



ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM TECNOLOGIAS EM
SAÚDE

MARIA CLARA NEVES PAVIE CARDOSO LIMA

USO DO DIODO EMISSOR DE LUZ AZUL EM MUCOSA VAGINAL SAUDÁVEL:
UM ENSAIO CLÍNICO FASE I

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Salvador
2018

MARIA CLARA NEVES PAVIE CARDOSO LIMA

**USO DO DIODO EMISSOR DE LUZ AZUL EM MUCOSA VAGINAL SAUDÁVEL:
UM ENSAIO CLÍNICO FASE I**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação Stricto Sensu em Tecnologias em Saúde da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública para obtenção de título de Mestre em Tecnologias em Saúde.

Orientadora: Sibeles de Oliveira Tozetto Klein- Doutora em Ciências Biológicas

Salvador
2018

Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas da EBMSP

L732 Lima, Maria Clara Neves Pavie Cardoso

Uso do diodo emissor de luz azul em mucosa vaginal saudável: um ensaio clínico fase I/ Maria Clara Neves Pavie Cardoso Lima. – 2018.

86f.: il. color. ; 30cm.

Orientadora: Profa. Dra. Sibeles de Oliveira Tozetto Klein

Mestre em Tecnologias em Saúde. 2018.

Inclui bibliografia

1 Genitália Feminina Saudável. 2. Terapia com Luz de Baixa Intensidade.

I. Título.

CDU: 618.15

MARIA CLARA NEVES PAVIE CARDOSO LIMA

**"USO DO DIODO EMISSOR DE LUZ AZUL EM MUCOSA VAGINAL SAUDÁVEL:
UM ENSAIO CLÍNICO FASE I"**

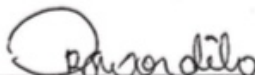
Dissertação apresentada à Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Tecnologias em Saúde.

Salvador, 26 de março de 2018.

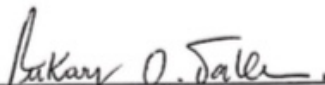
BANCA EXAMINADORA



Prof.^a Dr.^a Milena Bastos Brito
Doutora em Ciências Médicas
Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, EBMSp



Prof.^a Dr.^a Patrícia Virgínia Silva Lordêlo Garboggini
Doutora em Medicina e Saúde Humana
Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, EBMSp



Prof.^a Dr.^a Lukary Oliveira Takenami
Doutora em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa
Universidade Salvador – UNIFACS

Dedico este trabalho a minha família.
Minha base de apoio e grandes
incentivadores de mais esse sonho

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora Dr^a Sibeles Tozetto pela confiança e disponibilidade.

A Dr^a Patrícia Lordelo, pelos longos e construtivos anos de convívio sendo esse exemplo de profissional determinada e comprometida. Pela sua capacidade em estimular novas buscas em seus alunos e orientandos e, de forma pessoal, pelo apoio que me foi dado em todos os momentos desse trabalho.

A minha mãe pelo jeito otimista e corajoso de sempre confiar nos bons resultados e me impulsionar em direção a eles.

Ao meu pai, por ser essa pessoa a quem admiro muito pela cadência e dedicação aos sonhos dos seus filhos.

Ao meu irmão pelo verdadeiro amigo que é, alguém que posso contar em todos os momentos. Por estar sempre perto como conselheiro e incentivador dos meus objetivos.

Ao meu marido, pelo companheirismo e compreensão em todo esse tempo. Pela sua paciência singular, sempre dizendo aquilo que eu precisava ouvir e confiando nos meus potenciais.

A minha cunhada e amiga Bárbara, que dividiu comigo momentos difíceis ao longo dessa jornada e sempre encontrava forma de torná-los mais coloridos e amenos.

A minha companheira de pesquisa e hoje amiga, Mariana, que mesmo em nossos momentos mais ansiosos estava ali para encontrarmos um caminho de recomeçar. Nessa caminhada construímos uma relação de carinho e respeito que levaremos sempre conosco.

Ao grupo de pesquisa do Centro de Atenção ao Assolho Pélvico por compartilhar comigo sonhos acadêmicos e sempre estar unido em busca de felizes desfechos.

Aos participantes da pesquisa, que tornaram possível a concretização do estudo.

Aos colegas e hoje amigas construídas ao longo do curso de Mestrado em Tecnologias em Saúde, em especial Paula Elis e Patrícia Quariguazi que embarcaram comigo na busca dessa realização.

“Aonde quer que você vá, vá com todo o coração.”

Confúcio

RESUMO

Introdução: A genitália feminina saudável apresenta um ecossistema que se mantém em equilíbrio através das interações de fatores endógenos e exógenos, podendo sofrer influência por situações como oscilações hormonais e intercurso sexual. O Diodo Emissor de Luz (LED) é um dispositivo semiconductor que emite luz em diferentes comprimentos de onda, variando a cor e os efeitos gerados. O uso da luz azul em humanos é mais conhecido com finalidade antimicrobiana, já tendo sido utilizado em região de face, mucosa gástrica e em mucosa vaginal. **Objetivo:** Testar a segurança e o efeito do LED azul $401 \pm 5\text{nm}$ em mucosa vaginal saudável. **Materiais e Métodos:** Trata-se de um estudo clínico fase I onde foram incluídas 10 mulheres com idade entre 18 e 45 anos, com mucosa vaginal saudável, isto é, sem sinais e sintomas de vulvovaginites, com achados de Citologia a Fresco típicos e teste de hidróxido de potássio (KOH) negativo. Foram excluídas mulheres em uso de marcapasso, com diagnóstico e/ou suspeita de neoplasias, dificuldade de responder a anamnese, doenças neurológicas e/ou psiquiátricas, gestantes e aquelas que iniciassem ou interrompessem uso de anticoncepcional oral (ACO) durante o estudo. Inicialmente foi feita anamnese e em seguida exame físico e coleta de secreção vaginal para realização de Teste de KOH e citologia a fresco. As voluntárias que seguiram na pesquisa passaram por avaliação de potencial hidrogeniônico (pH) vaginal e parte do material coletado foi enviado ao laboratório para citologia oncológica. As participantes foram submetidas a uma sessão de LED azul $401 \pm 5\text{ nm}$, com espelho introduzido no canal vaginal, durante 30 minutos. Entre 21 e 28 dias após a terapia, a depender do ciclo menstrual da participante, a mesma foi novamente submetida a avaliação com anamnese, verificação de pH vaginal e realização de coleta de secreção vaginal para análise de citologia oncológica. Foi utilizado o programa *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) versão 14.0 para análise dos dados obtidos. **Resultados:** Inicialmente foram recrutadas 20 mulheres para participar do estudo, destas 10 foram excluídas por não cumprirem os critérios de inclusão. Das 10 mulheres mantidas na pesquisa, uma delas foi excluída na reavaliação por ter interrompido uso de ACO. A média de idade da amostra foi de $27 \pm 5,4$ anos e a média de índice de massa corporal (IMC) $25,25 \pm 3,05\text{ kg/m}^2$. Não foram observadas modificações patogênicas na microflora vaginal de nenhuma das participantes. Em relação ao pH vaginal, apenas 1 entre as 9 mulheres mantidas no estudo apresentou redução do valor (5.0 – 4.0). Além disso, não foram vistos efeitos adversos como dor ou calor em nenhuma das mulheres durante ou após o uso da luz. **Conclusão:** O presente estudo demonstrou que a utilização do LED azul $401 \pm 5\text{nm}$ em mucosa vaginal de mulheres jovens não ocasionou mudanças patogênicas em microflora e em valores de pH vaginal. Além disso, não foi observado surgimento de efeitos adversos como dor, aquecimento ou incômodo durante ou após uso da luz nas participantes. Sugere-se assim a utilização do LED azul $401 \pm 5\text{nm}$ para verificação dos efeitos da luz em agentes patogênicos vulvovaginais.

Palavras-Chave: Genitália Feminina. Saudável. Terapia com Luz de Baixa Intensidade.

ABSTRACT

Introduction: The healthy female genitalia presents an ecosystem that remains in balance through the interactions of endogenous and exogenous factors, and may be influenced by situations as hormonal variations and sexual intercourse. The Light Emitting Diode (LED) is a semiconductor device that emits light at different wavelengths, varying the color and effects generated by it. The use of blue light in humans is best known with an antimicrobial purpose, having already been used in the face region, the gastric mucosa, and in vaginal mucosa. **Objective:** To test the safety and effect of blue LED $401 \pm 5\text{nm}$ on healthy vaginal mucosa. **Materials and Methods:** This was a fase I clinical trial involving 10 women aged 18-45 years with healthy vaginal mucosa, that is, without signs and symptoms of vulvovaginitis, with typical Fresh Cytology findings and with normal Test of Hydroxide Potassium (KOH). Were excluded women in the use of pacemakers, with diagnosis and/or suspicion of neoplasias, difficulty in answering anamnesis, neurological and/or psychiatric diseases, pregnant women, and those who started or stopped using hormonal contraceptive (HC) during the study. Initially, an anamnesis was carried out and subsequently, a physical examination and collection of vaginal secretion were carried out to perform a KOH test and a fresh cytology. The volunteers who followed the study underwent to vaginal Hydrogen Potential (pH) verification and part of the collected material was sent to the laboratory for oncotic cytology. Participants underwent a $401 \pm 5\text{ nm}$ blue LED session, with speculum introduced into the vaginal canal, for 30 minutes. Between 21 and 28 days after therapy, depending on the participant's menstrual cycle, she was again submitted to anamnesis, vaginal pH verification and it was done collection of vaginal secretion for analysis of oncotic cytology. The program Statistical Package for Social Sciences (SPSS) version 14.0 was used to analyze the obtained data. **Results:** Twenty women were initially recruited to participate in the study, of whom 10 were excluded because they did not meet the inclusion criteria. Of the 10 women retained in the study, one of them was excluded from the reevaluation because she stopped using HC. The mean age of the sample was 27 ± 5.4 years and the mean BMI $25.25 \pm 3.05\text{ kg/m}^2$. There were no pathogenic changes or cellular atypia in the vaginal microflora of any of the participants. Regarding vaginal pH, only 1 of the 9 women in the study had a reduction in the value (5.0 - 4.0). In addition, no adverse effects such as pain or heat were seen in any of the women during or after the use of light. **Conclusion:** The present study demonstrated that the use of the $401 \pm 5\text{ nm}$ blue LED in healthy vaginal mucosa of young women did not cause pathogenic changes in microflora and in vaginal pH values. In addition, there were also no observed adverse effects such as pain, warming or discomfort were observed during or after light use in the participants. It is suggested that the blue LED $401 \pm 5\text{ nm}$ be used to verify the effects of light on vulvovaginal pathogens.

