. Curcumin-mediated antimicrobial photodynamic therapy reduces the viability and vitality of infected dentin caries microcosms. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 24, p. 102-108, 2018.
35. Dias, L. M.; Klein, M. I.; Ferrisse, T. M.; Medeiros, K. S.; Jordão, C. C.; Bellini, A.; Pavarina, A. C. The Effect of Sub-Lethal Successive Applications of Photodynamic Therapy on *Candida albicans* Biofilm Depends on the Photosensitizer. **Journal of Fungi**, v. 9, n. 1, p. 111, 2023.
36. Pérez-Laguna, V.; Barrena-López, Y.; Gilaberte, Y.; Rezusta, A. In Vitro Effect of Photodynamic Therapy with Different Lights and Combined or Uncombined with Chlorhexidine on *Candida* spp. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 8, p. 1176, 2021.
37. Dias, L. D.; Aguiar, A. S.N.; Melo, N. J.; Inada, Borges, L.L.; Aquino, G.L.B.; Camargo, A.J.; Bagnato, V.S.; Napolitano, H.B; Structural basis of antibacterial photodynamic action of curcumin against *S. aureus*. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 43, p. 103654, 2023.

4.4. Artigo 4

Atividade da terapia fotodinâmica antimicrobiana mediada por curcumina contra biofilmes de leveduras do gênero *Candida*

João Salviano Simões Chagas da Silva, Lorena Cristina da Mata, Maria Gabriella Fernandes Ribeiro Eliseu, João Gabriel Ferreira Ribeiro, Lucas Danilo Dias, Plínio Lázaro Faleiro Naves

RESUMO

Biofilmes microbianos são comunidades estruturadas em matrizes poliméricas extracelulares que atuam como barreira protetora, conferindo resistência aos antifúngicos e ao sistema imune o que dificulta o tratamento de infecções em pacientes imunossuprimidos ou em uso de dispositivos médicos. O tratamento antifúngico convencional enfrenta desafios devido à resistência intrínseca das leveduras nos biofilmes e nesse contexto, a terapia fotodinâmica antimicrobiana (*antimicrobial photodynamic therapy* - aPDT) surge como opção promissora com a utilização de fotossensibilizadores como a curcumina para gerar espécies reativas de oxigênio e promover a morte do micro-organismo. Desta forma, o presente estudo avaliou a eficácia fototerapia mediada por curcumina com luz LED a 450 nm para inibir a formação e erradicar biofilmes maduros de *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida metapsilosis* ATCC 96143, *Candida dubliniensis* ATCC MYA-646, *Candida orthopsilosis* ATCC 96141 e *Candida parapsilosis* ATCC 22019. Constatamos que todas as leveduras formaram biofilme e foram classificadas como formadoras fortes, exceto a *C. dubliniensis* que foi classificada como moderada. A aPDT com curcumina inibiu a formação de biofilme por todas as leveduras e os melhores resultados foram observados contra *C. metapsilosis* e *C. parapsilosis* com inibição da formação de biofilme de 86,82% e 83,33%, respectivamente. Contudo, a atividade antibiofilme da aPDT contra os biofilmes maduros foi mais discreta e dependente da levedura, com a maior redução detectada para a *C. parapsilosis* (49,63%) e a menor para a *C. dubliniensis* com apenas 0,64% em relação aos controles não fotoativados. Nossos resultados demonstram que a terapia fotodinâmica antimicrobiana mediada por curcumina e luz LED apresenta potencial como estratégia no combate a biofilmes de *Candida*, especialmente na prevenção de sua formação. Contudo, a eficácia contra biofilmes maduros foi limitada e dependente da espécie. Portanto, nossos achados reforçam a relevância da aPDT como abordagem promissora e evidenciam a importância de novos estudos para aprimorar sua aplicação clínica.

Palavras-chave: Terapia antifúngica. Fototerapia. Anti-biofilme. aPDT

ABSTRACT

Microbial biofilms are communities structured in extracellular polymeric matrices that act as a protective barrier, conferring resistance to antifungals and the immune system, which makes it difficult to treat infections in immunosuppressed patients or those using medical devices. Conventional antifungal treatment faces challenges due to the intrinsic resistance of yeasts in biofilms and in this context, antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) has emerged as a promising option with the use of photosensitizers such as curcumin to generate reactive oxygen species and promote the death of microorganisms. Thus, the present study evaluated the efficacy of curcumin-mediated phototherapy with 450 nm LED light to inhibit the formation and eradicate mature biofilms of *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida metapsilosis* ATCC 96143, *Candida dubliniensis* ATCC MYA-646, *Candida orthopsilosis* ATCC 96141 and *Candida parapsilosis* ATCC 22019. We found that all the yeasts formed biofilm and were classified as strong formers, except for *C. dubliniensis* which was classified as moderate. aPDT with curcumin inhibited biofilm formation by all yeasts and the best results were observed against *C. metapsilosis* and *C. parapsilosis* with inhibition of biofilm formation of 86.82% and 83.33%, respectively. However, the antibiofilm activity of aPDT against mature biofilms was more discreet and yeast-dependent, with the greatest reduction detected for *C. parapsilosis* (49.63%) and the lowest for *C. dubliniensis* with only 0.64% compared to non-photoactivated controls. Our results show that antimicrobial photodynamic therapy mediated by curcumin and LED light has potential as a strategy to combat *Candida* biofilms, especially in preventing their formation. However, efficacy against mature biofilms was limited and species-dependent. Therefore, our findings reinforce the relevance of aPDT as a promising approach and highlight the importance of further studies to improve its clinical application.

Keywords: Antifungal therapy. Phototherapy. Anti-biofilm. aPDT

4.4.1. INTRODUÇÃO

As infecções ocasionadas por fungos patogênicos humanos como a *Candida* representam um importante problema médico, devido a capacidade de disseminação das leveduras para múltiplos órgãos e sistemas do corpo. Adicionalmente, as infecções causadas por *Candida* associadas a biofilmes são recalcitrantes e apresentam resistência aos antifúngicos, o que torna o tratamento particularmente mais difícil e complexo (Kaur; Nobile, 2023).

Os biofilmes são comunidades microbianas organizadas em estruturas tridimensionais complexas formadas por uma única espécie ou por múltiplas espécies em associação. Essas comunidades têm a capacidade de aderir a superfícies biológicas como os tecidos do hospedeiro, ou abióticas como dispositivos médicos. Além disso, são envoltas por uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares (*extracellular polymeric substances* - EPS) composta principalmente por polissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos, e que atua como uma barreira protetora e confere resistência contra agentes antimicrobianos e resposta imune do hospedeiro (Pereira *et al.*, 2021).

O desenvolvimento dos biofilmes ocorre em estágios a partir da adesão das células leveduriformes às superfícies, seguida da proliferação com a transição para hifas e formação de uma rede filamentosa. Depois disso, ocorre a maturação com a produção intensa de EPS e consolidação da estrutura e por fim ocorre a dispersão, que consiste na liberação de células para colonizar outros tecidos ou superfícies, esse processo é crucial para a disseminação microbiana (Xu *et al.*, 2021).

A dispersão de células leveduriformes provenientes de biofilmes apresenta relevância clínica importante, pois essas células podem estabelecer novos focos de colonização para formação de biofilmes novos ou disseminar-se sistemicamente através da circulação sanguínea e tecidos do hospedeiro, potencializando o surgimento de infecções invasivas, como a candidemia. Os dispositivos médicos podem fornecer um nicho perfeito para células fúngicas, devido a sua estrutura e propriedades químicas (Atriwal *et al.*, 2021). Além disso, as características intrínsecas dos biofilmes tornam as

infecções associadas difíceis de tratar, resultando em altas taxas de morbidade e mortalidade, especialmente em pacientes com dispositivos médicos ou imunossuprimidos (Pereira *et al.*, 2021).

O tratamento de infecções sistêmicas como candidíase invasiva ou candidemia, prioriza o uso de equinocandinas como primeira linha e de polienos, como por exemplo anfotericina B, ou triazóis como alternativa. Enquanto que, as infecções locais (orais, vaginais) são tratadas inicialmente com triazóis (fluconazol, voriconazol) ou polienos (Ramage *et al.*, 2023). Contudo, existem apenas algumas classes terapêuticas para o tratamento das infecções fúngicas e a disponibilidade de antifúngicos é limitada (Kaur; Nobile, 2023).

Os casos mais graves podem ser tratados com polienos ou equinocandinas, embora isso seja menos recomendado. Antissépticos são indicados como coadjuvantes em todos os casos. Esses protocolos são gerais e devem ser adaptados conforme a espécie de *Candida* envolvida (Ramage *et al.*, 2023).

Investigações com biofilmes de *C. albicans* demonstram que prevenir sua formação inicial é mais eficaz do que tratar os biofilmes maduros, que são mais resistentes. Uma estratégia alternativa para inibir a formação de biofilmes por *C. albicans* consiste na modificação das propriedades químicas da superfície de biomateriais, e dessa forma prevenir ou reduzir a formação do biofilme (Fan *et al.*, 2022).

Terapias alternativas também vêm sendo avaliadas para combater as infecções ocasionadas por biofilmes fúngicos, como fitoextratos e nanopartículas que podem atuar como transportadores de desreguladores da matriz de EPS (Ali *et al.*, 2023). A quimioterapia antimicrobiana fotodinâmica que combina luz visível com um fotossensibilizador (*photosensitizer* - PS) para produzir espécies reativas de oxigênio (*reactive oxygen species* - ROS) que levam à morte celular, também é investigada contra biofilmes microbianos (Fan *et al.*, 2022).

A terapia fotodinâmica antimicrobiana (*antimicrobial photodynamic therapy* - aPDT) consiste na aplicação de fotossensibilizadores, como por exemplo os tetrapirróis, corantes sintéticos e compostos naturais, que na presença de oxigênio, são ativados por meio da incidência de luz em comprimento de onda específico, para produzir ROS. A produção de ROS ocasiona um estresse oxidativo dentro da célula e também citotoxicidade, o que leva a morte do micro-organismo (Warrier *et al.*, 2021).

A aplicabilidade da aPDT com curcumina tem sido constatada em áreas tão distintas como a odontologia (Carrera *et al.*, 2016), no controle de biofilmes multiespécies (Ravazzi *et al.*, 2023) com auxílio de nanotecnologia e na preservação de alimentos (Pramana *et al.*, 2024).

Tendo em vista, a crescente resistência aos antifúngicos convencionais e os desafios no tratamento de infecções associadas aos biofilmes de *Candida* (Fan *et al.*, 2022; Sharma; Parmanu; Sharma, 2024), o presente estudo propõe investigar o efeito da terapia fotodinâmica antimicrobiana mediada por curcumina na inibição da formação de biofilme e contra biofilmes maduros formados por cepas padrão de leveduras do gênero *Candida*.

4.4.2. METODOLOGIA

4.4.2.1 Micro-organismos avaliados

Foram avaliadas cinco cepas padrão de leveduras do gênero *Candida*: *C. albicans* ATCC 10231, *C. metapsilosis* ATCC 96143, *C. dubliniensis* ATCC MYA-646, *C. orthopsilosis* ATCC 96141 e *C. parapsilosis* ATCC 22019 gentilmente cedidas pelos prof. Evandro Leão Ribeiro do Laboratório de Micologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás.

4.4.2.2 Preparo da curcumina

A solução estoque de curcumina foi obtida com a pesagem de 16,2 mg de curcumina sintética a 98% (PDT Pharma, Brasil) e dissolução em 20 mL de etanol 96° (Itajá, Jalles Machado, Brasil). Para a dissolução completa essa solução foi colocada em banho ultrassônico a 40KHz (Ultronique Q3.8/40A, Indaiatuba, São Paulo) por 3 minutos. A partir da solução estoque, foram preparadas as soluções aquosas de 640 µM e 320 µM para utilização nos ensaios.

4.4.2.3 Formação de biofilme

A formação de biofilme foi determinada com a avaliação da biomassa total das leveduras aderidas aos poços com o método de cristal violeta (Zayed *et al.*, 2021). As leveduras foram reativadas em ágar Sabouraud (FIRSTLAB, MicroMedia, Hungria) e incubadas a 37°C por 72 horas. Posteriormente, colônias típicas foram ressuspensas em 5 mL de solução fisiológica estéril (SFE) e a densidade do inóculo foi ajustada utilizando a escala de 0,5 de MacFarland. Em seguida, 500 µL dos inóculos ajustados foram transferidos para tubos contendo 4.500 µL de caldo *Brain Heart Infusion* com 2% de sacarose (BHIS) (HIMEDIA®, HiMedia Laboratories, Índia). Após a homogeneização dos tubos, 100 µL dos caldos com os inóculos foram transferidos para poços de microplacas de poliestireno de 96 poços de fundo plano (Cralplast, Cral, Brasil) que foram incubadas a 37°C por 48 horas para formação do biofilme.

Após a incubação, as microplacas foram processadas com a remoção do caldo com o crescimento total, lavagem dos poços, fixação dos biofilmes aderidos com etanol 96% (Itajá, Jalles Machado, Brasil), coloração com violeta cristal 0,1% (Newprov, Brasil), remoção do excesso de corante com três lavagens com água destilada na lavadora automática de microplacas Aquari® (MA 615, Brasil) e secagem à temperatura ambiente (TA). Posteriormente, foram adicionados 200 µL de ácido acético glacial a 33% aos poços e após a incubação à TA por 20 min, as densidades ópticas

(DO_{620nm}) foram lidas em espectrofotômetro de microplacas (MultiskanFC, ThermoScientific, China).

A partir das DO_{620nm} obtidas da biomassa total detectada, o biofilme formado pelas leveduras foi classificado como forte, moderado ou fraco conforme a Tabela 1.

Tabela 1. Critérios para a classificação da formação de biofilme das leveduras.

DO _{620nm}	CLASSIFICAÇÃO DA FORMAÇÃO DE BIOFILME
$DO_{LA} < 3 \times DO_{CNI}$	Fraca
$3 \times DO_{CNI} > DO_{LA} < 6 \times DO_{CNI}$	Moderada
$DO_{LA} > 6 \times DO_{CNI}$	Forte

Legenda: DO - Densidade óptica; LA - Leveduras aderidas; CNI - Controle não inoculado.

Fonte: adaptado de Zayed *et al.*, (2021)

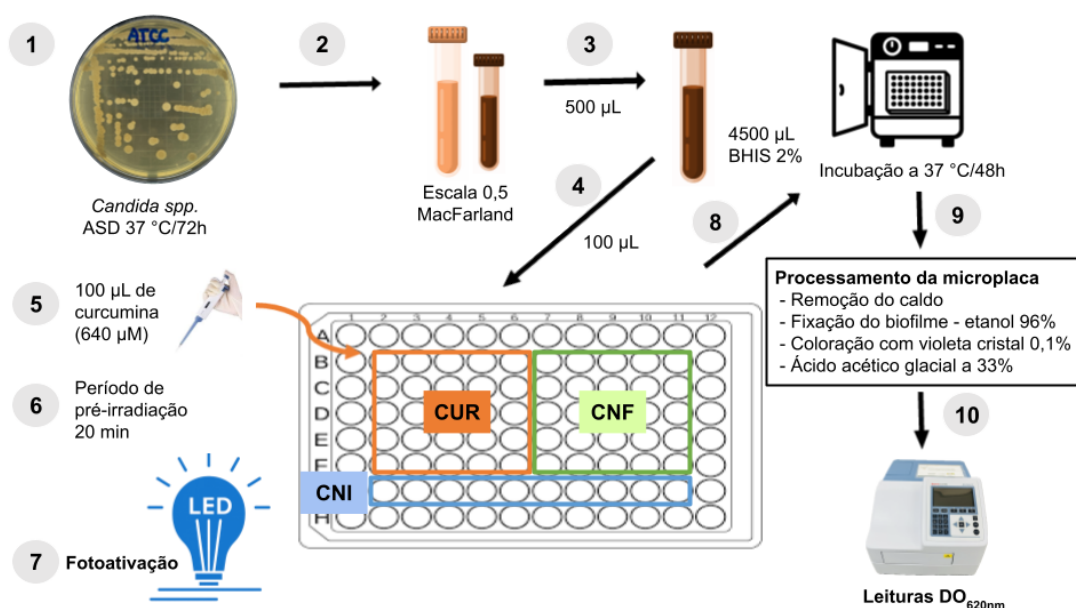
4.4.2.4 Efeito da terapia fotodinâmica na formação do biofilme

O efeito da terapia fotodinâmica mediada por curcumina na formação do biofilme foi avaliado conforme descrito para o estudo de formação de biofilme. Sucintamente, a microplaca foi preparada conforme mencionado anteriormente com a adição de 100 µL dos inóculos ajustados nos poços das colunas de 2 a 11 e nos poços das colunas 2 a 6 foram adicionados mais 100 µL da solução de curcumina para se obter a concentração final de 320 µM e nos poços das demais colunas apenas os inóculos sem curcumina - Controle Não Fotoativado (CNF). As leveduras foram adicionadas nas linhas da microplaca, sendo linha B a *C. albicans* ATCC 10231, linha C a *C. metapsilosis* ATCC 96143, linha D a *C. dubliniensis* ATCC MYA-646, linha E a *C. orthopsilosis* ATCC 96141, linha F a *C. parapsilosis* ATCC 22019 e linha G o Controle Não Inoculado (CNI).

Na sequência a microplaca foi incubada na ausência de luz a TA por 20 minutos (tempo de pré-irradiação), em seguida a microplaca foi iluminada

por 1 hora e 17 minutos (dose de 100 J/cm²) utilizando uma fonte de LED a 450 nm (0,021 mW/cm²) para avaliar o efeito da fotoativação da curcumina na formação do biofilme. Posteriormente, a microplaca foi incubada a 37°C por 48 horas (Figura 1). Após o período de incubação, a microplaca foi processada conforme descrito anteriormente.

Figura 1. Ensaio de avaliação do efeito da terapia fotodinâmica na formação do biofilme



1. Incubação de *Candida* spp. em ágar *Sabouraud* a 37°C por 72 horas. 2. Ajuste da densidade do inóculo com a escala de 0,5 de MacFarland. 3. Transferência de 500 µL dos inóculos ajustados para tubo com 4.500 µL de caldo *Brain Heart Infusion* com 2% de sacarose (BHIS). 4. Transferência de 100 µL do inóculo para os poços da microplaca. 5. Adição de 100 µL de curcumina 640 µM aos poços da microplaca. 6. Incubação à TA por 20 minutos ao abrigo da luz (período de pré-irradiação). 7. Fotoativação da microplaca com luz LED 450 nm. 8. Incubação da microplaca a 37°C por 48 horas. 9. Processamento da microplaca. 10. Leitura das densidades ópticas (DO_{620nm}) no espectrofotômetro.

Legenda: DO_{620nm} - Densidade óptica à 620 nm, CUR - curcumina, CNF - Controle Não Fotoativado, CNI - Controle não inoculado.

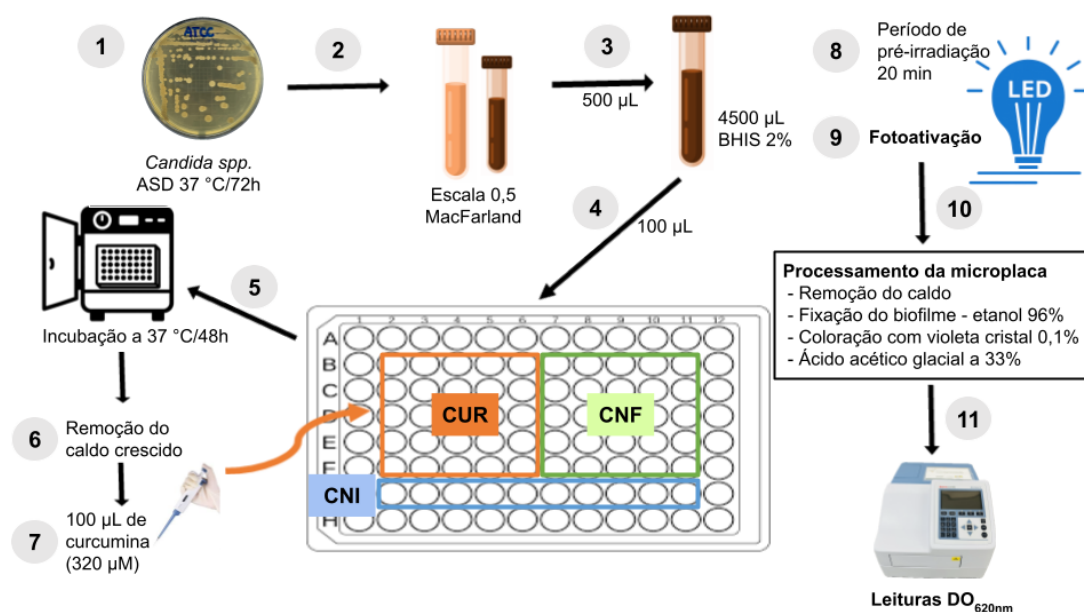
Fonte: Os autores, 2025

4.4.2.5 Efeito da terapia fotodinâmica no biofilme maduro

A atividade da terapia fotodinâmica no biofilme maduro foi avaliada com a exposição de biofilmes pré-formados nas mesmas condições descritas no item 2.3. As microplacas foram preparadas conforme mencionado anteriormente nos ensaios para a formação de biofilme com incubação a 37 °C por 48 horas e após a formação dos biofilmes maduros, as microplacas foram tratadas em condições assépticas com a remoção dos caldos crescidos e adição de 100 µL da solução de curcumina a 320 µM nos poços, conforme descrito no item 2.4.

Seguidamente, as microplacas foram incubadas por 20 minutos (tempo de pré-irradiação) a TA ao abrigo da luz. Após o período de pré-irradiação, a microplaca foi iluminada por 1 hora e 17 minutos (dose 100 J/cm²) utilizando uma fonte de LED a 450 nm (0,021 mW/cm²) para avaliar o impacto da fotoativação mediado por curcumina contra o biofilme maduro (48h) (Figura 2). Após o período de incubação, a microplaca foi processada conforme descrito anteriormente no item 2.3.

Figura 2. Ensaio de avaliação do efeito da terapia fotodinâmica contra o biofilme maduro



1. Incubação de *Candida* spp. em ágar Sabouraud a 37°C por 72 horas; 2. Ajuste da densidade do inóculo com a escala de 0,5 de MacFarland. 3. Transferência de 500 µL dos inóculos ajustados para o tubo com 4.500 µL de caldo *Brain Heart Infusion* com 2% de sacarose (BHIS). 4. Transferência de 100 µL do inóculo para os poços da microplaca. 5. Incubação da microplaca a 37°C por 48 horas. 6. Remoção do caldo crescido após incubação. 7. Adição de 100 µL de curcumina a 340 µM aos poços da microplaca. 8. Incubação à TA por 20 minutos ao abrigo da luz (período de pré-irradiação). 9. Fotoativação da microplaca com luz LED 450 nm. 10. Processamento da microplaca. 11. Leitura das densidades ópticas (DO_{620nm}) no espectrofotômetro.