Key words: Female genitalia. Healthy. Low Intensity Light Therapy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1–	Espectro Eletromagnético	22
Figura 2–	Parte Interna do Diodo Emissor de Luz Azul	24
Figura 3–	Utilização do Protótipo de Diodo Emissor de Luz Azul	25
Figura 4–	Fluxograma da randomização recomendada pela Consort	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1–	Características sócio-demográficas e dados ginecológicos de 10 mulheres com mucosa vaginal saudável submetidas a aplicação da luz de LED azul $401 \pm 5\text{nm}$ (Salvador-BA).	30
Tabela 2–	Hábitos de vida de 10 mulheres com mucosa vaginal saudável submetidas a aplicação da luz de LED azul $401 \pm 5\text{nm}$ (Salvador-BA).	30
Tabela 3–	Dados citológicos e químico de 10 mulheres com mucosa vaginal saudável submetidas a aplicação da luz de LED azul $401 \pm 5\text{nm}$ (Salvador-BA).	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

pH	Potencial hidrogeniônico
LED	Diodo emissor de luz
PAMPS	Padrões moleculares associados aos patógenos
SLPI	Inibidor de protease secretora de leucócitos
MBL	Lecitina ligadora de manose
HBD 1	Defensina humana 1
HBD 2	Defensina humana 2
HSP-70kDa	Heat shock protein 70k Da
IgG	Imunoglobulina G
IgA	Imunoglobulina A
ACOs	Anticoncepcionais orais
DSTs	Doenças sexualmente transmissíveis
nm	Nanômetro
LASER	Amplificação da luz por emissão estimulada de radiação
LIP	Luz Intensa Pulsada
DNA	Ácido desoxirribonucleico
RNA	Ácido ribonucleico
ATP	Adenosina trifosfato
FDA	Food and drug administration
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
UFRB	Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
KOH	Hidróxido de potássio
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
CVVR	Candíase vulvovaginal recorrente

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	14
2.1	Objetivo Geral	14
2.2	Objetivos Específicos	14
3	REVISÃO DA LITERATURA	15
3.1	Anatomia e histologia da vagina e vulva	15
3.2	Fisiologia e microflora vaginal	16
3.3	Fatores que interferem na saúde genital feminina	17
3.3.1	Hormonais	17
3.3.2	Medicamentos	19
3.3.3	Hábitos de vida	20
3.4	Fototerapia	21
3.5	Fotobiomodulação	23
3.6	Diodo emissor de luz- led	24
3.6.1	Uso terapêutico do led	25
4	MATERIAIS E MÉTODOS	26
5	ESTATÍSTICA	28
6	RESULTADOS	29
7	DISCUSSÃO	32
8	LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS DO ESTUDO	36
9	CONCLUSÃO	37
	REFERÊNCIAS	38
	APÊNDICES	43
	ANEXOS	53

1 INTRODUÇÃO

A genitália feminina apresenta um ecossistema que se mantém em equilíbrio por meio das interações entre a microflora vaginal, produtos do metabolismo microbiano, condição hormonal e resposta imune⁽¹⁾. A saúde da vagina é mantida pela correlação de processos endógenos e exógenos, sendo a microflora uma das principais responsáveis pela fisiologia normal da região através dos seus mecanismos de defesa⁽²⁾.

A microflora vaginal é habitada por diferentes espécies de microrganismos que podem ser não patogênicos ou patogênicos⁽³⁾. O principal componente da flora saudável são os *Lactobacillus sp*, que produzem ácido lático, deixando o meio vaginal ácido e inóspito para os patógenos, com pH (potencial hidrogeniônico) normal entre 3.8 e 4.5^(4,5). Além desses ácidos orgânicos, os lactobacilos produzem também o peróxido de hidrogênio e bacteriocinas que são capazes de inibir ou destruir possíveis microrganismos agressores⁽⁴⁾. Diversos fatores como variações hormonais, atividade sexual e uso de medicamentos podem alterar a composição da microflora vaginal, favorecendo desequilíbrio do ecossistema e consequente surgimento de vulvovaginites⁽²⁾.

O Diodo Emissor de Luz (LED) é um dispositivo semiconductor que emite luz em diferentes comprimentos de onda, ocasionando variação da cor e dos efeitos obtidos^(6,7). O LED possui diferentes possibilidades de utilização, dentre elas efeito antimicrobiano, aumento da proliferação celular, cicatrização dentre outros^(7,8,9).

A maioria dos estudos que utiliza a luz azul relata o seu uso com finalidade antimicrobiana. Esta já foi utilizada por exemplo em pele e mucosa gástrica humana para destruição de bactérias, sem ocasionar lesão a células locais e sem gerar efeito térmico, configurando-se como uma possível forma de tratamento com mínimos efeitos adversos^(10,11). Além disso, o LED azul também já foi utilizado em região de genitália feminina, com finalidade de destruição fúngica apresentando resposta positiva, sem efeitos colaterais ou adversos⁽¹²⁾.

Diante da utilização da luz azul em humanos, surge a hipótese do uso do LED azul em região vaginal com finalidade terapêutica, desta forma, este estudo de fase I, tem como objetivo testar a segurança e os efeitos do do LED azul 401 ± 5 nm em mucosa vaginal saudável.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Testar a segurança e o efeito do LED azul 401 ± 5 nm em mucosa vaginal saudável.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar as alterações em citologia oncótica vaginal antes e após a aplicação do LED azul 401 ± 5 nm na genitália feminina saudável.

Avaliar as alterações em valores de pH vaginal antes e após a aplicação do LED azul 401 ± 5 nm na genitália feminina saudável.

Avaliar possíveis efeitos adversos durante ou após utilização do LED azul 401 ± 5 nm na genitália feminina saudável.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Anatomia e Histologia da Vagina e Vulva

O trato genital feminino é formado por cavidades como as tubas uterinas, útero e vagina, que se comunicam com o meio externo através da fenda vulvar ou óstio vaginal^(2,13). Em mulheres que nunca tiveram experiência de intercurso sexual este óstio é parcialmente obturado pelo hímen, uma membrana de tecido conjuntivo que ao ser rompida apresenta-se como fragmentos denominados carúnculas himenais⁽¹⁴⁾.

A vagina é um túbulo músculo membranáceo, composto por uma parede anterior e uma posterior que normalmente encontram-se colabadas apresentando-se como uma cavidade virtual que permite processos fisiológicos como o parto, a relação sexual e extravasamento de conteúdo menstrual^(2,15). Histologicamente a vagina é rica em tecido conjuntivo, possui musculatura lisa e é revestida por epitélio estratificado pavimentoso. A parede vaginal é constituída pelas camadas mucosa, muscular e adventícia^(16,17).

A vulva refere-se a parte externa da vagina e é composta por algumas estruturas como grandes e pequenos lábios, glândulas vestibulares maiores e menores, clitóris e o vestíbulo da vulva, onde encontra-se o óstio vaginal^(15,17). Os grandes lábios são dobras cutâneas longitudinais, ricas em tecido gorduroso, que se estendem desde o monte pubiano, formando as laterais da vagina, atuando na proteção da região. Os pequenos lábios também são dobras cutâneas longitudinais com localização mais interna e envolvem o canal vaginal e a uretra⁽¹⁵⁾.

Alojadas na parede vaginal existem as glândulas vestibulares maiores que são responsáveis pela lubrificação do canal vaginal e possuem função similar as glândulas vestibulares menores, porém são mais numerosas e situam-se principalmente ao redor da uretra e clitóris. O clitóris é revestido por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado e composto por dois corpos eréteis que apresentam função de intumescimento durante atividade sexual⁽¹⁷⁾.

O muco cervical, formado pela microbiota vaginal em resposta à estimulação sexual e aos hormônios estrogênicos, está presente na vagina e é composto por proteínas, ácidos graxo e hidratos de carbono. Em condições fisiológicas, esta secreção é inodora, incolor e viscosa, sem presença significativa de neutrófilos^(16,17).

3.2 Fisiologia e Microflora Vaginal

A genitália feminina possui um ecossistema dinâmico que se mantém saudável por meio de diferentes processos que promovem a preservação da composição local^(16,18). Os bacilos formam a composição básica da flora vaginal de mulheres saudáveis e são responsáveis pelo principal mecanismo de defesa local. Por meio da produção de glicogênio pelas células epiteliais, em resposta ao estímulo do estrogênio, os bacilos formam o ácido lático e este inibe a proliferação de agentes patógenos⁽⁴⁾.

Inicialmente, acreditava-se que a vagina era composta basicamente por um subtipo de lactobacilo denominado “bacilos de Doderlein”, no entanto, estudos mais avançados demonstraram a presença de agentes de diferentes subespécies de bacilos na flora vaginal saudável^(1,19). Os *Lactobacillus sp*, principais constituintes da flora, revestem a mucosa vaginal, formando um biofilme protetor e promovendo inibição da adesão, crescimento e proliferação de microrganismos agressores através de diferentes processos^(4,16).

Dentre estes processos pode-se citar a produção de ácido lático que torna o meio vaginal ácido e inóspito para os patógenos, além da formação de peróxido de hidrogênio, bacteriocinas e biosurfactantes, que inibem o surgimento e destroem microrganismos presentes⁽⁴⁾. Além disso, os mecanismos de competição por nutrientes, como a arginina, e os receptores no momento da adesão epitelial, também são fatores protetores da genitália⁽¹⁶⁾.

O pH trata-se um valor mensurado por uma escala logarítmica que avalia o grau de acidez de um determinado meio ou substância, classificando-os entre ácidos, neutros ou básicos⁽¹⁷⁾. Em situações fisiológicas a vagina apresenta pH ácido, com valores $\leq 4,5$, porém, isto pode ser alterado em decorrência de alguns eventos como as variações hormonais do ciclo menstrual e o próprio sangramento, ou fatores externos como o uso de alguns medicamentos^(1,2).

A proteção da vagina também é realizada pelos componentes da imunidade inata, que são ativados de forma imediata após reconhecimento de patógenos, através de Padrões Moleculares Associados aos Patógenos (PAMPS) e, da imunidade adquirida, que se ativa posteriormente na presença de patógenos. Ao ocorrer o reconhecimento de um PAMPS desencadeiam-se vários eventos que levam a liberação de citocinas pró inflamatórias e em seguida é ativado o sistema

imune adquirido, ou seja, linfócitos T e B são ativados, iniciando-se a imunidade humoral mediada por células⁽²⁾.

A imunidade inata vaginal é formada por diversos agentes com função antimicrobiana. Dentre eles existem os componentes associados às membranas denominados “*toll like receptors*”, as defensinas, o Inibidor de Protease Secretora de Leucócitos (SLPI), Lecitina Ligadora de Manose (MBL), óxido nítrico e os componentes de complemento e células fagocitárias⁽²⁾.

As ferramentas receptoras ou “*toll like receptors*” estão presentes nas células epiteliais e são os primeiros meios de contato entre o microorganismo e a genitália feminina, iniciando o processo de resposta aos patógenos. As defensinas, Beta Defensinas Humanas (HBD) 1 e 2, são moléculas de atividade antimicrobiana não específicas que são liberadas com finalidade de defesa. O SLPI é responsável pela destruição de bactérias gram positivas e negativas. A MBL é uma proteína presente na circulação e secreção vaginal e o óxido nítrico é produzido por uma proteína de choque térmico, a *Heat Shock Protein 70 Da* (HSP-70kDa), ambos com características antimicrobianas⁽²⁾.

Existem ainda os anticorpos presentes na vagina, dentre eles as imunoglobulina (Ig) G e A, produzidas pelos linfócitos B, que configuram-se como meios de proteção de rápida detecção e resposta a microrganismos⁽²⁾.