Legenda: DO_{620nm} - Densidade óptica à 620 nm, CUR - curcumina, CNF - Controle Não Fotoativado, CNI - Controle não inoculado.

Fonte: Os autores, 2025

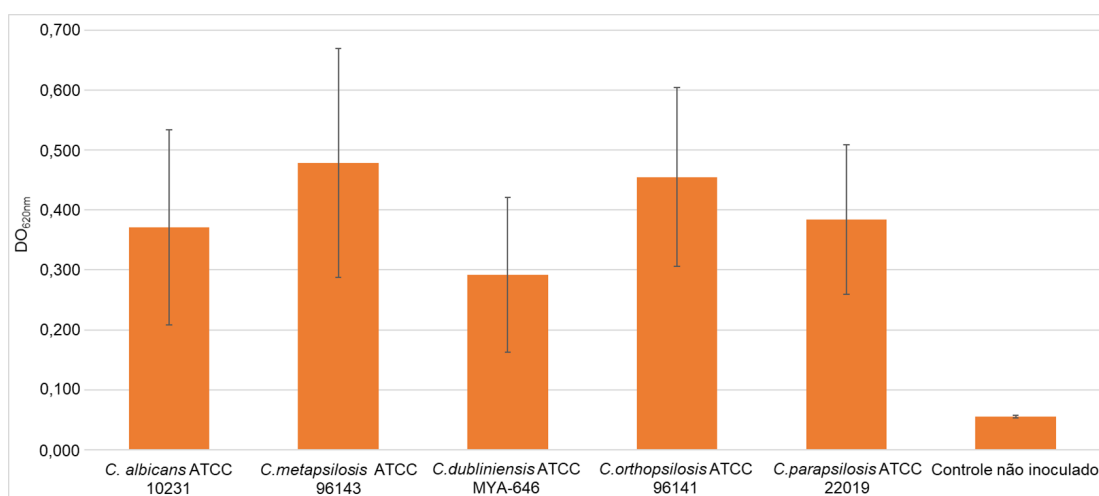
Todos os ensaios foram realizados em triplicatas independentes e os resultados obtidos foram expressos como médias e desvio padrão. Os valores obtidos das DO_{620nm} nos poços fotoativados com curcumina foram comparados aos dos poços não fotoativados e as diferenças foram expressas como porcentagem da inibição de formação de biofilme e de biofilme maduro (atividade antibiofilme).

4.4.3. Resultados e Discussão

4.4.3.1 Determinação da biomassa total método cristal violeta

A formação de biofilme foi avaliada com a determinação da biomassa total pelo método de cristal violeta, o que permitiu a classificação conforme a Figura 3.

Figura 3. Biomassa total (DO_{620nm}) dos biofilmes formados pelas leveduras.



Legenda: DO_{620nm} - Densidade óptica à 620 nm, ATCC - American Type Culture Collection

Fonte: Os autores, 2025

Todas as leveduras avaliadas formaram biofilme, 4 foram classificadas como formadoras fortes, *C. metapsilosis* ATCC 96143 apresentou a maior DO_{620nm} (**0,478 ± 0,191**), enquanto que *C. dubliniensis* ATCC MYA-646 apresentou a menor DO_{620nm} (**0,292 ± 0,129**) e foi a única levedura classificada como formadora moderada de biofilme. As demais leveduras foram classificadas como formadoras fortes, *C. albicans* ATCC 10231 (**0,371 ± 0,163**), *C. orthopsilosis* ATCC 96141 (**0,455 ± 0,149**) e *C. parapsilosis* ATCC 22019 (**0,384 ± 0,125**).

Estudos prévios reportaram diferentes valores de formação de biofilme por *C. albicans*, conforme a origem e o método de avaliação empregado. Um dos estudos relatou DO_{590nm} entre 2,410 e 2,530 para biofilmes de *C. albicans* ATCC 10231 (Peeters; Nelis; Coenye, 2008) com resultados diferentes aos obtidos em nosso estudo (DO_{620nm} = **0,371 ± 0,163**). Contudo, essa discrepância pode estar relacionada às diferenças metodológicas, como o comprimento de onda utilizado ou o protocolo para a coloração com cristal violeta.

Outro estudo analisou amostras clínicas de *C. albicans* e *C. dubliniensis* isoladas de escarro de pacientes com fibrose cística e registrou DO_{570nm} entre 0,280 e 0,640 para *C. albicans* e um valor mais elevado para

C. dubliniensis $DO_{570nm} = 1,780$ (Gourari-Bouzouina *et al.*, 2024). Embora nossos resultados para *C. albicans* estejam dentro dessa faixa, é importante destacar que a comparação direta é limitada devido às diferenças entre os isolados e comprimentos de onda utilizados em cada estudo, além disso, em nosso estudo foram utilizadas cepas padrão ATCC e no outro trabalho não.

C. metapsilosis ATCC 96143, *C. orthopsilosis* ATCC 96141 e *C. parapsilosis* ATCC 22019 foram previamente classificados como de “baixa formação de biofilme” (Thomaz *et al.*, 2018). Em outro trabalho prévio, o biofilme de diferentes espécies de *Candida*, incluindo cepas de *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. orthopsilosis*, *C. metapsilosis* e *C. parapsilosis* ATCC 22019, foi analisado e os micro-organismos apresentaram $DO_{595nm} = 1,761 \pm 0,412$ (Melo *et al.*, 2011). Em nosso estudo, no entanto, as mesmas leveduras foram classificadas como fortes formadoras de biofilme.

A *C. dubliniensis* ATCC MYA-646 apresentou a formação de biofilme com $DO_{620nm} = 0,542 \pm 0,108$ (Alnuaimi *et al.*, 2013). Em nosso estudo, a mesma cepa apresentou $DO_{620nm} = 0,292 \pm 0,129$ e foi classificada como moderada. Essas variações, reforçam a necessidade de padronização de protocolos para quantificação de biofilmes fúngicos, para garantir maior reprodutibilidade entre estudos.

Os biofilmes fúngicos apresentam resistência intrínseca aos antifúngicos convencionais e à resposta imune do hospedeiro, o que torna as infecções relacionadas a biofilmes um grande desafio no âmbito clínico (Fan *et al.*, 2022). Além disso, a resistência aos antifúngicos é complexa e pode ser ocasionada devido a vários fatores e pode ser devida a resposta a um composto ou uma alteração genética irreversível decorrente de exposição prolongada a um antimicrobiano (Ramage *et al.*, 2012).

4.4.3.2 Efeito da terapia fotodinâmica na formação do biofilme

O impacto da terapia fotodinâmica na formação de biofilme foi observado com as diferenças das DO_{620nm} entre os grupos fotoativados e controles não fotoativados (Tabela 2).

Tabela 2. DO_{620nm} do biofilme formado após a fototerapia mediada por curcumina e dos controles não fotoativados

LEVEDURAS	Curcumina (320 µM)		Controles Não Fotoativados		Redução
	MÉDIA	DP	MÉDIA	DP	%
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	0,118	±0,029	0,371	±0,163	68,19
<i>C. metapsilosis</i> ATCC 96143	0,063	±0,009	0,478	±0,191	86,82
<i>C. dubliniensis</i> ATCC MYA-646	0,072	±0,013	0,292	±0,129	75,34
<i>C. orthopsilosis</i> ATCC 96141	0,068	±0,018	0,455	±0,149	85,05
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	0,064	±0,009	0,384	±0,125	83,33
Controle não inoculado	0,056	±0,004	0,055	±0,002	-

Legenda: DP - Desvio Padrão, ATCC - *American Type Culture Collection*. Fonte: Os autores, 2025

A aPDT mediada por curcumina inibiu a formação de biofilme em todas as leveduras analisadas. Os melhores resultados de inibição foram observados para a *C. metapsilosis* ATCC 96143 (86,82%) e *C. parapsilosis* ATCC 22019 (83,33%) em comparação aos grupos controles (CNF). A menor redução da formação de biofilme foi observada na *C. albicans* ATCC 10231 (68,19%), enquanto que *C. dubliniensis* ATCC MYA-646 e *C. orthopsilosis* ATCC 96141 foram inibidas em 75,34% e 85,05% respectivamente.

A inativação completa da viabilidade de leveduras planctônicas pela aPDT mediada por curcumina (20 µM) foi observada após 1 min de pré-irradiação contra *Candida dubliniensis* CBS 7987 e *Candida albicans* ATCC 90028 com a curcumina preparada com 10% de dimetilsulfóxido (DMSO) e dispositivo LED com 22,0 mW/cm² de intensidade luminosa e comprimento de onda de 455 nm (Andrade *et al.*, 2013). Em nosso estudo, além de leveduras diferentes, utilizamos um dispositivo de LED com intensidade luminosa menor (0,021 mW/cm²) e comprimento de onda de 450 nm. Portanto, a variabilidade entre os parâmetros pode explicar as diferenças observadas entre os trabalhos.

A curcuma demonstrou atividade antifúngica contra isolados clínicos de *C. albicans* e *C. parapsilosis*, com Concentração Mínima Inibitória (CMI) de 32 e 64 µg/mL, respectivamente (Tsao; Yin, 2000). Apesar desses resultados demonstrarem o potencial antifúngico da curcuma, é importante destacar que o estudo em questão avaliou o efeito da curcuma contra leveduras planctônicas, seguindo o protocolo conforme descrito no documento M27-A do NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*), sem investigar o efeito da curcuma com estímulos adicionais, como a fotoativação com luz LED.

4.4.3.3 Efeito da terapia fotodinâmica nos biofilmes maduros

O efeito da aPDT mediada por curcuma contra biofilmes leveduriformes maduros foi observado com a comparação entre as DO_{620nm} dos grupos fotoativados e não fotoativados (Tabela 3).

Tabela 3. DO_{620nm} dos biofilmes maduros após fototerapia mediada por curcuma e dos controles não fotoativados

LEVEDURAS	Curcuma (320 µM)		Controles Não Fotoativados		Redução
	MÉDIA	DP	MÉDIA	DP	%
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	0,270	±0,045	0,332	±0,063	18,67
<i>C. metapsilosis</i> ATCC 96143	0,681	±0,147	0,707	±0,103	3,68
<i>C. dubliniensis</i> ATCC MYA-646	0,617	±0,105	0,621	±0,167	0,64
<i>C. orthopsilosis</i> ATCC 96141	0,495	±0,093	0,581	±0,133	14,80
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	0,275	±0,065	0,546	±0,141	49,63
Controle não inoculado	0,058	±0,003	0,057	±0,003	-

Legenda: DP - Desvio Padrão, ATCC - *American Type Culture Collection*. Fonte: Os autores, 2025

A fototerapia mediada por curcuma diminuiu as leituras de DO dos biofilmes maduros de maneira dependente considerando cada levedura avaliada. A maior redução foi observada para a *C. parapsilosis* ATCC 22019 com 49,63% de inibição em relação ao grupo controle não fotoativado

(CNF). Entretanto, a *C. dubliniensis* ATCC MYA-646 apresentou a menor redução com apenas 0,64% de inibição. As demais leveduras tiveram os seguintes percentuais de redução, *C. albicans* ATCC 10231 (18,67%), *C. metapsilosis* ATCC 96143 (3,68%) e *C. orthopsilosis* ATCC 96141 (14,80%).

Em um estudo prévio, a curcumina fotoativada com laser a 460nm foi ativa contra *C. albicans* ATCC 10231 e reduziu a contagem de leveduras viáveis em 95% (Daliri *et al.*, 2019). Esse resultado reforça o potencial antifúngico da aPDT mediada por curcumina, o que corrobora com os achados do presente estudo, no qual a terapia fotodinâmica promoveu uma redução de 18,67% em biofilmes maduros de *C. albicans*.