3.3 Fatores que Interferem na Saúde Genital Feminina

3.3.1 Hormonais

As oscilações hormonais são processos naturais vivenciados pelas mulheres nas experiências do próprio ciclo menstrual, da gestação e da menopausa. Em cada uma dessas fases há alterações nos níveis de hormônios específicos que podem impactar na composição da microbiota vaginal⁽²⁰⁾.

Um dos principais hormônios associados às alterações de microflora é o estrogênio, tendo em vista que apresenta oscilações frequentes a depender da fase vivenciada pela mulher. Estados elevados desse hormônio estão associados com maior presença de glicogênio, que estimula a produção de ácido lático acidificando o meio vaginal, configurando-se como efeito protetor para flora vaginal em relação a certas infecções, como a vaginose bacteriana⁽²¹⁾. Já as fases marcadas pelo

hipoestrogenismo relacionam-se ao decréscimo da produção de ácido láctico, e consequentemente dos lactobacilos, diminuindo a capacidade protetora^(16,22).

Na menacme, período fértil da vida da mulher, as oscilações hormonais inerentes ao ciclo menstrual alteram o substrato de alguns microrganismos e o próprio sangramento gera variação no pH vaginal, podendo interferir no equilíbrio da saúde genital^(16,23). As fases do ciclo menstrual ocasionam alterações na composição da microbiota, podendo haver aumento ou diminuição das vantagens seletivas para alguns microrganismos⁽²⁾.

Apesar de muitos estudos terem sido realizados, pouco se sabe sobre os mecanismos fisiológicos que estão envolvidos nas alterações ocasionadas pela menstruação e de que forma estes interferem na predisposição às infecções. Em um estudo envolvendo 74 mulheres assintomáticas foi demonstrado que a taxa de recuperação do crescimento de *Lactobacillus* aumentou durante o período menstrual. Entretanto, a concentração de espécies não-*Lactobacillus* apresentou-se maior na fase menstrual, o que pode hipotetizar que a flora vaginal apresenta-se menos estável neste momento para certos tipos de infecções⁽²³⁾.

Na menopausa, os níveis de estrogênio encontram-se baixos e isso está associado à atrofia genital e modificações de microbiota vaginal, com menor quantidade de lactobacilos⁽¹⁶⁾. A atrofia vaginal caracteriza-se por mucosa vaginal delgada e ressecada, o que pode ocasionar dispareunia, desconforto vaginal e prurido e, consequentemente processos inflamatórios. Além disso, ocorre elevação de pH que também é um fator que predispõe a vagina e o trato urinário às infecções⁽²⁴⁾.

No período gestacional, a presença de infecções apresenta acentuada importância tendo em vista que algumas delas podem estar relacionadas a riscos como parto prematuro e abortamento tardio. Nesta fase há altas concentrações de glicogênio, maior umidade e calor que podem favorecer a ocorrência de fungos, pois estes patógenos se nutrem a partir da glicose^(25,26).

Os anticoncepcionais orais (ACOs) são contraceptivos hormonais reversíveis de média eficácia que são classificados em combinados, quando compostos por estrogênio e progesterona, ou isolados, compostos exclusivamente por progesterona. Os combinados são os mais utilizados mundialmente, sendo estimado que 27% das mulheres em idade fértil, no Brasil o utilizam. Os ACOs podem também ser classificados como monofásicos, quando todos os comprimidos da cartela possuem

a mesma dosagem hormonal; bifásicos quando há duas dosagens diferentes entre eles; ou trifásicos na presença de três doses distintas^(27,28).

Alguns estudos apontam que uso de certos tipos de ACOs podem interferir na composição da microflora e na imunidade vaginal, predispondo as usuárias ao desenvolvimento de infecções⁽²⁰⁾. Um dos mecanismos que explica a possibilidade de interferência do uso desses medicamentos no equilíbrio da microbiota vaginal é que pode ocorrer inibição da produção de algumas defensas humanas, como a HBD 2, encontrada em região vaginal, aumentando a susceptibilidade a infecções genitais nas mulheres⁽²⁾.

No entanto, tendo em vista as flutuações endógenas hormonais mensais, estudos apontam que o uso dos ACOs não interferem na microbiota vaginal. Além disso, há evidência de que os ACOs produzem efeito protetor para a microflora vaginal, principalmente em relação ao surgimento e recorrência de vaginose bacteriana⁽²⁰⁾.

3.3.2 Medicamentos

O uso de alguns antibióticos, especialmente os de amplo espectro, pode interferir na manutenção da flora vaginal residente e, o uso indiscriminado desses medicamentos, pode favorecer resistência microbiana elevando o risco de recidiva das infecções^(1,29). Desta forma, observa-se que a prescrição de antibióticos deve ser realizada de maneira coerente, após confirmação microbiológica de vulvovaginite, para minimizar alterações na microflora vaginal e proliferação de agentes potencialmente patógenos e consequente surgimento de doenças nas mulheres⁽²⁾.

Os corticoides e imunossupressores são medicamentos utilizados para o tratamento de algumas patologias como doenças autoimunes e eles atuam através da redução da resposta inflamatória. Como consequência, essas drogas podem apresentar impacto na imunidade com redução da ação de células de defesa e de proteínas como as interleucinas que estão envolvidas na resposta de defesa do organismo. Alguns estudos citam maior susceptibilidade para o desenvolvimento de recorrência de vulvovaginites devido ao uso de algumas drogas que interferem na imunidade^(1,30,31).

Atualmente, probióticos têm sido utilizados como coadjuvantes no tratamento de algumas vulvovaginites, principalmente nos casos de recorrência da doença,

tendo em vista que atuam através do aumento da quantidade de lactobacilos que habitam a flora vaginal e desempenham papel protetor contra infecções⁽³²⁾.

3.3.3 Hábitos de Vida

Apesar de não existirem fortes evidências científicas acerca da interferência de alguns hábitos de vida na ocorrência de vulvovaginites, algumas recomendações são utilizadas na prática clínica entre os profissionais da área de ginecologia.

A literatura diverge em relação a influência dos hábitos de higiene íntima em relação a saúde vaginal. Alguns estudos relatam que o uso indiscriminado de duchas vaginais e sabonetes específicos para a região vaginal podem ocasionar desequilíbrio na microbiota, alteração de pH e irritações locais regionais que podem facilitar o surgimento de infecções ou a manutenção desses quadros⁽³³⁾. De forma contraditória, há estudos que descrevem esses produtos como protetores da flora vaginal. O consenso é que esses produtos podem ser alergênicos para algumas mulheres e, por isso, quando são prescritos deve-se acompanhar a paciente, sendo a suspensão destes indicada ao surgimento de qualquer alteração⁽³⁴⁾.

Apesar de não haver fortes evidências científicas acerca de alguns hábitos, a alimentação rica em açúcares é apontada como um possível fator de risco para infecções fúngicas, tendo em vista que a glicose é a fonte de nutrição desses patógenos⁽⁵⁾. O uso de roupas íntimas sintéticas e justas também pode estar relacionado ao surgimento de vulvovaginites, tendo em vista que isso impede a aeração e aumenta a umidade local, propiciando alterações de pH e da composição da microflora⁽²⁹⁾.

Fatores emocionais também são tidos como situações que podem favorecer o aparecimento ou recorrência de vulvovaginites, já que em situações de estresse o corpo libera substâncias como catecolaminas e cortisol que podem ser prejudiciais. As catecolaminas geram vasoconstrição periférica, podendo desencadear isquemia tecidual relativa, com consequente alteração do metabolismo celular e o cortisol pode atuar como forte agente supressor da imunidade local⁽³⁵⁾.

O tabagismo também é apontado como fator de risco para a saúde vaginal podendo estar associado ao aparecimento de vulvovaginites como por exemplo a vaginose bacteriana. Em um estudo realizado comparando a microflora vaginal de mulheres fumantes e não fumantes e observou-se que nas fumantes havia uma

menor proporção de lactobacilos, considerados fatores protetores da vagina. Além disso, o tabagismo pode gerar efeitos anti estrogênicos nas mulheres o que está associado a ocorrência de atrofia vaginal e alterações na microbiota⁽³⁶⁾.

O intercurso sexual é um fator que expõe a vagina feminina a microtraumas, escoriações e descontinuidades no epitélio que podem levar a alterações da flora vaginal e favorecer o aparecimento de infecções. O próprio ato sexual e contato entre as genitálias podem levar a aquisição de bactérias e promover o contato com substâncias que contribuem para a proliferação de patógenos. A deposição de sêmen também é outro fator que pode alterar a constituição da microflora, pois este possui característica de pH alcalino, diferente da região vaginal⁽¹⁾.

O uso de preservativos é considerado um fator protetor importante para a genitália feminina com relação a infecção e aquisição de Doenças Sexualmente Transmissíveis (DSTs). No entanto, em algumas mulheres, os componentes químicos do preservativo e eventuais microtraumas gerados pelo atrito do mesmo com a mucosa, podem alterar o ecossistema vaginal e gerar risco de alergias^(37,38).

3.4 Fototerapia

A fototerapia é uma modalidade terapêutica indicada comumente para diferentes tipos de patologias dermatológicas utilizando a luz para alcançar objetivos distintos^(39,40). A luz é uma radiação eletromagnética cuja energia se transmite através de fótons ocupando o espectro de emissão, que varia entre o ultravioleta, faixa de luz visível e infravermelho⁽⁷⁾.

O espectro eletromagnético é mensurado em nanômetros (nm) e é utilizada especialmente para medir o comprimento de onda da luz visível, a qual varia de 400 a 700 nm^{8,41}. Essas alterações interferem na cor da luz emitida, e em consequência, nos efeitos gerados pela mesma quando em contato com a superfície irradiada^(39,40).

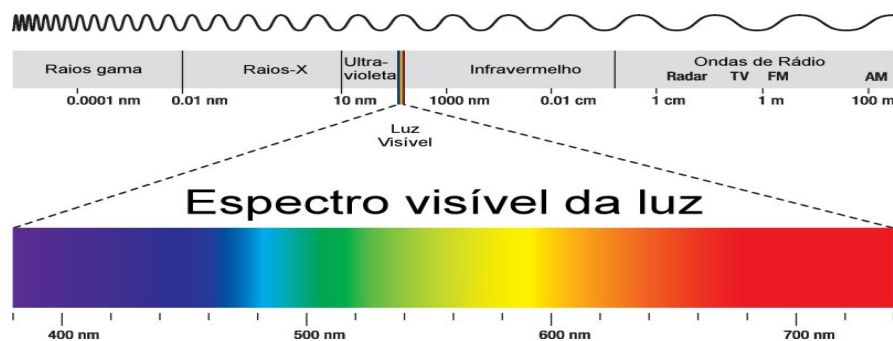


Figura 1- Espectro Eletromagnético

(Fonte: www.infoescola.com/fisica/espectro-eletromagnetico/).

Historicamente, o uso da fototerapia de forma natural data de 1400, pelos hindus que associavam plantas medicinais à exposição de luz solar para o tratamento de vitiligo. Esse tipo de terapia denominava-se helioterapia e foi se espalhando por outras nações do mundo como Egito, Roma e Grécia. Posteriormente constatou-se a importância da luz solar para o tratamento de outras patologias como tuberculose peritoneal e raquitismo⁽⁴²⁾.