Biofilmes formados por isolados clínicos de *C. albicans* da cavidade oral de pacientes com HIV (CCA1) e líquen plano oral (CCA2) e a cepa ATCC 90028 foram irradiados por um dispositivo diodo emissor de luz (LED) com intensidade da luz emitida de 22,0 mW/cm², sob o comprimento de onda de 455 nm por 6 minutos. Após esse período, a atividade metabólica nos biofilmes foi avaliada e constataram a inibição da viabilidade de *C. albicans* ATCC 90028 em 90,87% e de 66,44% e 86,74% para os isolados CCA1 e CCA2, respectivamente (Ma *et al.*, 2019).

Esses achados evidenciam que a aPDT mediada por curcumina possui atividade anti-biofilme considerável. Contudo, a atividade da aPDT que detectamos foi mais discreta, com valores de inibição que não ultrapassaram 50% da biomassa total do biofilme. As diferenças metodológicas entre os estudos, como a intensidade da luz LED, os modelos experimentais de avaliação da fototerapia e as diferentes cepas analisadas podem ter influenciado nos resultados.

Outro estudo prévio que avaliou a eficácia da terapia fotodinâmica antimicrobiana *in vivo* com solução de curcumina (10 mL), preparada com 7,5 mg de curumina, e pulverizada na cavidade oral de pacientes oncológicos com mucosite oral, constatou que após 4 aplicações semanais durante um mês, houve nas últimas avaliações (21 e 30 dias), uma redução na contagem de unidades formadoras de colônias (Andrade *et al.*, 2022).

Esses achados demonstram que a aPDT mediada por curcumina, pode ser uma alternativa promissora para o controle microbiano de leveduras do gênero *Candida*, principalmente no manejo da mucosite oral de pacientes em tratamento oncológico, como foi apresentado nos resultados deste estudo.

4.4.4. CONCLUSÃO

Demonstramos que a terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) mediada por curcumina representa uma estratégia inovadora no combate a formação de biofilmes de *Candida*. Nossos resultados revelam efeito inibitório no desenvolvimento de biofilmes em todas as cepas padrão ATCC testadas, com *C. metapsilosis* e *C. parapsilosis* apresentando a maior suscetibilidade, com inibição de 86,72% e 83,26%, respectivamente.

Outro aspecto interessante elucidado, foi que a eficácia da aPDT contra biofilmes maduros foi significativamente reduzida e com efetividade dependente da espécie, mas que propiciou reduções da biomassa total dos biofilmes inferiores a 50%. Esses achados destacam uma possível limitação crítica: a recalcitrância de biofilmes já estabelecidos, o que está alinhado com a literatura existente sobre os mecanismos de resistência de biofilmes (Fan *et al.*, 2022; Kaur; Nobile, 2023).

Embora o uso de cepas padronizadas ATCC garanta reprodutibilidade, estudos futuros devem incorporar isolados clínicos para aumentar a relevância translacional. Além disso, investigações sobre o papel das substâncias poliméricas extracelulares (EPS) na difusão da curcumina e na penetração de espécies reativas de oxigênio (ROS) poderiam elucidar as barreiras à erradicação de biofilmes. A otimização dos parâmetros da luz (ex.: irradiância e tipo de fonte de luz (LED, laser)), período de incubação pré-irradiação, tipo de diluente ou uso de sistemas de liberação controlada do fotossensibilizador (ex.: carreadores nanoparticulados), pode maximizar os resultados terapêuticos.

Em conclusão, a aPDT à base de curcumina representa uma ferramenta promissora contra a formação de biofilmes de *Candida*,

particularmente em contextos associados a dispositivos médicos. No entanto, sua atividade limitada contra biofilmes maduros ressalta a necessidade de terapias adjuvantes ou abordagens combinatórias. Este trabalho contribui para o crescente corpo de evidências que apoiam estratégias fotodinâmicas na pesquisa antifúngica e apela para inovações direcionadas para superar a resiliência dos biofilmes.

4.4.5. AGRADECIMENTOS

Agradecemos à CAPES pela concessão de bolsa para o primeiro autor. À Universidade Estadual de Goiás (UEG) pela bolsa destinada ao segundo autor. Agradecemos a UEG pela concessão de bolsa PBIC para o terceiro autor. Agradecemos ao Professor Dr. Evandro Leão Ribeiro e à empresa Quimilab Comércio e Representações Ltda.

4.4.6. REFERÊNCIAS

- Ali, A.; Zahra, A.; Kamthan, M.; Husain, F. M.; Albalawi, T.; Zubair, M.; Alatawy, R.; Abid, M.; Noorani, M. S. Microbial biofilms: applications, clinical consequences, and alternative therapies. **Microorganisms**, v. 11, n. 8, p. 1934, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11081934>
- Alnuaimi, A. D.; O'Brien-Simpson, N. M.; Reynolds, E. C.; McCullough, M. J. Clinical isolates and laboratory reference *Candida* species and strains have varying abilities to form biofilms. **FEMS yeast research**, v. 13, n. 7, p. 689-699, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1111/1567-1364.12068>
- Andrade, M. C.; Ribeiro, A. P. D.; Dovigo, L. N.; Brunetti, I. L.; Giampaolo, E. T.; Bagnato, V. S.; Pavarina, A. C. Effect of different pre-irradiation times on curcumin-mediated photodynamic therapy against planktonic cultures and biofilms of *Candida* spp. **Archives of oral biology**, v. 58, n. 2, p. 200-210, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2012.10.011>
- Andrade, R. C. D. V.; Reis, T. A.; Rosa, L. P.; Santos, G. P. O.; Silva, F. C. Comparative randomized trial study about the efficacy of photobiomodulation and curcumin antimicrobial photodynamic therapy as a coadjuvant treatment of oral mucositis in oncologic patients: antimicrobial, analgesic, and degree alteration effect. **Supportive Care in Cancer**, v. 30, n. 9, p. 7365-7371, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00520-022-07127-x>
- Atriwal, T. *et al.* Mechanistic understanding of *Candida albicans* biofilm formation and approaches for its inhibition. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 638609, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.638609>

Daliri, F.; Azizi, A.; Goudarzi, M.; Lawaf, S.; Rahimi, A. In vitro comparison of the effect of photodynamic therapy with curcumin and methylene blue on *Candida albicans* colonies. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 26, p. 193-198, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2019.03.017>

Fan, F.; Liu, Y.; Liu, Y.; Lv, R.; Sun, W.; Ding, W.; Cai, Y.; Li, W.; Liu, X.; Qu, W. *Candida albicans* biofilms: antifungal resistance, immune evasion, and emerging therapeutic strategies. **International journal of antimicrobial agents**, v. 60, n. 5-6, p. 106673, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2022.106673>

Gourari-Bouzouina, Karima *et al.* Evaluation of mixed biofilm production by *Candida spp.* and *Staphylococcus aureus* strains co-isolated from cystic fibrosis patients in northwest Algeria. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 109, n. 3, p. 116321, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2024.116321>

Kaur, J.; Nobile, C. J. Antifungal drug-resistance mechanisms in *Candida* biofilms. **Current opinion in microbiology**, v. 71, p. 102237, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2022.102237>

Ma, J.; Shi, H.; Sun, H.; Li, J.; Bai, Y. Antifungal effect of photodynamic therapy mediated by curcumin on *Candida albicans* biofilms in vitro. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 27, p. 280-287, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2019.06.015>

Melo, A. S.; Bizerra, F. C.; Freymüller, E.; Arthington-Skaggs, B. A.; Colombo, A. L. Biofilm production and evaluation of antifungal susceptibility amongst clinical *Candida spp.* isolates, including strains of the *Candida parapsilosis* complex. **Medical mycology**, v. 49, n. 3, p. 253-262, 2011. DOI: <https://doi.org/10.3109/13693786.2010.530032>

Peeters, E.; Nelis, H. J.; Coenye, T. Comparison of multiple methods for quantification of microbial biofilms grown in microtiter plates. **Journal of microbiological methods**, v. 72, n. 2, p. 157-165, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.11.010>

Pereira, R.; Santos F. R. O.; Brito, E. H. S.; Morais, S. M. Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance. **Journal of applied microbiology**, v. 131, n. 1, p. 11-22, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1111/jam.14949>

Pramana, A.; Firmanda, A.; Arnata, I. W.; Sartika, D.; Sari, E. O. Reduction of biofilm and pathogenic microorganisms using curcumin-mediated photodynamic inactivation to prolong food shelf-life. **International Journal of Food Microbiology**, p. 110866, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2024.110866>

Ramage, G.; Borghi, E.; Rodrigues, C. F.; Kean, R.; Williams, C.; Lopez-Ribot, J. Our current clinical understanding of *Candida* biofilms: where are we two decades on?. **APMIS**, v. 131, n. 11, p. 636-653, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1111/apm.13310>

Ramage, G.; Rajendran, R.; Sherry, L.; Williams, C. Fungal biofilm resistance. **International journal of microbiology**, v. 2012, n. 1, p. 528521, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1155/2012/528521>

Ravazzi et al. The effects of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) with nanotechnology-applied curcumin and 450nm blue led irradiation on multi-species biofilms in root canals. **Lasers in Medical Science**, v. 38, n. 1, p. 254, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10103-023-03925-9>

Sharma, K.; Parmanu, P. K.; Sharma, M. Mechanisms of antifungal resistance and developments in alternative strategies to combat *Candida albicans* infection. **Archives of Microbiology**, v. 206, n. 3, p. 95, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03824-1>

Thomaz, D. Y.; Almeida Jr, J. N.; Lima, G. M. E.; Nunes, M. D. O.; Camargo, C. H.; Grenfell, R. D. C.; Benard, G.; Del Negro, G. M. An azole-resistant *Candida parapsilosis* outbreak: clonal persistence in the intensive care unit of a Brazilian teaching hospital. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 2997, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02997>

Tsao, S. M.; Yin, M.C. Enhanced inhibitory effect from interaction of curcumin with amphotericin B or fluconazole against *Candida* species. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 8, n. 3, p. 208-212, 2000. DOI: <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2831>

Warrier, A.; Mazumder, N.; Prabhu, S.; Satyamoorthy, K.; Murali, T. S. Photodynamic therapy to control microbial biofilms. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 33, p. 102090, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.102090>

Xu, Z. *et al.* Regulatory network controls microbial biofilm development, with *Candida albicans* as a representative: from adhesion to dispersal. **Bioengineered**, v. 13, n. 1, p. 253-267, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.1996747>

Zayed, S. M. *et al.* Biofilm formation by *Streptococcus mutans* and its inhibition by green tea extracts. **AMB Express**, v. 11, n. 1, p. 73, 2021.

De acordo com o que foi analisado nesse estudo, concluímos que a terapia fotodinâmica mediada por curcumina, contra biofilmes de *Candida*, pode ser considerada uma alternativa viável em relação aos antimicrobianos tradicionais. Além disso, os estudos evidenciaram que a aPDT mediada por curcumina, tem potencial aplicação contra biofilmes formados em diferentes superfícies.

Ademais, no estudo da fototerapia mediado por curcumina contra biofilmes aderidos em escovas, foi observado que a curcumina fotoativada tem capacidade de reduzir o número de leveduras viáveis associadas ao biofilme tanto na forma planctônica quanto de biofilme. O outro estudo, verificou que a combinação entre a clorexidina e a curcumina fotoativada tem efeito contra a formação de biofilmes de isolados clínicos de leveduras do gênero *Candida*.

Em relação ao estudo sobre a aPDT mediada por curcumina na inibição da formação de biofilme e contra biofilmes maduros de cinco espécies de *Candida* (*C. albicans* ATCC 10231, *C. metapsilosis* ATCC 96143, *C. dubliniensis* ATCC MYA-646, *C. orthopsilosis* ATCC 96141 e *C. parapsilosis* ATCC 22019), evidenciamos que o tratamento tem eficácia, com melhores resultados nos ensaios de inibição da formação de biofilme e contra o biofilme maduro a eficácia foi dependente da espécie.