Em 1894, na Alemanha, data-se a primeira construção e uso de luz artificial para o tratamento de doenças de pele, e iniciou-se então a fototerapia propriamente dita. Lahmann utilizou uma lâmpada em arco de carbono associada a um espelho para tratar paciente com lúpus vulgar na região do nariz, com êxito^(42,43).

Em 1956, a utilização da fototerapia foi descrita em Londres para o tratamento de hiperbilirrubinemia, em neonatos diagnosticados icterícos. No mesmo período, amostras de sangue desses indivíduos foram expostas ao sol e demonstraram redução importante de níveis séricos de bilirrubina. A partir daí vários estudos foram desenvolvidos até que a fototerapia se consagrou padrão ouro para o tratamento dessa patologia em 1992⁽⁴⁴⁾.

O uso da fototerapia tem se expandido na área da saúde tendo em vista sua vasta aplicabilidade e a comprovação da segurança da técnica em seres humanos quando utilizada em comprimento de onda e irradiância adequadas⁽¹⁰⁾. Existem diferentes luzes que podem ser utilizadas, cada uma delas com características e finalidades específicas, variando em vários aspectos, dentre eles o comprimento de onda, de acordo com o tipo de célula ou tecido que irá absorvê-la⁽⁸⁾.

Em relação as propriedades ópticas da mucosa humana por exemplo, estudos realizados *in vitro* demonstraram que existe uma maior absorção da luz em comprimentos de onda menores e que as principalmente as mitocôndrias e os

leucócitos, estruturas que compõem esse tecido, são os dispersores da luz pela superfície, além disso, as fibras de colágeno e elastina também interferem nesse aspecto⁽⁴⁵⁾.

Os principais tipos de luz utilizados são: a Luz Amplificada por Emissão Estimulada de Radiação (LASER) de baixa e média potência; Diodo Emissor de Luz (LED) e a Luz Intensa Pulsada (LIP). O LASER e o LED são emitidos sempre em comprimento de onda constante, já a LIP emite comprimentos diferentes de forma simultânea. Essas características fazem com o que o LASER e o LED sejam mais específicos em relação às células de absorção, enquanto a LIP é captada por diferentes tipos celulares ao mesmo tempo, devido sua variabilidade⁽⁸⁾.

3.5 Fotobiomodulação

A fotobiomodulação é o processo de estímulo das células presentes no local da aplicação da luz, promovendo resposta específica das mesmas com consequente aumento da função e maior taxa de proliferação celular⁽⁴⁶⁾. As respostas são iniciadas nas cadeias respiratórias mitocondriais e em seguida se permeiam pelo citoplasma e núcleo das células promovendo reações como maior produção de fibroblasto e síntese de colágeno, crescimento da síntese de ácido desoxirribonucleico (DNA) e ácido ribonucleico (RNA), síntese de adenosina trifosfato (ATP), maior vascularização e variações na condução nervosa^(46,47,48,49).

O mecanismo de ação do LED apresenta efeito de fotobiomodulação, configurando-se como uma técnica que gera efeitos locais com mínimas possibilidades de reações adversas. Os efeitos fisiológicos ocorrem a partir de uma complexa cascata de sinalização celular decorrente da ação da luz que ocasiona diversos processos como homeostase celular, alterações de produção energética celular, modulação de DNA e RNA, alterações de permeabilidade da membrana, alcalinização do citoplasma e despolarização da membrana celular⁽⁸⁾.

A fotobiomodulação ocasionada pelo LED azul ainda é pouco esclarecida, porém sabe-se que assim como outras luzes, através do mecanismo fotobiológico universal, esta tem capacidade de gerar respostas de ativação celular⁽⁵⁰⁾.

3.6 Diodo Emissor De Luz- LED

O LED é um dispositivo semicondutor que quando energizado, emite luz visível pelo processo de eletroluminescência, isto é, emissão de luz por aplicação de uma fonte elétrica de energia⁽⁴⁷⁾. Esta luz compõe o espectro eletromagnético e varia no comprimento de onda, entre 247 e 1300 nm, com emissão de luz da ultra violeta até o infra vermelho. A diferenciação de comprimento de onda gera mudança da cor da luz, sendo as mais utilizadas a azul (400 – 470nm), verde (470-550nm), vermelho (630- 700 nm) e infravermelho (770- 1200nm)⁽⁴¹⁾.

A emissão de luz do LED ocorre de forma divergente, ou seja, com feixe amplo alcançando uma maior área durante a aplicação sem necessidade de movimentação do aparelho^(7,8). Além disso, esta luz é classificada como não colimada e não coerente o que faz com que os fótons se repartam em uma superfície maior, permitindo facilidade de aplicação para o terapeuta tendo em vista que não é necessário mover o dispositivo durante a terapia, podendo este ficar posicionado de forma estática^(8,41). Dentre outras vantagens do LED, pode-se citar o baixo custo, a possibilidade de associar-se a diferentes comprimentos de onda em um mesmo feixe de luz, e o fato de serem atérmicos e não invasivos⁽⁴¹⁾.

Os efeitos gerados pelo LED variam conforme a cor de luz emitida, comprimento de onda, dose, intensidade, modos de emissão e tempo de aplicação. De forma geral, as características das cores de luz emitidas pelo LED são variadas, onde o azul é indicado para finalidades antimicrobianas e o verde e vermelho indicados para rejuvenescimento, funções cicatrizantes e anti-inflamatórias. Essas variações também implicam na profundidade de penetração na superfície aplicada, tendo os menores comprimentos uma maior profundidade^(8,9,39).

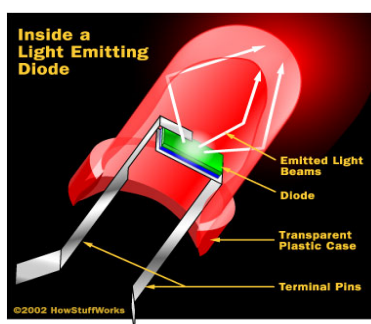


Figura 2- Parte Interna do Diodo Emissor de Luz

(Fonte: www.eeweb.com/profile/andrew-carter/articles/facts-about-light-emitting-diodes-led)

3.6.1 Uso Terapêutico do LED

O LED tem sido vastamente utilizado na área da saúde por apresentar uma série de efeitos no tecido exposto e algumas vantagens em relação a outros tipos de luz⁽⁴⁷⁾. O LED é um equipamento que não apresenta filamentos no seu interior, o que inibe o risco dessas estruturas se romperem, permitindo assim um tempo de vida útil maior. Além disso, são atérmicos e geram menor consumo energético^(8,51).

A depender das especificações do LED, a foto-estimulação ocasionada por ele atua de diversas formas sobre o mecanismo celular⁽⁷⁾. Atualmente existem relatos do uso do LED em humanos de forma segura e com diferentes finalidades como anti-inflamatórias, bactericidas e fungicidas^(7,11,12). Diante das evidências do uso terapêutico desta luz, A *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou testes clínicos envolvendo seu uso para a cicatrização de feridas em humanos por apresentar mínimos riscos de lesões⁽⁵²⁾.

Quando em comprimentos de onda menores, entre 400 e 470 nm, o LED possui coloração azul e tem como principal função a ação germicida de forma segura, por não ocasionar lesão celular^(10,39). Atualmente estudos demonstram sua aplicabilidade em humanos em região de face para tratamento da acne, em mucosa gástrica para destruição do *H. pylori* e em genitália feminina para tratamento da candidíase vulvovaginal recorrente^(10,11,12).

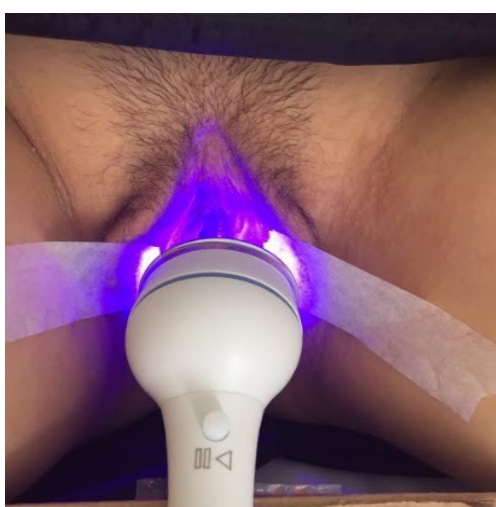


Figura 3- Utilização do Protótipo de Diodo Emissor de Luz Azul
Fonte: Autoria Própria

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) em janeiro de 2017 através do CAAE: 56391416.1.0000.0056 (Anexo 1) e possui registro no Clinical Trials (NCT03075046). As participantes da pesquisa foram devidamente esclarecidas quanto aos objetivos do trabalho, possíveis riscos e benefícios e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice 2), conforme determina a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde em humanos, sendo garantido o sigilo dos dados.

Trata-se de um ensaio clínico fase I, de caráter descritivo, realizado com 10 mulheres entre 18 e 45 anos, com mucosa vaginal saudável. Todas as participantes do estudo estavam em fase de menacme, ou seja, período fértil da vida da mulher e apresentaram resultado de exame de preventivo ginecológico dos últimos 12 meses sem achados patológicos. A seleção das participantes ocorreu por demanda espontânea, através de encaminhamento de serviços de ginecologia e o estudo aconteceu num consultório ginecológico, localizado em um centro médico na cidade de Salvador.

Foram excluídas mulheres com diagnóstico e/ou suspeita de neoplasias, com dificuldade para responder as perguntas da anamnese, doenças neurológicas e/ou psiquiátricas e gestantes. Além disso, foram excluídas aquelas que estavam em uso de antibiótico, corticoides e imunossupressores, ou que iniciassem uso destes durante o estudo. E ainda, aquelas que após a avaliação inicial iniciaram ou interromperam uso de ACO.

Inicialmente as participantes foram submetidas a uma entrevista com uma Fisioterapeuta envolvida no estudo para a obtenção de dados clínicos e sócio-demográficos (Apêndice 1). As mesmas também foram questionadas quanto a alguns hábitos de vida, se estavam ativas sexualmente, isto é, ter tido relação sexual nas últimas quatro semanas, se faziam uso de ACO dentre outros.

Em seguida, as mulheres passaram por exame clínico, realizado em sala privativa, sempre pela mesma profissional. Nesse momento alguns achados em relação a mucosa vaginal foram considerados como padrões de normalidade para critério de inclusão das participantes na pesquisa, sendo eles: a ausência de sinais e sintomas indicativos de patologias como prurido, dor, ardência, disúria, eritema,

fissura, edema, escoriações vulva-útero e corrimento grumoso; o Teste de Hidróxido de Potássio (KOH) deveria estar negativo, isto é, sem exacerbação de odor no momento em que a substância era colocada em contato com a secreção vaginal na lâmina; e a Citologia a Fresco com uso de soro fisiológico para observação da secreção vaginal através de microscópio óptico. Este último exame deveria apresentar células típicas da microbiota vaginal como os *Lactobacillus sp.* e/ou outros bacilos, ausência ou raros leucócitos e ausência de hifas e/ou esporos fúngicos e de bactérias patogênicas.

Após analisados esses critérios, caso os dados encontrados fossem compatíveis com os padrões de normalidade, a participante seria submetida às próximas fases do estudo, como avaliação de pH vaginal feito através de fitas específicas introduzidas no canal vaginal durante 1 minuto e coleta de secreção vaginal para análise de Citologia Oncótica, através de exame Papanicolau com uso da espátula de Ayre (material da ectocérvice) e da escova endocervical (material endocervical). É importante ressaltar que eram considerados achados normais na citologia oncótica a presença de *Lactobacillus sp.* e/ou outros bacilos, inflamação discreta e ausência de atipias celulares.

Nas mulheres saudáveis que seguiram na pesquisa foi utilizado o protótipo de LED azul especificamente desenvolvido para este estudo, com comprimento de onda 401 ± 5 nm, potência de 30 W, média de irradiância de $0,000773 \text{ W/cm}^2$, por 30 minutos. Durante a aplicação da luz a mulher ficou em decúbito dorsal, com joelhos fletidos e quadris em abdução e, para maior conforto da participante, os pés estavam apoiadas na maca. O espéculo utilizado era de tamanho pequeno, no intuito de reduzir risco de desconforto, e o mesmo ficou inserido no canal vaginal e o dispositivo do LED apoiado em tripé, de forma externa e estática, em frente a região vulvovaginal, cerca de 5 cm de distância da mesma. A terapia foi realizada por fisioterapeuta, em ambiente fechado e o protocolo consistiu de apenas uma sessão.

Após um intervalo de 21 a 28 dias, a depender do ciclo menstrual da participante, a mesma passou por nova avaliação similar incluindo entrevista, mensuração de pH vaginal e nova coleta de secreção vaginal para citologia oncótica, para posterior análise dos dados de forma comparativa.

Neste intervalo de dias, caso houvesse alguma queixa ou desconforto, a participante foi orientada a comparecer ao local de pesquisa para consulta ginecológica e, se necessário, receberia os devidos encaminhamentos.

5 ESTATÍSTICA

Em cumprimento a questões éticas, não foi realizado cálculo amostral tendo em vista tratar-se de um ensaio clínico fase I, com finalidade de testar a segurança e efeito do LED azul $401 \pm 5\text{nm}$ em mucosa vaginal saudável. Evidencia-se que esta é uma técnica nova, não utilizada anteriormente em genitália feminina saudável.

Para elaboração do banco de dados e análise descritiva foi utilizado o software *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS), versão 14.0 for Windows. Os resultados foram apresentados por meio de tabelas. As variáveis numéricas foram expressas em média e desvio padrão e as categóricas em valores absolutos.

6 RESULTADOS

Inicialmente foram recrutadas 20 mulheres para participação no estudo. Destas, 10 não participaram do estudo por não atenderem aos critérios de inclusão desta pesquisa. Quatro (4) delas por apresentarem leucócitos numerosos e bacilos supra-citoplasmáticos (sugestivos de *Garnerella/Mobiluncus*) visualizados em citologia a fresco e através do Teste KOH positivo com exacerbação de odor, duas (2) por apresentarem hifas de fungo *Candida sp.* e quatro (4) por constatação de número elevado de leucócitos, ambos vistos na citologia a fresco (Figura 4).

Das 10 participantes incluídas na pesquisa, uma delas foi excluída no momento da reavaliação, pois relatou ter interrompido o ACO que utilizava de forma contínua há quatro anos.

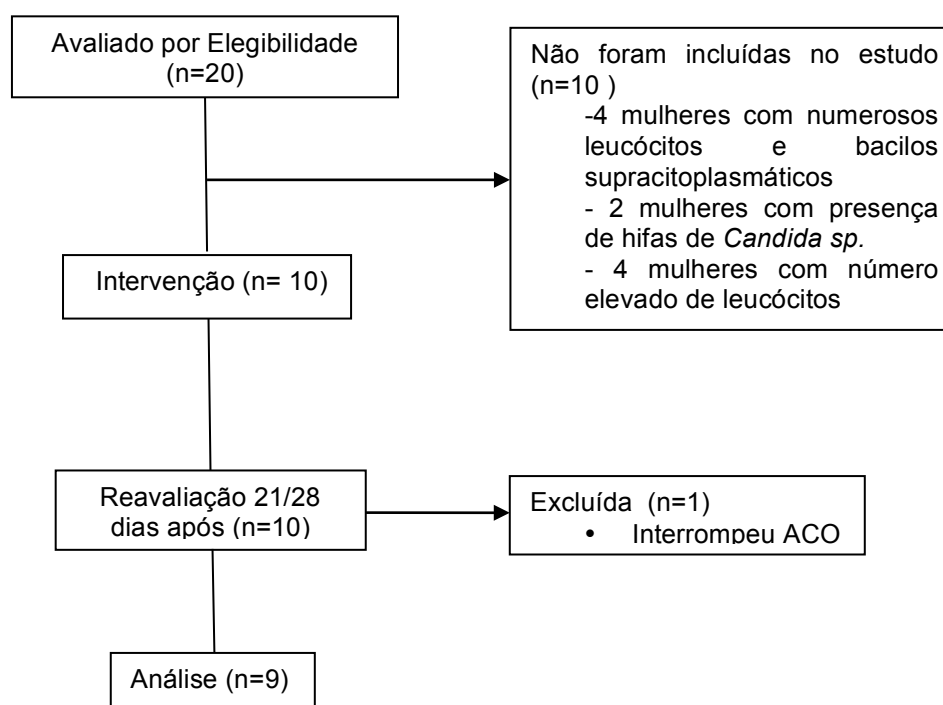


Figura 4- Fluxograma da randomização recomendada pela Consort.

As características sócio-demográficas e os dados ginecológicos encontrados estão descritos na tabela 1. A média de idade da amostra foi de $27 \pm 5,4$ anos, e a média de IMC foi $25,25 \pm 3,05$ kg/m². Além disso, a maior parte das mulheres apresentava ciclo menstrual regular e cinco faziam uso de ACO (Tabela 1).

Tabela 1: Características sócio-demográficas e dados ginecológicos de 10 mulheres submetidas à aplicação da luz de LED azul $401\pm 5\text{nm}$ (Salvador-BA).

CA	Idade	IMC	Uso de ACO	CM	Histórico de VV	G/P/A
1	22	31.2	Não	Regular	Não	0/0/0
2	31	22.4	Sim	Regular	Não	0/0/0
3	25	28.7	Sim	Ausente	Sim	0/0/0
4	25	24.7	Sim	Regular	Sim	0/0/0
5	22	23.3	Sim	Regular	Sim	0/0/0
6	24	24.0	Sim	Ausente	Não	0/0/0
7	21	22.4	Não	Irregular	Não	0/0/0
8	29	27.3	Não	Regular	Sim	0/0/0
9	36	22.2	Não	Regular	Sim	0/0/0
10	35	25.9	Não	Regular	Não	0/0/0

CA = Código de Amostra; IMC= Índice de Massa Corporal; CM= Ciclo Menstrual; VV= Vulvovaginite; G/P/A= Gestação / Parto / Aborto.

Em relação aos hábitos de vida das mulheres envolvidas no estudo (Tabela 2), foi possível perceber que dentre as 5 que estavam sexualmente ativas, 3 delas não faziam uso de preservativo nas relações sexuais. Além disso, a maioria delas não utilizava produtos específicos de higiene e protetores íntimos diários e metade delas fazia uso frequente de absorvente interno.

Tabela 2: Hábitos de vida de 10 mulheres submetidas à aplicação da luz de LED azul $401\pm 5\text{nm}$ (Salvador-BA).

CA	Sexualmente ativa	Preservativo	Uso PID	AI	Local secagem RI	Uso de PHI
1	Não	-	Não	Não	Seco	Não
2	Sim	Sim	Sim	Sim	Úmido	Não
3	Não	-	Não	Sim	Úmido	Não
4	Sim	Não	Não	Sim	Úmido	Sim
5	Sim	Não	Não	Sim	Úmido	Sim
6	Sim	Não	Sim	Não	Seco	Sim
7	Não	-	Não	Não	Úmido	Não
8	Não	-	Não	Sim	Úmido	Não
9	Sim	Sim	Não	Não	Úmido	Não
10	Não	-	Não	Sim	Seco	Sim

CA = Código de Amostra; PID= Protetor Íntimo Diário; AI= Absorvente Interno; RI= Roupas Íntimas; PHI= Produto de Higiene Íntima.

No que se refere aos dados citológicos (Tabela 3), observa-se que em nenhuma das participantes houve modificação patogênica na composição de microflora, sendo mantidos os achados de alterações celulares benignas (inflamação discreta). Quanto ao pH, dentre as 9 participantes mantidas no estudo, 8 apresentaram valores iguais nos dois momentos da avaliação, e 1 apresentou redução (5.0 – 4.0). Uma das participantes apresentava quadro de atrofia vaginal inicialmente e isso se manteve na reavaliação.

Tabela 3: Dados citológicos e químicos de 10 mulheres submetidas à aplicação da luz de LED azul 401± 5nm (Salvador-BA).

CA	pH		Microflora		ACB		Atipia Celular	
	T 1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2
1	4.0	4.0	LB	LB	ID	ID	Ausente	Ausente
2	4.0	4.0	LB +OB	LB+OB	ID	ID	Ausente	Ausente
3	4.0	4.0	LB	LB	ID	ID	Ausente	Ausente
4	5.0	5.0	LB+OB	LB+OB	ID+AT	ID+AT	Ausente	Ausente
5	4.0	-	LB	-	ID	-	-	-
6	4.0	4.0	LB	OB	ID	ID	Ausente	Ausente
7	4.0	4.0	LB	LB	ID	ID	Ausente	Ausente
8	4.0	4.0	LB	LB	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
9	5.0	4.0	LB+OB	LB	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
10	4.0	4.0	LB+OB	LB+OB	ID	ID	Ausente	Ausente

CA= Código de Amostra; T1= Tempo 1; T2= Tempo 2; pH= Potencial Hidrogeniônico; LB= *Lactobacillus sp.*; OB= Outros Bacilos; ACB= Alterações Celulares Benignas; ID= Inflamação Discreta; AT= Atrofia.

Nenhuma das participantes relatou surgimento de efeitos adversos como aquecimento, dor ou desconforto durante e/ou após a exposição ao LED azul 401 ± 5nm e também não foi observado pelo terapeuta o surgimento de eritema na região exposta. Uma das participantes relatou incômodo durante a passagem do espelho pelo canal vaginal, no entanto este episódio foi sanado em poucos segundos com a acomodação do equipamento no local.

7 DISCUSSÃO

O presente estudo trata-se de um ensaio clínico fase I, pioneiro no uso do LED azul 401 ± 5 nm em mucosa vaginal saudável e sugere que esta luz pode ser utilizada em mulheres jovens, tendo em vista que não foram vistos efeitos adversos como aquecimento, dor ou desconforto durante ou após uso da luz. Além disso, não foram observadas modificações patogênicas em microflora vaginal nas participantes envolvidas.