Portanto, a aPDT mediada por curcumina, pode ser considerada uma terapia promissora aos tratamentos convencionais, para tratar infecções causadas por leveduras do gênero *Candida*, sendo necessários mais estudos voltados para a área da terapia antimicrobiana fotodinâmica com o uso de curcumina como fotossensibilizador.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) mediada por curcumina demonstrou atividade contra biofilmes formados por leveduras do gênero *Candida*. A redução na viabilidade das leveduras associadas aos biofilmes após a aPDT foi dependente da cepa e da concentração de curcumina utilizada. Além disso, o tempo de incubação também foi crítico para a eficácia do tratamento. A aPDT mediada pela curcumina foi eficaz contra biofilmes formados em diferentes superfícies. A modificação nanotecnológica da curcumina associada a aPDT demonstrou eficácia contra biofilmes multiespécies, incluindo de *C. albicans*. Comparada aos tratamentos convencionais, a aPDT mediada pela curcumina mostrou-se mais eficaz, principalmente contra cepas resistentes a antifúngicos. A aplicação de nanotecnologia na formulação de curcumina pode potencializar a eficácia da aPDT.

Em nosso segundo estudo, 40 μ M de curcumina fotoativada proporcionou uma redução potente no número de leveduras viáveis associadas ao biofilme nas escovas. Esses resultados contribuem para auxiliar na busca de técnicas complementares aos antimicrobianos disponíveis. Dentre as limitações, destacamos que ainda há poucos estudos com um desenho experimental semelhante ao nosso e sugerimos que estudos futuros incluam outros micro-organismos.

O terceiro estudo revelou que a curcumina fotoativada a 100 J/cm² e combinada com clorexidina em uma concentração subinibitória, resultaram na redução da formação de biofilme de *C. albicans* e *C. krusei* isoladas da cavidade oral. Isso sugere que a terapia fotodinâmica mediada pela curcumina, em conjunto com a clorexidina, poderia ser uma estratégia promissora contra a formação do biofilme. A combinação de clorexidina e curcumina resultou em um efeito aditivo de cada composto aumentando.

Nesse sentido, a possível citotoxicidade da combinação entre a curcumina e a clorexidina em células eucarióticas deve ser investigada em estudos futuros.

O quarto estudo verificou que a aPDT mediada por curcumina (320 μ M) tem eficácia na inibição da formação de biofilme e contra biofilmes maduros de diferentes espécies de *Candida*, com melhores resultados observados nos ensaios de inibição da formação de biofilme. Contra o biofilme maduro a eficácia foi dependente da espécie.

7. PRODUTOS GERADOS

- **Artigo publicado na revista caderno pedagógico (ISSN 1983-0882):**
- **Título:** Photodynamic activity of curcumin against *Candida* biofilms on toothbrushes
- **DOI:** <https://doi.org/10.54033/cadpedv21n9-340>
- **Qualis CAPES 2017-2020:** A2

- **Participação no evento científico “III Congresso Interdisciplinar de Ciências da Saúde”, com publicação de resumo nos anais do evento, na Revista Movimenta (ISSN 1984-4298):**
- **DOI:** <https://doi.org/10.31668/movimenta.v17i1.15305>
- **Classificação Qualis CAPES (2017-2020):** B3

- **Participação no evento científico Cepe UEG 2024 - X Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG com apresentação de trabalho.**
- **Título:** Associação da clorexidina e curcumina contra *Candida* sp. isoladas da cavidade bucal

- **Participação no evento científico X EEPEX UEG 2024 - Encontro de Ensino, Pesquisa e Extensão do Campus Central (EEPEX) com apresentação de trabalho.**
- **Título:** PERFIL DA FORMAÇÃO DE BIOFILME DE *Streptococcus mutans* ISOLADOS DA CAVIDADE BUCAL EM ESCOVAS DENTAIS

Link do Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/0472372718843334>

Link do ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-3413-6275>

Correia, J. H.; Rodrigues, J. A.; Pimenta, S.; Dong, T.; Yang, Z. Photodynamic therapy review: principles, photosensitizers, applications, and future directions. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 9, p. 1332, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13091332>

Ferrisse, T. M.; Dias, L. M.; de Oliveira, A. B.; Jordão, C. C.; De Oliveira Mima, E. G.; Pavarina, A. C. Efficacy of curcumin-mediated antibacterial photodynamic therapy for oral antisepsis: A systematic review and network meta-analysis of randomized clinical trials. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 39, p. 102876, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2022.102876>.

Joshi, P.; Soares, J. M.; Martins, G. M.; Zucolotto Cocca, L. H.; De Boni, L.; De Oliveira, K. T.; Bagnato, V. S.; Blanco, K. C. Enhancing the efficacy of antimicrobial photodynamic therapy through curcumin modifications. **Photochemistry and Photobiology**, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1111/php.14000>

Pourhajibagher, M.; Bahrami, R.; Bahador, A. Application of photosensitive dental materials as a novel antimicrobial option in dentistry: A literature review. **Journal of dental sciences**, v. 19, n. 2, p. 762-772, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jds.2023.12.019>.

Sun, G.; Huang, S.; Wang, S.; Li, Y. Nanomaterial-based drug-delivery system as an aid to antimicrobial photodynamic therapy in treating oral biofilm. **Future Microbiology**, p. 1-19, 2024. DOI: <https://doi.org/10.2217/fmb-2023-0259>.

Trigo-Gutierrez, J. K.; Vega-Chacón, Y.; Soares, A. B.; Mima, E. G. D. O. Antimicrobial activity of curcumin in nanoformulations: A comprehensive review. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 13, p. 7130, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22137130>

Anexo 1 – Normas de publicação da Revista Caderno Pedagógico

INÍCIO / Submissões

Submissões

O cadastro no sistema e posterior acesso, por meio de login e senha, são obrigatórios para a submissão de trabalhos, bem como para acompanhar o processo editorial em curso. [Acesso](#) em uma conta existente ou [Registrar](#) uma nova conta.

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

- ✓ Os artigos, resenhas e comunicações científicas devem estar vinculados à natureza da publicação e à temática de cada edição.
- ✓ Os artigos devem ter no máximo 20 páginas (incluindo notas de rodapé, anexos e referências), digitadas em fonte Arial, tamanho 12, com espaço entre linhas de um e meio.
- ✓ Os artigos devem respeitar a seguinte estrutura: a) título na língua do texto; b) nome(s) do(s) autor(es) com nota de rodapé informando referências acadêmicas (formação, titulação, instituição) e profissionais (cargo que ocupa); c) resumo na língua do texto; d) palavras-chave na língua do texto; e) título em língua estrangeira; f) resumo em língua estrangeira; g) palavras-chave em língua estrangeira; h) introdução; i) desenvolvimento; j) conclusão; k) referências; l) apêndice(s) (se houver); m) anexo(s) (se houver).
- ✓ Os originais devem ser submetidos em FORMATO EDITÁVEL (.doc, .odt...). Opcionalmente pode-se adicionar uma versão do trabalho em formato fechado (.pdf), na etapa Documentos suplementares. O tamanho máximo por arquivo é 10MB.
- ✓ As referências bibliográficas devem seguir os padrões da ABNT (NBR 6023/2002) e estarem dispostas em ordem alfabética, de acordo com o sistema utilizado para citação no texto (SISTEMA AUTOR-DATA, NBR 10520/2002), no final do trabalho. As notas de rodapé são utilizadas EXCLUSIVAMENTE para notas explicativas, devendo ser numeradas e inseridas na página em que estiverem alocadas.
- ✓ Mais orientações podem ser obtidas no Manual da Univates para trabalhos acadêmicos, disponível em "http://www.univates.br/editora-univates/publicacao/110", essas orientações são baseadas, em sua maioria, nas normas ABNT.
- ✓ Conselho Editorial da Revista reserva-se o direito de aceitar, ou não, os trabalhos enviados, informando ao autor se o artigo será ou não publicado. A publicação não implica em espécie alguma de remuneração.
- ✓ A qualidade da apresentação do trabalho bem como seu conteúdo e originalidade, são responsabilidades exclusivas do(s) autor(es). O(s) autor(es), ao encaminharem os trabalhos, cedem à Univates os respectivos direitos de reprodução e publicação. Os casos omissos serão resolvidos pelos editores científicos do periódico.

Diretrizes para Autores

Revista Caderno Pedagógico tem por objetivo divulgar conhecimentos sobre educação em saúde, prevenção e tratamento, biomedicina, entre outros. Os estudos apresentados deverão desenvolver práticas e reflexões teóricas e metodológicas de pesquisadores, docentes e discentes.

Aqui estão os padrões detalhados para formatação e preparação de submissões originais:

- Os artigos devem ter no máximo de 20 páginas.
- Os idiomas aceitos incluem Português, Inglês ou Espanhol.
- A autoria é limitada a um máximo de 8 autores por artigo.
- O texto deve ser formatado em fonte Arial, tamanho 12, com espaçamento entre linhas de 1,5.

<https://ojs.studiespublicacoes.com.br/ojs/index.php/cadped/about/submissions>

1/4

- Figuras e Tabelas devem ser integradas ao texto, editáveis e apresentadas em fonte tamanho 10. Tanto o conteúdo quanto o título das figuras e tabelas devem estar em fonte tamanho 10, com o título colocado logo acima dos elementos gráficos e o conteúdo abaixo.
- O título do artigo deve ser fornecido em Português, Inglês e Espanhol no início do arquivo, usando fonte tamanho 14.
- Resumos e palavras-chave devem ser incluídos em Português, Inglês e Espanhol, com espaçamento simples, imediatamente abaixo do título.
- As referências devem seguir os padrões estabelecidos pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).
- O arquivo enviado não deve conter nenhuma identificação dos autores.
- - Para baixar o Template para os autores click [aqui](#)

Artigos

Política padrão da seção

Declaração de Direito Autoral

Autores que publicam nesta revista concordam com os seguintes termos:

- a. Autores mantêm os direitos autorais e concedem à revista o direito de primeira publicação, com o trabalho simultaneamente licenciado sob a [Licença Creative Commons Attribution](#) que permite o compartilhamento do trabalho com reconhecimento da autoria e publicação inicial nesta revista.
- b. Autores têm autorização para assumir contratos adicionais separadamente, para distribuição não-exclusiva da versão do trabalho publicada nesta revista (ex.: publicar em repositório institucional ou como capítulo de livro), com reconhecimento de autoria e publicação inicial nesta revista.
- c. Autores têm permissão e são estimulados a publicar e distribuir seu trabalho online (ex.: em repositórios institucionais ou na sua página pessoal) a qualquer ponto antes ou durante o processo editorial, já que isso pode gerar alterações produtivas, bem como aumentar o impacto e a citação do trabalho publicado (Veja [O Efeito do Acesso Livre](#)).

Política de Privacidade

- O conteúdo dos artigos é de responsabilidade exclusiva dos autores.
- A reprodução total ou parcial do conteúdo dos artigos é permitida, desde que seja mencionada a fonte.
- Artigos com plágio serão recusados, e o autor do plágio perderá o direito de publicar nesta revista.
- Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação e não estão disponíveis para outros fins ou para terceiros.
- Uma vez que os artigos são enviados, os autores cedem os direitos autorais de seus artigos ao Caderno Pedagógico. Se você se arrepender do envio, o autor tem o direito de solicitar ao Caderno Pedagógico que não publique seu artigo. No entanto, essa solicitação deve ocorrer até dois meses antes da publicação do número em que o artigo será publicado.
- O Caderno Pedagógico utiliza a licença Creative Commons CC BY. Informações sobre esta licença podem ser encontradas em: <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/br/>.