O fato de não ter sido observado nenhum efeito adverso como dor, aquecimento ou desconforto nas participantes durante ou após a aplicação da luz, explica-se pois esta fototerapia é uma modalidade terapêutica não invasiva, atérmica e que possui penetração superficial^(12,41). Alguns estudos já utilizaram a luz azul em humanos em diferentes regiões demonstrando também não haver surgimento de efeitos adversos^(11,12,53).

Em concordância com este estudo, Elman *et al.* (2003) desenvolveram uma pesquisa utilizando o LED azul (405-420 nm), com irradiância variando entre 50 e 200 W/cm², envolvendo 46 participantes com acne. Foram realizadas aplicações da luz em região de face e não houve surgimento de efeitos adversos, nem relato de dor ou desconforto em nenhum dos participantes⁽⁵³⁾.

Da mesma forma, Morton *et al.* (2005) utilizaram a luz azul (409-419 nm) em 30 pacientes com acne facial e não observaram efeitos adversos como dor ou elevação de temperatura em nenhum deles. Neste estudo observou-se reações auto limitadas às lesões que variaram de leve vermelhidão logo após o tratamento em 16 (53%) dos participantes, secura de pele em 4 (13%) e prurido leve em 5 (16%) deles. Essas reações podem ser justificadas pela característica inflamatória das áreas lesionadas e pela interação do LED azul com a bactéria presente na acne⁽⁵⁴⁾.

No presente estudo não houve relato de efeitos adversos secundários a exposição à luz azul, apenas uma participante referiu incômodo durante a passagem do espécuro pelo canal vaginal. Acredita-se que este fato pode ser explicado pelo relaxamento incompleto da musculatura perineal durante introdução do dispositivo, tendo em vista que essa queixa é comum entre as mulheres que passam por exames de preventivo, sendo inclusive em alguns casos, uma justificativa para a não realização do mesmo de forma periódica. Além disso, normalmente não são utilizados lubrificantes na realização desse exame para evitar possíveis alterações

no resultado e a reduzida lubrificação local durante a passagem do espelho ocasionada pelo próprio estado de tensão durante a avaliação podem justificar o acontecimento do incômodo⁽⁵⁵⁾.

O mecanismo de ação do LED se dá por fotobiomodulação, isto é estímulo a células locais, promovendo ativação das mesmas e regularizando seu funcionamento, com mínimo de efeitos adversos. Além disso, esta luz é considerada benigna para exposição em humanos quando utilizadas em comprimento de onda e irradiância adequadas, com aprovação inclusive pela FDA^(39,52). Essas características da luz podem embasar o fato de não terem sido observadas modificações patogênicas na microflora vaginal das participantes do estudo.

Sabe-se que pelo mecanismo universal de fotoativação, a luz de LED é capaz de promover proliferação celular, maior produção de ATP e aumento da vascularização local^(8,46). As participantes envolvidas neste estudo tinham mucosa vaginal saudável e mantiveram essas características com confirmação na reavaliação. Acredita-se que mesmo que tenha ocorrido ativação celular local por ação da luz, foi mantido o equilíbrio da microbiota vaginal, sem surgimento de alterações patológicas ou atípicas.

Corroborando com este estudo, Kleipenning *et al.* (2010) desenvolveram um estudo piloto envolvendo pessoas saudáveis. Oito indivíduos com pele sem alterações foram expostos a fototerapia com luz azul (380-480nm) durante cinco dias consecutivos, com irradiância diária de 20 J/cm². Através de biopsia comparativa de antes e depois da aplicação, foi possível observar que não houve surgimento de células inflamatórias, queimaduras e danos ao DNA. Foram observadas a presença de melanogênese transitória em um participante e maior vascularização temporária sem conseqüente apoptose nos demais, o que permitiu sugerir que o uso da luz azul em pele humana durante curto espaço de tempo é seguro⁽⁵⁶⁾.

Ganz *et al.* (2005) desenvolveram uma pesquisa com utilização de luz azul 405 ± 2nm, com irradiância de 40J/cm², em pacientes sintomáticos com diagnóstico de *Helicobacter pylori* em região de estômago. Esses autores também não encontraram efeitos adversos em conseqüência à exposição da luz azul. Além disso, não foram observadas alterações histológicas quando comparadas às biopsias realizadas antes e após a terapia em áreas expostas e não expostas à luz⁽¹¹⁾.

Em 2017 foi realizado um relato de caso com uma participante com

diagnóstico de Candidíase Vulvovaginal Recorrente (CVVR) na qual foram aplicadas três sessões de LED azul (401 ± 5 nm) em região vaginal. No estudo não foram observados efeitos adversos durante ou após uso da luz e também não foram observadas alterações celulares sugestivas de malignidade nos exames de citologia oncológica antes e três meses após o tratamento⁽¹²⁾. O estudo demonstra que não houve variação em células típicas da microbiota vaginal. Acredita-se que este achado pode ser justificado pois a luz de LED atua por fotobiomodulação regularizando a ação celular, como as células saudáveis estavam em pleno funcionamento, as mesmas não sofreram modificações secundárias à terapia⁽⁴⁶⁾.

No presente estudo, todas as participantes mantiveram composição de microflora vaginal saudável, o que sugere que o LED azul 401 ± 5 nm não oferece riscos ao equilíbrio do ecossistema vaginal saudável. As alterações da flora vaginal observadas em duas participantes deste estudo podem ser explicadas não especificamente como uma mudança dos tipos de bacilos, pois estes poderiam já estar presentes e não terem sido visualizados no exame de citologia oncológica inicial por não serem os mais prevalentes. Além disso, estas variações são consideradas normais tendo em vista que fatores endógenos e exógenos exercem influência direta nas flutuações do ecossistema vaginal e estes não são compostos exclusivamente por *Lactobacillus sp.*, mas por diferentes tipos de bacilos^(1,2,57).

Dentre os fatores que podem causar flutuações fisiológicas na composição da microflora vaginal, pode-se citar, por exemplo, o intercuro sexual. Através do próprio atrito que ocorre na mucosa durante ato sexual existe a possibilidade de surgirem microtraumas que podem levar a mudanças nas características locais. Além disso, caso não seja usado preservativo, o próprio contato da mucosa vaginal ácida com o sêmen que tem características alcalinas pode gerar mudanças ou, no caso do uso do preservativo, o contato da mucosa com os componentes químicos do mesmo, também pode favorecer flutuações na composição da microflora vaginal^(1,58,59).

Uma das participantes que apresentou modificação nos achados de microbiota fazia uso de produtos específicos de higiene íntima e protetores diários com frequência, o que também pode ocasionar variações na composição do ecossistema vaginal e em alguns casos até interferir na saúde local^(34,60). A outra participante que apresentou variação na composição da microbiota vaginal não fazia uso de ACO e tinha ciclo menstrual regular, esses fatores também podem ser

responsáveis por oscilações hormonais importantes ao longo do ciclo e consequentemente interferir na composição da microbiota vaginal⁽²⁾.

Em todas as participantes foi possível observar manutenção do quadro de inflamação discreta quando comparados os dois momentos de avaliação pela citologia oncológica. Esse achado é considerado normal e típico de mucosa vaginal saudável e o mesmo pode ser justificado pelo próprio ato sexual ou oscilações hormonais que podem levar a presença de processo inflamatório discreto^(57,59).

A maioria das participantes do estudo mantiveram valores de pH vaginal iguais quando comparados os dois momentos de avaliação e apenas uma delas apresentou redução no valor de pH (5.0 – 4.0). Esse achado configura-se com uma adequação do valor de pH vaginal, pois são considerados normais valores entre 3.8 e 4.5, e caracteriza-se como um fator protetor do meio vaginal contra infecções por patógenos devido sua característica ácida^(5,58,61). Estudos anteriores não correlacionam essa modificação no valor de pH com o uso do LED azul 401± 5nm, porém, sabe-se que as oscilações na acidez da região podem ocorrer de forma fisiológica estando relacionados com a manutenção do equilíbrio da flora vaginal.

8 LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS DO ESTUDO

Pode-se citar como limitações do estudo a ausência da investigação sobre o período do ciclo menstrual das participantes nas datas das avaliações, tendo em vista que este pode ser um fator de interferência na composição da microflora vaginal.

Este estudo sugere que o LED azul 401 ± 5 nm pode ser uma possível alternativa para o tratamento de disfunções vulvovaginais, porém há a necessidade de estudos posteriores utilizando esta luz em mulheres com patologias em trato geniturinário para verificação do efeito em relação às disfunções. Existe também a perspectiva de avaliação de dados específicos de imunidade local da vagina em mulheres submetidas ao LED azul 401 ± 5 nm para avaliação de possíveis efeitos quanto a este aspecto.

O Grupo de Pesquisa envolvido no desenvolvimento desta pesquisa está executando novas fases de ensaios clínicos dando continuidade aos esclarecimentos acerca da resposta do LED azul 401 ± 5 nm em mucosa vaginal feminina.

9 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que a utilização do LED azul 401 ± 5 nm em mucosa vaginal saudável de mulheres jovens não ocasionou mudanças patogênicas em microflora e em valores de pH vaginal. Além disso, não foi observado surgimento de efeitos adversos como dor, aquecimento ou incômodo durante ou após uso da luz nas participantes.

Sugere-se assim a utilização do LED azul 401 ± 5 nm para verificação dos efeitos da luz em agentes patogênicos vulvovaginais.

REFERÊNCIAS

1. Giraldo PC, Amaral RLG, Gonçalves AK, Vicentini R, Martins CH, Giraldo H, et al. Influência da frequência de coitos vaginais e da prática de duchas higiênicas sobre o equilíbrio da microbiota vaginal. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2005; 27(5): 257-62.
2. Linhares IM, Giraldo PC, Baract EC. Novos conhecimentos sobre a flora bacteriana vaginal. *Rev Assoc Med Bras.* 2010; 56(3): 370-4.
3. Mills BB, Vaginitis: Beyond the basics. *Obstet Gynecol Clin.* 2017; 44:159–177.
4. Brolazo EM, Simões JA, Nader MEF, Tomás MSJ, Gregoracci GB, Marconi C. Prevalência e caracterização de espécies de lactobacilos vaginais em mulheres em idade reprodutiva sem vulvovaginites. *Ver Bras Ginecol Obstet.* 2009;31(4):189-95.
5. Feuerschuette OTM, Silveira SK, Feuerschuette I, Corrêa T, Grando L, Trepani A. Candidíase vaginal recorrente: manejo clínico. *Femina.* 2010;38(2):31-36
6. Estrela JV, Duarte CCF, Almeida DNA, Araruna VR, da Silva RMV, Cavalcanti RL, et al. Efeito do LED na flacidez tissular facial. *Catussaba.* 2014; 3(2): 29-36.
7. Meyer PF, Sc D, Araújo HG De, Goretti M, Carvalho F, Ingrid B, et al. Assessment of effects of LED on skin wound healing in Wistar rats. 2010;11:428–32.
8. Agnes JE. *Eu sei eletroterapia.* 2 ed. Santa Maria: Pallotti, 2011.
9. Murdoch LE, McKenzie K, Maclean M, MacGregor SJ, Anderson JG. Lethal effects of high-intensity violet 405-nm light on *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, and on dormant and germinating spores of *Aspergillus niger*. *Fungal Biol [Internet].* 2013;117(7-8):519–27.
10. Maclean M, McKenzie K, Anderson JG, Gettinby G, MacGregor SJ. 405 nm light technology for the inactivation of pathogens and its potential role for environmental disinfection and infection control. *J Hosp Infect.* 2014; 88(1):1-11.
11. Ganz RA, Viveiros J, Ahmad A, Ahmadi A, Khalil A, Tolkoff MJ, et al. *Helicobacter pylori* in patients can be killed by visible light. *Lasers Surg Med.* 2005 Apr; 36(4): 260-5.
12. Robatto M, Pavie MC, Tozetto S, Brito MB, Lordêlo P. Blue light emitting diode in treatment of recurring vulvovaginal candidiasis: a case report. 2017;5(4):162-168. doi: 17267/2317-3386bjmhh.v5i4.1472.
13. Moore KL, Dalley AF, Agur AMR. . *Anatomia orientada para clínica.* 6ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2007.
14. Dangelo JG, Fattini CA. *Anatomia humana básica.* 2ª edição. São Paulo: Atheneu; 2006.
15. Gray CH. *Gray Anatomia.* 29º edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1988.