ENVIAR SUBMISSÃO

PALAVRAS-CHAVE



Anexo 2 – Normas de publicação da Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia

Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia

[Início](#) / [Submissões](#)

Submissões

[Fazer nova submissão](#) ou [ver suas submissões pendentes](#).

Diretrizes para Autores

NORMAS GERAIS

A Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia aceita para publicação trabalhos na forma de artigos originais, artigos de revisão, relatos de casos/relatos de experiência e comunicação breve. O conteúdo dos trabalhos é de total responsabilidade do(s) autor(es), e não reflete necessariamente a opinião do Editor-Chefe, dos Editores de Seção ou dos membros do Conselho Editorial.

A publicação simultânea de manuscritos descrevendo o mesmo trabalho em diferentes periódicos não é aceitável. Os direitos de publicação passam a ser da Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia, portanto é obrigatória a concordância de autorização para publicação e cessão dos direitos autorais.

A Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia manterá em sigilo os nomes dos avaliadores e consultores *ad hoc*, quando se tratar de análises dos trabalhos enviados. Os mesmos irão oferecer pareceres sobre a recusa ou aceitação dos trabalhos, podendo inclusive, sugerir a realização de alterações necessárias para que os mesmos sejam adequados às normas editoriais da revista.

Os trabalhos envolvendo estudos com humanos ou animais deverão ter pareceres institucionais dos Comitês de Ética de Pesquisa em Seres Humanos ou em Animais, autorizando tais estudos. Adicionalmente, a Rev. Interfaces poderá solicitar, quando julgar necessário, documento que comprove a autorização dos indivíduos envolvidos nas pesquisas, mesmo quando o envolvimento humano ocorra de forma indireta.

Os trabalhos que envolverem a utilização de espécies botânicas deverão apresentar identificação oficial realizada por herbários. Para trabalhos envolvendo a utilização de produtos de origem natural, a Rev. Interfaces poderá solicitar o registro no Conselho de Gestão de Patrimônio Genético – SisGen, sempre que julgar necessário.

O artigo deverá ser submetido, exclusivamente, por meio do sistema eletrônico SER.

<https://interfaces.unileao.edu.br/index.php/revista-interfaces/about/submissions>

1/5

TERMO DE RESPONSABILIDADE

O autor que submeter trabalho, utilizando acesso ao sistema da revista por meio de login e senha, assume a total responsabilidade pelo conteúdo do trabalho enviado e automaticamente está declarando que todos os outros autores possuem conhecimento e estão de acordo com a condição de submissão à Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia para avaliação e possível publicação.

O autor, responsável pela submissão eletrônica, também está declarando para todos os efeitos que o mesmo não foi submetido simultaneamente à apreciação por outros periódicos, tratando-se de material inédito. Considera-se ainda que o autor que realiza a submissão é intitulado como o responsável pelo recebimento das mensagens enviadas pelo editor da revista.

ATENÇÃO: A Rev. Interfaces sugere que, antes de enviar o manuscrito, os autores realizem uma avaliação baseado em algumas indagações, cujas respostas positivas procedam em chances de aceitação do trabalho:

1. O seu manuscrito contribui significativamente para o conhecimento na área?
2. As referências bibliográficas são decorrentes de trabalhos científicos divulgados em Periódicos de boa/ótima qualificação e de pelo menos nos últimos 5 anos?
3. O seu manuscrito está atendendo criteriosamente as normas de formatação da Revista?
4. Você reconhece que seu manuscrito está classificado de acordo as modalidades adotadas pela Revista, como: artigo original, artigo de revisão, resumo expandido, carta ou relato de caso e comunicação breve?
5. A metodologia descrita está coerente de modo que seu artigo possa ser bem compreendido?
6. Os objetivos e conclusões estão descritos com clareza?
7. Atentou para a qualidade da redação do manuscrito?
8. As Tabelas e ilustrações (Figuras, fluxogramas, gráficos, etc) estão bem resolvidas e organizadas?

NORMAS PARA FORMATAÇÃO

Os manuscritos deverão ser acompanhados de uma carta de submissão, cujo texto deverá ser inserido no espaço "Comentários para o Editor", ou como documento suplementar.

Os manuscritos deverão ser apresentados de acordo com as normas da revista e em formato compatível ao Microsoft Word, Open Office ou RTF (desde que não ultrapasse os 2MB) **entre 12 e no máximo 20 páginas**, digitados para papel tamanho A4, com fonte Times New Roman, tamanho

12, com espaçamento duplo entre linhas em todo o texto, margem superior e esquerda igual a 3 cm, inferior e direita igual a 2 cm; parágrafos alinhados em 1,5 cm.

Observação: a comunicação breve devem ter, excepcionalmente, entre 05 e 08 páginas e incluir até 02 figuras e/ou tabelas. A formatação deve seguir o estilo geral para manuscritos descrito com mais detalhes logo abaixo.

Os metadados devem ser completamente preenchidos, incluindo endereço completo e detalhado da instituição de todos os autores e e-mail. A Rev. Interfaces recomenda que os autores adicionem os respectivos números ORCID. O cadastro pode ser feito em orcid.org/register

O manuscrito deverá apresentar a seguinte estrutura:

Título: centralizado, caixa alta, negrito e Times New Roman 14. Logo abaixo deverá apresentar o título correspondente em língua inglesa, no mesmo formato.

Resumo e Abstract: deverão ser apresentados na primeira página do manuscrito, digitados em espaço duplo, com até 250 palavras, contemplando aspectos dos itens Introdução, Objetivos, Métodos, Resultados e Conclusões (sem necessitar destacar os títulos dos índices). Logo abaixo destacar 3 palavras-chaves (Keywords), separadas por ponto e vírgula (;). As palavras-chaves deverão ser distintas do título do manuscrito.

O resumo deve ser conciso, informativo e completo, evitando expressões redundantes. Para manuscritos em português ou espanhol, é necessário apresentar versão para o inglês (abstract).

Autores e Afiliações: não deverá conter informações sobre nomes de autores e afiliação. Os autores devem assegurar que estas informações foram excluídas do arquivo submetido. Para isso, além de retirar as informações do texto, também é necessário remover autorias do documento: para arquivos do tipo Microsoft Office, a identificação do autor deve ser removida das propriedades do documento (menu Arquivo > Propriedades), iniciando em Arquivo, no menu principal, clique em: Arquivo > Salvar como... > Ferramentas (para arquivos do tipo Mac) > Opções de segurança... > Remover informações pessoais do arquivo ao salvar > OK > Salvar

Manuscritos contendo informações de autoria não serão considerados para avaliação.

Estrutura do Texto: deverá contemplar os seguintes tópicos: introdução, metodologia/material e métodos, resultados/discussão (podendo ser separado ou em conjunto), conclusão, agradecimentos, referências, figuras, tabelas e as respectivas legendas. Todo o texto deverá estar na forma justificada.

Referências: deverão ser apresentadas na ordem alfabética, de acordo com o estilo Autor, data. Nas publicações com até cinco autores, citam-se todos; acima desse número, cita-se o primeiro seguido da expressão et alii (abreviada et al.). O D.O.I. deve ser inserido sempre que possível.

As páginas deverão ser numeradas no canto superior direito a partir da **Introdução** até as **Referências**. **Também é necessário que o número de linhas esteja indicado em todo o manuscrito, de forma contínua.**

Tabelas e ilustrações deverão ser inseridas ao longo do manuscrito, logo após citadas no texto. Não serão aceitos manuscritos que apresentem tabelas e ilustrações em páginas separadas ou fora do texto.

Ilustrações (figuras e esquemas) devem estar no formato tif e apresentar resolução de 300 dpi. Após a aprovação, os autores serão convidados a ajustar o layout final do manuscrito conforme orientado pelo editor.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.

[Enviar Submissão](#)

Idioma

[English](#)

[Português \(Brasil\)](#)

Informações

[Para Autores](#)

[Open Journal Systems](#)

Navegar

APÊNDICES

Apêndice 1 – Artigo Publicado na Revista Caderno Pedagógico intitulado: Photodynamic activity of curcumin against Candida biofilms on toothbrushes

Autores: João Salviano Simões Chagas da Silva, Maria José Barbaresco, Maria Gabriella Fernandes Ribeiro Eliseu, Reuber Mendes Rocha, Alliny das Graças Amaral, Lucas Danilo Dias, Plínio Lázaro Faleiro Naves

DOI: <https://doi.org/10.54033/cadpedv21n9-340>

Qualis CAPES 2017-2020: A2

Photodynamic activity of curcumin against *Candida* biofilms on toothbrushes

Atividade fotodinâmica da curcumina contra biofilmes de *Candida* em escovas dentais

Actividad fotodinámica de la curcumina contra biopelículas de *Candida* en cepillos de dientes

DOI: 10.54033/cadpedv21n9-340

Originals received: 08/23/2024

Acceptance for publication: 09/13/2024

João Salviano Simões Chagas da Silva

Master's student in Applied Sciences for Health Products
Institution: Universidade Estadual de Goiás (UEG)
Address: Anápolis, Goiás, Brazil
E-mail: joaosalviano14@gmail.com

Maria José Barbaresco

Master's student in Applied Sciences for Health Products
Institution: Universidade Estadual de Goiás (UEG)
Address: Anápolis, Goiás, Brazil
E-mail: mariajbarbaresco@gmail.com

Maria Gabriella Fernandes Ribeiro Eliseu

Pharmacy student
Institution: Universidade Estadual de Goiás (UEG)
Address: Anápolis, Goiás, Brazil
E-mail: maria.eliseu@aluno.ueg.br

Reuber Mendes Rocha

Phd student in Odontology
Institution: Universidade Federal de Goiás (UFG)
Address: Goiânia, Goiás, Brazil
E-mail: reuber.mr@gmail.com

Alliny das Graças Amaral

PhD in Animal Science
Institution: Universidade Estadual de Goiás (UEG)
Address: Anápolis, Goiás, Brazil
E-mail: alliny.amaral@ueg.br

Lucas Danilo Dias

PhD in Chemistry

Institution: Universidade Evangélica de Goiás (UNIEVANGÉLICA)

Address: Anápolis, Goiás, Brazil

E-mail: lucasdanilodias@gmail.com

Plínio Lázaro Faleiro Naves

PhD in Microbiology and Parasitology

Institution: Universidade Estadual de Goiás (UEG)

Address: Anápolis, Goiás, Brazil

E-mail: plinionaves@ueg.br

ABSTRACT

Oral hygiene is necessary for maintaining human health, and regular brushing is recommended to control oral microbial biofilm. Toothbrushes are manufactured free of microorganisms, but after the first use they become contaminated and can represent a potential source of cross-contamination. Regular replacement or decontamination of toothbrushes is recommended. In this context, antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) is a technology based on the production of reactive oxygen species, when light-absorbing compounds (photosensitizers) react with light and oxygen. The products of these reactions have antimicrobial activity and are used in dentistry to control microbial biofilms. Take into account, this study evaluated the activity of curcumin photoactivated with 450nm LED light against *Candida krusei* Ck7 and *Candida albicans* ATCC 10231 biofilms adhered to toothbrushes. Curcumin without photoactivation reduced the number of viable cells by 77.5% and 91.73%, respectively. Photoactivated curcumin reduced the biofilm of *C. krusei* Ck7 by 97.94% and *C. albicans* by 98.8%. Therefore, photoactivated curcumin provided a powerful reduction in the number of viable yeasts associated with the biofilm and may represent a promising complementary technique to conventional antimicrobial agents.