16. Gonçalves AKS, Maranhão TMO, Azevedo GD, Giraldo PC, Junior Eleutério J, Silva MJPM. Microbiota vaginal – manejo das vulvovaginites no climatério. *Femina*. 2008 Jun; 36(6): 345-52.
17. Junqueira LC, Carneiro JC. *Histologia Básica*. 8ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1995.
18. Priestley CJF, Jones BM, Dhar J, Goodwin L. What is normal vaginal flora? *Genitourin Med* 1997;73:23-28.
19. Xia Z, Bent ST, Schneider MG, Davis CC, Islam MR, Forney LJ. Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods. *Microbiology* (2004), 150, 2565–2573.
20. Tarleton J, Haddad L, Achilles SL. Hormonal Contraceptive Effects on the Vaginal Milieu: Microbiota and Immunity. *Curr Obstet Gynecol Rep* (2016) 5:20–29.
21. Van de Wijgert JH, Borgdorff H, Verhelst R, Crucitti T, Francis S, Verstraelen H, *et al*. The vaginal microbiota: what have we learned after a decade of molecular characterization? *PLoS One*. 2014;9(8),e105998.
22. Mirmonsef P, Modur S, Burgad D, Gilbert D, Golub ET, French AL, *et al*. Exploratory comparison of vaginal glycogen and *Lactobacillus* levels in premenopausal and postmenopausal women. *Menopause*. 2015;22(7):702–9.
23. Eschenbach DA, Thwin SS, Patton DL, Hooton TM, Stapleton AE, Agnew K, *et al*. Influence of the Normal Menstrual Cycle on Vaginal Tissue, Discharge, and Microflora. *Clinical Infectious Diseases* 2000;30:901–7.
24. Castelo-Branco C, Cancelo MJ, Villero J, Nohales F, Julia MD. Management of post-menopausal vaginal atrophy and atrophic vaginitis. *Maturitas*. 2005; 15(52):46-52.
25. Gondo DCAF, Duarte MTC, Silva MG, Parada CMGL. Alteração de flora vaginal em gestantes de baixo risco, atendidas em serviço público de saúde: prevalência e associação à sintomatologia e achados do exame ginecológico. *Rev. Latino-Am. Enfermagem*. 2010; 18(5): 1-9.
26. Giraldo PC, Simões JA, Duarte G. Doenças sexualmente transmissíveis. In: Neme B. *Obstetrícia básica*. São Paulo (SP): Sarvier; 2000. p. 481-503.
27. Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia (FEBRASGO). *Comissões Nacionais Especializadas Ginecologia e Obstetrícia. Manual de orientação: Anticoncepção*. Rio de Janeiro: FEBRASGO; 2015.
28. Galzone RM, Rafie S, Teal R, Mody SK. Transdermal delivery of combined hormonal contraception: a review of the current literature. *Int J Health*. 2017; 15: 9: 315-321.

29. Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia (FEBRASGO). Comissões Nacionais Especializadas Ginecologia e Obstetrícia. Manual de orientação: doenças infectocontagiosas. Rio de Janeiro: FEBRASGO; 2010. Capítulo 57: Doenças Infectocontagiosas; p. 61-67.
30. Pereira ALC, Bolzani FCB, Stefani M, Charlín R. Uso sistêmico de corticosteroides: revisão de literatura. *Med Cutan Iber Lat Am* 2007;35(1):35-50.
31. Akimoto-Ghunter L, Mendonça PSB, Takahachi G, Irie MMT, Miyamoto S, Consolaro MEL, *et al.* Highlights Regarding Host Predisposing Factors to Recurrent Vulvovaginal Candidiasis: Chronic Stress and Reduced Antioxidant Capacity. *PLoS One*. 2016; 11(7): e0158870.
32. Cribby S, Taylor M, Reid G. Vaginal microbiota and the use of probiotics. *Interdiscip Perspect Infect Dis*. 2008;2008:256490.
33. Giraldo P, Neuer A, Ribeiro-Filho A, Linhares I, Witkin SS. Detection of the human 70-kD and 60- kD heat shock proteins in the vagina: relation to microbial flora, vaginal pH, and method of contraception. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 1999;7(1-2):23-5.
34. ZLK Jármy-Di Bell, Araujo MP, Martins KDF, Zucchi EVM, Girão MJBC, Sartori MGF. O uso de sabonetes íntimos femininos. *Femina*. 2009; 37(4): 229-35.
35. Cordeiro SN, Giraldo PC, Sabatino JH, Fonsechi-Carvasan GA, Turato ER. Vulvovaginites recorrentes: uma doença psicossomática? *dst – J bras Doenças Sex Transm* 16(1):45-51, 2004.
36. Brotman RM, Xin H, Gajer P, Fadrosh D, Sharma E, Mongodin FE. Association between cigarette smoking and the vaginal microbiota: a pilot study. *BMC Infectious Diseases* .2014; 14:471.
37. Ministério da Saúde. Coordenação Nacional de DST e AIDS. Política para o controle das doenças sexualmente transmissíveis no Brasil. Brasília: Secretaria de Políticas de Saúde; 2001.
38. Ministério da Saúde. Programa Nacional de DST e AIDS. Prostitutas debatem profissionalização[documento da internet]. Rio de Janeiro; 2003 [citado em 25 set 2004]. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/final/novidades/prostitutas.asp>.
39. Inamura T, Tatehara S, Takebe Y, Tokuyama R, Ohshima T, Maeda N, *et al.* Antibacterial and Antifungal Effect of 405 nm Monochromatic Laser on Endodontopathogenic Microorganisms. 2014.
40. Duarte I, Buense R, Kobata C. Fototerapia. *An Bras Dermatol*. 2006;81(1):74-82.
41. Dourado KBV, Junior Carnevali LC, de Paulo RJF. Ledterapia: uma nova perspectiva terapêutica ao tratamento da doenças de pele, cicatrização de feridas e reparação tecidual. *Ensaio e ciência: ciências agrárias, biológicas e da saúde*. 2011; 15 (6): 231-248.

42. Roelandts R. The history of phototherapy: Something new under the sun? *J AM Acad Dermatol.* 2002;46:926-30.
43. Barth J, Köhler U. Photodermatologie in Dresden–ein historischer Abriss. Festschrift anlässlich des 75. Geburtstages von Prof. Dr. Dr. Dr. h.c. H.-E. Kleine-Natrop (1917-1985). Dresden:1992.
44. Martins BMR. Avaliação da eficácia terapêutica de uma nova modalidade de fototerapia utilizando diodo emissor de luz – led. [especialização]. Rio de Janeiro:Fundação Oswaldo cruz; 2006.
45. Bashkatov AN, Genina EA, Kochubey VI, Tuchin VV. Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000nm. *J. Phys. D: Appl. Phys.* (38) 2543–2555, 2005.
46. Karu T. Photobiological Fundamentals of Low-Power Therapy. *IEEE Journal of Quantum Electronics*, New York, v. 23, n. 10, p. 1703-1717, 1987.
47. Vink E, Cagnie BJ, Cornelissen MJ, Declercq HÁ, Cambier DC. Increased fibroblast proliferation induced by light emitting diode and low power laser irradiation. *Lasers in medical science*, London, v. 18, n.2, 99-95.
48. Karu T, Andreichuk T, Ruabykh T. Changes in oxidative metabolism of murine splenn following diode laser (660-950 nm) irradiation: effect of cellular composition and radiation parameters. *Lasers in Surgery and Medicine*, New York, v. 13, n. 4, p. 453-462, 1993.
49. Karu T. Low-Power Laser Therapy. In: VODINH, T. *Biomedical photonics handbook*. Boca Raton: CRC Press, 2003. p. 1-25. cap. 48.
50. Karu, T, Kolyakov S. F. Exact Action Spectra for Cellular Responses Relevant to Phototherapy. *Photomedicine and Laser Surgery*, Larchmont, v. 23, n.4, p. 355-361, 2005.
51. Corazza AV. Fotobiomodulação comparativa entre laser e led de baixa intensidade na angiogenese de feridas cutâneas de ratos. [mestrado] São Paulo. 2005.
52. Whelan HT, Smits RL Jr, Buchman EV, Whelan NT, Turner SG, Margolis DA, *et al.* Effect of NASA light-emitting diode irradiation on wound healing. *J Clin Laser Med Surg.* 2001 Dec;19(6):305-14.
53. Elman M, Slatkine M, Harth Y. The effective treatment of acne vulgaris by a high-intensity, narrow band 405–420 nm light source. *J Cosmetic & Laser Ther.* 2003; 5: 111–116.
54. Morton CA, Scholefield RD, Whitehurst C, Birch J. An open study to determine the efficacy of blue light in the treatment of mild to moderate acne. *J Dermatolog Treat.* 2005;16:219–223.

55. Silva JB, David SD, Zalc JM, Lippi UG, Baracat FF, Lopes RGC. Influência da lubrificação do espéculo vaginal na interpretação da colpocitologia oncótica. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 2005; 27(6): 347-52.
56. Kleinpenning MM, Smits T, Frunt MH, van Erp PE, van de Kerkhof PC, Gerritsen RM. Clinical and histological effects of blue light on normal skin. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2010 Feb;26(1):16-21.
57. Consolaro MEL, Engler SSM. *Citologia clínica cérvico-vaginal*. 1º edição. São Paulo: Roca; 2012.
58. Borges S, Silva J, Teixeira P. The role of lactobacilli and probiotics in maintaining vaginal health. *Arch Gynecol Obstet.* 2013.
59. Koss LG, Gompel C. *Introdução a citopatologia ginecológica com correlações histológicas e clínicas*. 1ª edição. São Paulo: Rocca; 2006.
60. Piassaroli VP. *Higiene e cuidados com a genitália de mulheres na menacme: estudo de base-populacional*[Doutorado em ciências da saúde]- Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas –UNICAMP: São Paulo;2014.
61. Donders GG. Definition and classification of abnormal vaginal flora. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology* Vol. 21, No. 3, pp. 355–373, 2007.