Keywords: Phototherapy. Antimicrobial Activity. Yeasts. Blue LED Light.

RESUMO

A higienização bucal é necessária para a manutenção da saúde humana e a escovação regular é recomendada para o controle do biofilme microbiano oral. As escovas dentais são fabricadas livres de micro-organismos, mas após o primeiro uso são contaminadas e podem representar uma fonte potencial de contaminação cruzada. Dessa forma, a troca regular das escovas dentais ou sua descontaminação é recomendada. Neste contexto, a terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) é uma tecnologia baseada na produção de espécies reativas de oxigênio, quando compostos absorvedores de luz (fotossensibilizadores) reagem com a luz e o oxigênio. Os produtos dessas reações possuem atividade antimicrobiana e na odontologia são utilizados no controle de biofilmes microbianos. Diante do exposto, o presente estudo avaliou a atividade da curcumina fotoativada com luz LED 450 nm contra biofilmes de

Candida krusei Ck7 e *Candida albicans* ATCC 10231 aderidos em escovas dentais. A curcumina sem fotoativação reduziu o número de células viáveis em 77,5 % e 91,73 %, respectivamente. A curcumina fotoativada reduziu o biofilme de *C. krusei* Ck7 em 97,94 % e de *C. albicans* em 98,8 %. Portanto, a curcumina fotoativada proporcionou uma potente redução do número de leveduras viáveis associadas ao biofilme e pode representar uma técnica promissora complementar aos agentes antimicrobianos convencionais.

Palavras-chave: Fototerapia. Atividade Antimicrobiana. Leveduras. Luz LED Azul.

RESUMEN

La higiene bucal es necesaria para mantener la salud humana y se recomienda un cepillado regular para controlar el biofilm microbiano bucal. Los cepillos de dientes se fabrican libres de microorganismos, pero tras el primer uso se contaminan y pueden representar una fuente potencial de contaminación cruzada. Se recomienda sustituir o descontaminar periódicamente los cepillos de dientes. En este contexto, la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT) es una tecnología basada en la producción de especies reactivas de oxígeno, cuando los compuestos que absorben la luz (fotosensibilizadores) reaccionan con la luz y el oxígeno. Los productos de estas reacciones tienen actividad antimicrobiana y se utilizan en odontología para controlar las biopelículas microbianas. Teniendo esto en cuenta, el presente estudio evaluó la actividad de la curcumina fotoactivada con luz LED de 450nm frente a las biopelículas de *Candida krusei* Ck7 y *Candida albicans* ATCC 10231 adheridas a cepillos de dientes. La curcumina sin fotoactivar redujo el número de células viables en un 77,5% y un 91,73%, respectivamente. La curcumina fotoactivada redujo la biopelícula de *C. krusei* Ck7 en un 97,94% y la de *C. albicans* en un 98,8%. Por tanto, la curcumina fotoactivada proporcionó una potente reducción del número de levaduras viables asociadas a la biopelícula y puede representar una potencial técnica complementaria a los agentes antimicrobianos convencionales.

Palabras clave: Fototerapia. Atividade Antimicrobiana. Levaduras. Luz LED Azul.

1 INTRODUCTION

A diverse oral microbiota is essential for maintaining oral and systemic health. Communities of bacteria, fungi and viruses that reside in different niches of the oral cavity normally make up and participate in homeostasis, however the use of antiseptics can result in an imbalance in the microbiome, making it dysbiotic and less diverse (Brokes *et al.*, 2020).

Oral hygiene is necessary for maintaining human health, as the formation of microbial biofilm in this anatomical site can cause or aggravate periodontal diseases, caries and different infections by various microbial species, including *Candida* (Menezes *et al.*, 2020).

Although toothbrushes are the most commonly used oral hygiene devices in the world, there is still no consensus on the effectiveness of different brushing techniques. A recent systematic review with meta-analysis found no evidence to support these recommendations, considering the evidence limited and that more research is needed to attest to the effectiveness of brushing (Deinze *et al.*, 2024).

In addition, another study reinforces that conventional brushing may be insufficient for oral hygiene, and it is necessary to complement oral hygiene with dental floss and oral irrigators (Al-Moharib *et al.*, 2024).

Toothbrushes are manufactured free of microorganisms, but after the first use they are contaminated by the microbiota present in the oral cavity or in the external environment and can represent a potential source of cross-contamination for the user (Álvarez *et al.*, 2023; Chellappa *et al.*, 2021).

Thus, the toothbrush is contaminated after the first use and with continued use the level of contamination increases. Factors such as humidity in the storage area, the use of a plastic cap, the shape of the toothbrush and the type of bristles tend to increase contamination (Khan *et al.*, 2023).

Although in dentistry it is emphasized that brushes should be stored correctly, disinfected and changed at regular intervals, there are few articles on the disinfection of brushes (Chellappa *et al.*, 2021).

In a previous study, all the toothbrushes analyzed were contaminated with different microorganisms when used for a month. Conventional antiseptics were evaluated to decontaminate the brushes and the most effective was chloroxylenol, followed by Listerine® and chlorhexidine. The authors also concluded that rinsing with tap water was ineffective (Pradeep *et al.*, 2022).

The inappropriate use of antimicrobials leads to the selection and emergence of drug-resistant microorganisms. Photodynamic therapy (PDT) is an alternative approach with satisfactory results in microbiological tests, and is based on the production of reactive oxygen species when light-absorbing

compounds react with light and oxygen. When this technique is used to eradicate microorganisms, it is called antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) (Khatoun *et al.*, 2018).

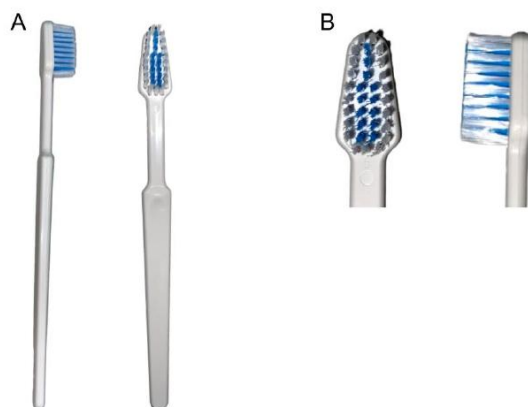
Photodynamic therapy technology is used in dentistry mainly in research into the treatment of dental plaque-related diseases, but can be used to combat biofilm-related infections on implants, such as joint prosthesis infections and ventilator-associated pneumonia (Li *et al.*, 2021).

In this context, and due to the need to develop new antimicrobial agents and/or technologies capable of overcoming the challenges caused by fungal infections, this study aims to evaluate the effect of antimicrobial photodynamic therapy mediated by curcumin as a photosensitizer on the formation of biofilms of the yeasts *Candida albicans* and *Candida krusei* on toothbrushes.

2 METHODOLOGY

The tests were carried out by inoculating the standard yeast *Candida albicans* 10231 and the clinical isolate *Candida krusei* Ck7, that belong to the microorganism collection of the Bioassay Laboratory of the Research and Postgraduate Center of the State University of Goiás, onto previously sterilized disposable toothbrushes with a size of 167 mm, a 12 mm head, 34 tufts and 747 white and 444 blue bristles, totaling 1191 nylon bristles (Figure 1).

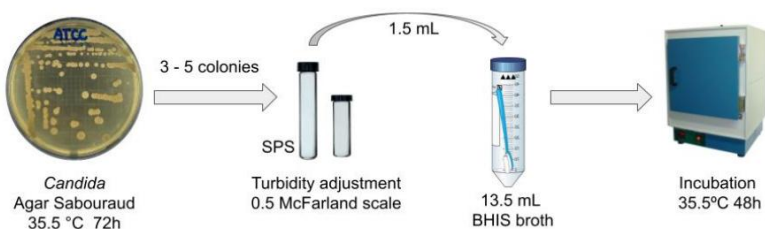
Figure 1. Toothbrushes used in the study A. General appearance and B. Detail of head and bristles



Source: The authors

Yeast colonies grown on Sabouraud agar (FIRSTLAB, MicroMedia, Hungary) at 35.5 °C for 72 hours were resuspended in sterile physiological solution (SPS) and the turbidity adjusted using the 0.5 MacFarland scale. Subsequently, 1.5 mL of the suspensions were transferred to Falcon tubes containing the toothbrush and 13.5 mL of Brain Heart Infusion broth plus 2% sucrose (BHIS) (HIMEDIA®, HiMedia Laboratories, India) and then the tubes were incubated at 35.5 °C for 48 h for the biofilms to develop (Figure 2).

Figure 2. Test for the formation of *Candida* biofilm on toothbrushes



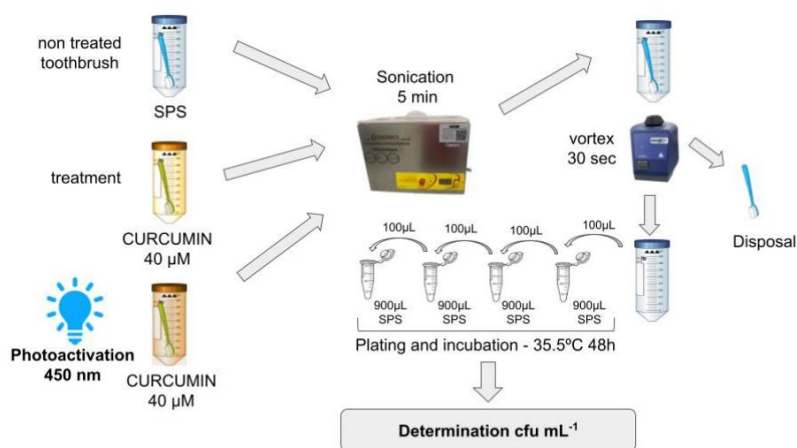
Legends: SPS - sterile physiological solution, BHIS - Brain Heart Infusion broth plus 2% sucrose.

Source: The authors

After incubation, the toothbrush was transferred to another Falcon tube with 15 mL of SPS to remove the planktonic yeasts and then placed in another Falcon tube with 15 mL of SPS for sonication in an ultrasonic bath (Ultronique Q3.8/40A, Indaiatuba, São Paulo) for 5 minutes at room temperature and vortexed for 30 seconds to detach the cells associated with the biofilm.

Afterward, the toothbrush was discarded and the SPS was diluted and plated for microbial counting and calculation of cfu mL^{-1} . The procedures were carried out to determine the number of viable yeasts at the start of the experiments, on untreated toothbrushes (viability control) and on toothbrushes treated with 40 μM curcumin solution, not photoactivated and photoactivated at 450 nm with LED light (Figure 3).

Figure 3. Processing the biofilms adhered to the toothbrushes



Legends: SPS - sterile physiological solution
Source: The authors

The same process was carried out on inoculated toothbrushes to determine the initial yeast inoculum before biofilm formation. All tests were carried out in independent triplicates to calculate means and standard deviations.

3 RESULTS AND DISCUSSION

The results of the counts of viable yeasts adhered to the brushes under the conditions evaluated are shown in Figure 4.

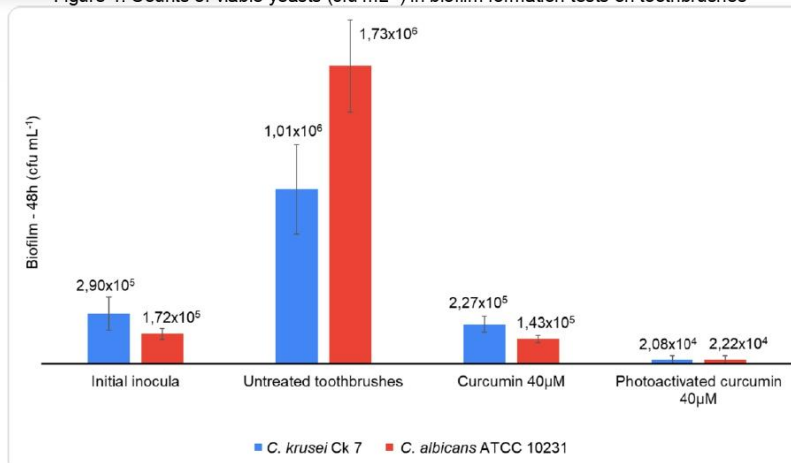
Both yeasts were capable of forming biofilms, with counts of 1.01×10^6 cfu mL⁻¹ for *C. krusei* Ck7 and 1.73×10^6 cfu mL⁻¹ for *C. albicans* ATCC 10231. The count of viable yeasts used as the initial inoculum in the biofilm formation tests was determined as 2.9×10^5 cfu mL⁻¹ for *Candida krusei* Ck7 and 1.72×10^5 cfu mL⁻¹ for *Candida albicans* ATCC 10231.

Yeasts form complex and resistant biofilms on the surface of dental materials and are the main etiological factor in protein stomatitis, which results in damage to the oral mucosa. Even so, there is no consensus in the literature on the most appropriate method for preventing or combating biofilms on the surface of these materials (Moraes *et al.*, 2021).

Several studies have shown that the environment within a fungal biofilm, including the morphological variation within this structure (yeasts, pseudohyphae and hyphae), confers advantages over free-living planktonic growth (PONDE *et al.*, 2021).

Toothbrushes treated with non-photoactivated 40 µM curcumin showed a 77.5 % reduction in the number of viable cells of *C. krusei* Ck7 and a 91.73 % reduction in *C. albicans* ATCC 10231. The reduction in yeasts associated with the biofilm was greater in the brushes treated with curcumin photoactivated with LED, reaching 97.94 % for *C. krusei* Ck7 and 98.8 % for *C. albicans* compared to the untreated brushes (control group).

Figure 4. Counts of viable yeasts (cfu mL⁻¹) in biofilm formation tests on toothbrushes



Legends: *C. albicans* - *Candida albicans*, Ck - *Candida krusei*, ATCC - American Type Culture Collection.

Source: The authors

The results of the treatment with curcumin showed that there was a significant reduction in the viability of the yeasts compared to the untreated brushes. Furthermore, curcumin photoactivated with LED light was even more effective against the yeasts tested, reducing the count of the number of viable cells associated with the biofilm by around two Logs.

A comparison of the treatments with curcumin and photoactivated curcumin showed that candidicidal activity was enhanced by activating the compound with 450 nm LED light. When compared to the group treated with curcumin alone, photodynamic therapy reduced the number of viable *C. krusei* Ck7 on toothbrushes by 90.86 % and *C. albicans* ATCC 10231 by 84.50 %. Thus, photoactivation significantly increased the effectiveness of curcumin treatment against yeasts.

The antifungal activity of photoactivated curcumin against *C. albicans* biofilms was reported in a previous study with the same concentration (40 μM) used in our study and a light dose of 5.28 J cm⁻². The authors observed a 68 % and 87 % reduction in the metabolic activity of the biofilms with pre-irradiation of 5 and 20 minutes, respectively (Dovigo *et al.*, 2011).

The inactivation of microorganisms with photodynamic therapy and photochemical reactions occurs through the synergy of a number of factors: photosensitive molecules, light and cellular oxygen. The process begins with the photosensitizer accumulating in the cells after administration, which can be topical or systemic. Soon after, these photosensitized cells are exposed to light with a wavelength that corresponds to their absorption spectrum and two types of reactions occur, releasing reactive oxygen species and singlet oxygen, respectively, which lead the photosensitized cells to death (Zangirolami *et al.*, 2022).

4 CONCLUSIONS

Antimicrobial photodynamic therapy is a promising technology that offers an innovative approach to disinfecting surfaces prone to microbial colonization such as medical devices, dental instruments, public facilities and industrial environments. The activation of a photosensitizing agent with light produces an oxygen-rich environment that causes the destruction of the microbial load on these surfaces (Dube 2024; Zhou *et al.*, 2024).

Photodynamic antimicrobial therapy mediated by curcumin photoactivated with 450 nm LED light is effective against the formation of yeast biofilms. In our work, we concluded that curcumin photoactivated with 450 nm LED light is effective against *C. krusei* Ck7 and *C. albicans* ATCC 10231 biofilms. Yeast biofilms were formed on the experimentally inoculated toothbrushes, treatment with 40 µM non-photoactivated curcumin was able to reduce the counts of adhered cells to levels close to those of inoculation, however 40 µM photoactivated curcumin provided a potent reduction in the number of viable yeasts associated with the biofilm on the brushes.

The results obtained help in the search for complementary techniques to the available antimicrobial arsenal, in a context where the emergence of resistant microorganisms and the impact this has on human health is being observed. With regard to the limitations of this study, we would point out that there are still few studies with an experimental design similar to ours. In addition, we suggest that

future studies include other different microorganisms to verify the efficacy of curcumin-mediated aPDT.

Therefore, we conclude that this study contributes to the evaluation of the efficacy of aPDT in the photoinactivation of yeast biofilms and may represent a promising complementary technique to conventional antimicrobial agents, which will be evaluated in further work by the group.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank the Universidade Estadual de Goiás/Plataforma Institucional de Pesquisa e Inovação em Bioinsumos. To CAPES for the scholarships for the first and second authors, to UEG for the permanent scholarships for the third and fifth authors and to the company Quimilab Comércio e Representações Ltda.

REFERENCES

- ALMOHARIB, H. S. et al. The effectiveness of water jet flossing and interdental flossing for oral hygiene in orthodontic patients with fixed appliances: a randomized clinical trial. **BMC Oral Health**, v. 24, n. 1, p. 498, 2024.
- ÁLVAREZ, G. et al. Bacterial decontamination of toothbrushes by immersion in a mouthwash containing 0.05% chlorhexidine and 0.05% cetylpyridinium chloride: A randomized controlled trial. **International Journal of Dental Hygiene**, v. 21, n. 2, p. 357-364, 2023.
- DUBE, E. Antimicrobial Photodynamic Therapy: Self-Disinfecting Surfaces for Controlling Microbial Infections. **Microorganisms**, v. 12, n. 8, p. 1573, 2024.
- BROOKES, Z. L. S. et al. Current uses of chlorhexidine for management of oral disease: a narrative review. **Journal of dentistry**, v. 103, p. 103497, 2020.
- CHELLAPPA, L. R. et al. Effectiveness of Alternate Methods of Toothbrush Disinfection: A Systematic. **Journal of Research in Medical and Dental Science**, v. 9, n. 1, p. 260-266, 2021.
- DEINZER, R. et al. Manual toothbrushing techniques for plaque removal and the prevention of gingivitis—A systematic review with network meta-analysis. **Plos one**, v. 19, n. 7, p. e0306302, 2024.
- DOVIGO, L. N. et al. Investigation of the photodynamic effects of curcumin against *Candida albicans*. **Photochemistry and photobiology**, v. 87, n. 4, p. 895-903, 2011.
- KHAN, S. A. et al. An updated systematic review on toothbrush contamination: An overlooked oral health concern among general population. **International Journal of Dental Hygiene**, v. 22, n. 1, p. 95-105, 2024.
- KHATOON, Z. et al. Bacterial biofilm formation on implantable devices and approaches to its treatment and prevention. **Heliyon**. v. 4, n. 12, 2018.
- LI, X. et al. Novel approaches to combat medical device-associated biofilms. **Coatings**, v. 11, n. 3, p. 294, 2021.
- MENEZES, M. L. F. V. et al. A importância do controle do biofilme dentário: uma revisão da literatura. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 55, p. e3698-e3698, 2020.
- MORAES, G. S. et al. Is there an optimal method to detach *Candida albicans* biofilm from dental materials?. **Journal of Medical Microbiology**, v. 70, n. 10, p. 001436, 2021.
- PONDE, N. O. et al. *Candida albicans* biofilms and polymicrobial interactions. **Critical reviews in microbiology**, v. 47, n. 1, p. 91-111, 2021.

PRADEEP, S. et al. A prospective study on assessment of microbial contamination of toothbrushes and methods of their decontamination. **Cureus**, v. 14, n. 10, 2022.

ZANGIROLAMI, A. C. et al. Impact of light-activated curcumin and curcuminoids films for catheters decontamination. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 213, p. 112386, 2022.

ZHOU, Z. et al. Borneol serves as an adjuvant agent to promote the cellular uptake of curcumin for enhancing its photodynamic fungicidal efficacy against *Candida albicans*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 253, p. 112875, 2024.

Apêndice 2 – Resumo publicado na Revista Movimenta (Movimenta, Editora UEG, Goiânia, 2024) intitulado: EFICÁCIA ANTIMICROBIANA DA CURCUMINA SINTÉTICA CONTRA ISOLADO CLÍNICO DE *CANDIDA KRUSEI* E *CANDIDA ALBICANS* ATCC 10231 NAS FORMAS PLANCTÔNICA E BIOFILME

Autores: João Salviano Simões Chagas da Silva, Ana Vitória B. Silva, Maria Gabriella F. R. Eliseu, Marina de Andrade, Lucas D. Dias, Plínio Lázaro Faleiro Naves

DOI: <https://doi.org/10.31668/movimenta.v17i1.15305>

Classificação Qualis CAPES (2017-2020): B3

ANAIIS DE EVENTO

EFICÁCIA ANTIMICROBIANA DA CURCUMINA SINTÉTICA CONTRA ISOLADO CLÍNICO DE CANDIDA KRUSEI E CANDIDA ALBICANS ATCC 10231 NAS FORMAS PLANCTÔNICA E BIOFILME

João Salviano Simões Chagas da Silva¹, Ana Vitória B. Silva¹, Maria Gabriella F. R. Eliseu¹, Marina de Andrade¹, Lucas D. Dias², Plínio Lázaro Faleiro Naves¹.

¹Universidade Estadual de Goiás,

²UniEVANGÉLICA

E-mail: joaosalviano14@gmail.com

Os micro-organismos são encontrados no estado planctônico ou sésil aderidos a superfícies como biofilmes. A formação de biofilme é considerada um fator de virulência pois confere aderência a tecidos vivos e dispositivos médicos (por exemplo, tubo endotraqueal), o que pode agravar a condição clínica do paciente. O presente estudo visa avaliar a atividade da curcumina contra as formas planctônica e sésil de *Candida krusei* 7 e *Candida albicans* ATCC 10231. Para isso, alíquotas das leveduras foram reativadas a 35 °C por 72 h em ágar Sabouraud e posteriormente, 100µL de suspensões obtidas com a dissolução de colônias em solução fisiológica estéril foram transferidos para Eppendorfs com 900µL de caldo de infusão cérebro coração e sacarose. Em seguida, foram tratados com curcumina 40 µM por 20 minutos, enquanto que os outros microtubos foram incubados a 35 °C por 48 h para o crescimento dos biofilmes. Após a incubação, foram tratados da mesma forma. As amostras foram diluídas para a contagem das colônias e cálculo das UFC.mL⁻¹ das leveduras viáveis. A viabilidade da *C. krusei* 7 foi reduzida pela curcumina em 32,72% na forma planctônica e 48,3% no biofilme. Para a *C. albicans* ATCC 10231 foi observada a redução de 32% na forma planctônica e no biofilme houve aumento de 385,23%. A curcumina foi mais ativa contra as leveduras planctônicas, porém, contra biofilmes pré-formados apresentou resultados dependentes das leveduras, sendo necessários mais estudos para avaliar a sua eficácia.

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana. Antibiofilme. Leveduras. Curcumina. Produto natural.