APÊNDICES

Apêndice 1 - Ficha Clínica e sócio demográfica

1. Código de Identificação da Amostra: _____
2. Data de Nascimento: _____
3. Índice de massa corpórea: _____

4. Escolaridade:
() 1. Ensino Fundamental () 2. Ensino Médio () 3. Ensino Superior Incompleto
() 4. Ensino Superior Completo () 5. Especialização

5. Renda mensal:
() 1. 1 Salário Mínimo () 2. até 2 Salários Mínimos () 3. até 3 Salários Mínimos
() 4. 4 Salários Mínimos () 5. 5 ou mais Salários Mínimos

6. Estado civil:
() 1. Solteira () 2. Casada () 3. Divorciada () 4. Viúva

7. Diabetes:
() 1. Sim () 2. Não

8. HAS:
() 1. Sim () 2. Não

9. Cardiopatia:
() 1. Sim () 2. Não

10. Doenças da tireóide:
() 1. Sim () 2. Não Qual?.....

11. Histórico de neoplasia:
() 1. Sim () 2. Não
12. Histórico de epilepsia:

()1. Sim ()2. Não

13. Déficit cognitivo:

()1. Sim ()2. Não

14. Doenças neurológicas ou psiquiátricas:

()1. Sim ()2. Não

15. Gestante no momento:

()1. Sim ()2. Não

16. Gestações: _____ Parto: _____ Aborto: _____

17. Tipos de Parto:

1. Cirúrgico _____ 2. Vaginal _____

18. Cirurgias em região perineal:

()1. Sim ()2. Não ()1.1. Há menos de 5 anos ()1.2. Há mais de 5 anos

19. Infecção ativa em região vaginal:

()1. Sim ()2. Não

20. Já apresentou algum episódio de CVV?

()1. Sim ()2. Não

21. Ciclo menstrual:

()1. Regular ()2. Irregular

22. Menopausa:

()1. Sim ()2. Não

23. Uso de Anticoncepcional Oral:

()1. Sim ()2. Não Qual?

24. Uso de algum método contraceptivo?

() 1. Sim () 2. Não Qual?.....

25. Uso de Antibiótico:

() 1. Sim () 2. Não Tópico – região vaginal () sistêmico ()

26. Uso de Corticóide:

() 1. Sim () 2. Não Tópico – região vaginal () sistêmico ()

27. Uso de imunossupressores

() 1. Sim () 2. Não

28. Terapia de reposição hormonal

() 1. Sim () 2. Não

29. Infecção por HIV

() 1. Sim () 2. Não

30. Sexualmente ativa:

() 1. Sim () 2. Não

31. Parceiro sexual fixo:

() 1. Sim () 2. Não

32. Protetor íntimo diário:

() 1. Sim () 2. Não

33. Produto de higiene íntima:

() 1. Sim () 2. Não

34. Uso de roupas íntimas justas e/ou sintéticas

() 1. Sim () 2. Não

35. Se considera estressada, ansiosa, deprimida?

()1. Sim ()2. Não Qual?

36. Dieta alimentar muito ácida:

()1. Sim ()2. Não

37. Dieta rica em açúcar:

()1. Sim ()2. Não

38. Terapia com lactobacilos

()1. Sim ()2. Não

39. Uso frequente de iogurte

()1. Sim ()2. Não

40. Local de Secagem da Calcinha:

()1. Banheiro ()2. Varal em Local Arejado

41. Sentido da Higienização vaginal:

()1. Vagina-ânus ()2. Ânus- vagina

42. Resíduo de fezes na calcinha:

()1. Sim ()2. Não

43. Contato com alérgeno ou irritantes da genitália:

()1. Sim ()2. Não

44. Quatro episódios ou mais de Candidíase Vulvovaginal em um ano:

()1. Sim ()2. Não

Sinais e Sintomas:

a. Prurido: ()1. Sim ()2. Não - ()1. Melhor ()2. Pior ()3. Inalterado

- b. Leucorreia: ()1. Sim ()2. Não - ()1. Melhor ()2. Pior ()3. Inalterado
- c. Dor: ()1. Sim ()2. Não - ()1. Melhor ()2. Pior ()3. Inalterado
- d. Ardência: ()1. Sim ()2. Não - ()1. Melhor ()2. Pior ()3. Inalterado
- e. Disúria: ()1. Sim ()2. Não - ()1. Melhor ()2. Pior ()3. Inalterado
- f. Dispareunia: ()1. Sim ()2. Não - ()1. Melhor ()2. Pior ()3. Inalterado
- g. Eritema vulvar: ()1. Sim ()2. Não - ()1. Melhor ()2. Pior ()3. Inalterado
- h. Fissura vulvar: ()1. Sim ()2. Não - ()1. Melhor ()2. Pior ()3. Inalterado
- i. Edema vulvar: ()1. Sim ()2. Não - ()1. Melhor ()2. Pior ()3. Inalterado
- j. Escoriações vulva/útero: ()1. Sim ()2. Não - ()1. Melhor ()2. Pior ()3. Inalterado
- k. Corrimento grumoso, sem odor ()1. Sim ()2. Não - ()1. Melhor ()2. Pior ()3. Inalterado

-Diagnóstico de Candidíase Vulvovaginal por citologia a fresco com KOH 10%:

()1. Sim ()2. Não

-pH vaginal:

Antes:

Depois:

Variáveis citológicas

Citologia a fresco:

Normal () Não Normal ()

Citologia Oncótica:

Normal () Não Normal ()

Efeitos Adversos

Durante a aplicação da luz:

Não () Sim ()

Após a aplicação da luz:

Não () Sim ()

Apêndice 2- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TÍTULO DO PROJETO DE PESQUISA: USO DO DIODO EMISSOR DE LUZ AZUL NO TRATAMENTO DE MULHERES COM CANDIDÍASE VULVOVAGINAL: UM ENSAIO CLÍNICO

Pesquisadora responsável: Patrícia Lordelo, Sibebe Tozetto e Milena Bastos.

A senhora está sendo convidada para participar, como voluntária, de uma pesquisa. Após ser esclarecida sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma via ficará com a senhora e a outra ficará com a pesquisadora. Em caso de recusa, você não será penalizada de forma alguma.

A senhora foi escolhida por apresentar queixa clínica de candidíase vulvovaginal que consiste em uma infecção na região da vulva e vagina, que causa principalmente sensação de prurido, ou seja, "coceira". Além disso, causa corrimento, vermelhidão, inchaço, dor ao urinar e dor durante a relação sexual.

Trata-se de uma pesquisa que tem como objetivos: 1) avaliar a resposta clínica e microbiológica do LED azul 405 nm no tratamento de mulheres com candidíase vulvovaginal; 2) avaliar a resposta clínica e microbiológica do LED azul 405 nm no tratamento de mulheres com trato geniturinário inferior saudável; 3) isolar e identificar amostras de cândida a partir da secreção vaginal de pacientes com candidíase vulvovaginal. 4) Investigar o perfil epidemiológico das pacientes com candidíase vulvovaginal tratadas com LED azul 405 nm. Isto é, nas mulheres que têm candidíase vulvovaginal será verificado se o LED azul de 405 nm é capaz de destruir os fungos causadores da doença e melhorar as queixas apresentadas, e serão identificados os tipos de fungo encontrados nas amostras da secreção vaginal. No caso das mulheres sem a doença, será verificado se o LED causa alguma alteração na região vaginal. Além disso, através deste estudo traçaremos o perfil epidemiológico de pacientes tratadas com LED azul 405 nm, ou seja vamos querer conhecer a média de idade dessas pacientes, seu estado civil, escolaridade, dentre outras questões.

É importante deixar claro que existem estudos que comprovam que o LED azul de 405 nm foi capaz de destruir fungos e bactérias na região de estômago e rosto, porém o estudo em região íntima não existe, e essa é uma pesquisa pioneira.

Neste estudo existirão dois grupos, um formado pelas mulheres que têm queixa de candidíase vulvovaginal e outro formado por mulheres saudáveis, sem queixa e sem infecção na região, em ambos os grupos será utilizado o mesmo protocolo de tratamento com o LED azul de 405 nm. No grupo que tem a infecção na vagina será avaliado se foi possível destruir o fungo e melhorar as queixas; e no grupo com vagina saudável serão avaliadas se aconteceram alterações como por exemplo mudança no nível de pH, ou seja nível de acidez do meio vaginal.

A senhora passará por uma entrevista com a ginecologista e responderá perguntas como idade, ocupação, escolaridade, além de algumas questões como por exemplo, se está grávida, se tem problema cardíaco, se tem “coceira” na região da vagina, se tem dor ao urinar e na relação sexual, dentre outras. Essas perguntas serão respondidas pela senhora antes do tratamento, imediatamente após concluir o mesmo e três meses depois do tratamento, para que sejam comparadas as respostas.

Em seguida, a senhora passará por um exame clínico ginecológico, que será realizado em sala fechada, sempre pela mesma ginecologista. Neste momento, caso a médica suspeite de alguma infecção que não seja candidíase vulvovaginal a senhora será excluída do estudo, não fazendo mais parte dos dados da pesquisa, mas receberá toda a orientação necessária, será feito um exame preventivo, feitas solicitações de outros exames e prescrito tratamento, caso necessário.

Caso a senhora tenha candidíase vulvovaginal irá continuar na pesquisa para realização de alguns exames como da citologia a fresco, avaliação do Ph e cultura específica do fluido vaginal. Esses exames são feitos apenas com a coleta da secreção da região da vagina e enviado para um laboratório que irá analisar e dar os resultados.

Será então aplicado o LED azul 405 nm, especialmente desenvolvido para a pesquisa, com o eletrodo no canal vaginal, de forma parada. O tratamento consistirá de uma a três sessões. A senhora estará sem roupa, usando apenas um avental, em uma sala fechada, com pernas dobradas e um pouco abertas. Na sala, estará com a senhora uma fisioterapeuta especialista em saúde da mulher, que fará a aplicação da luz.

Após a sessão, o eletrodo será enviado para esterilização, ou seja, para limpeza do material. No intervalo desses dias sem tratamento, caso a senhora tenha alguma queixa em relação a região genital, deverá comparecer ao AGIO- Assistência

Ginecológica e Obstétrica que se localiza no Complexo Odontomédico do Itaipara, Edifício Louis Pasteur, sala 704, para consulta médica e se necessário receberá o remédio fluconazol oral, dose única, que é considerado o melhor tratamento usado atualmente.

Se a senhora não tiver nenhuma infecção na vagina, vai entrar para o grupo de mulheres com região genital saudável e vai passar pelo mesmo protocolo de tratamento pra avaliar as possíveis alterações na região vulvovaginal.

A avaliação será feita de forma comparativa, por isso há três momentos de exame ginecológico, e será feita pela médica e pela senhora. A ginecologista vai avaliar se a região está vermelha, inchada, com corrimento, ou com manchas na região da vagina e útero; e a senhora vai dizer se está sentindo dor ao urinar, dor durante a relação sexual e "coceira". Nas próximas avaliações a ginecologista vai avaliar se as alterações continuam ou desapareceram e a senhora vai dizer se suas queixas continuam ou desapareceram e; se continuam, vai informar se está melhor, pior ou não houve mudança.

Os possíveis riscos são leve aquecimento e vermelhidão da região genital que permanecem apenas durante a aplicação da luz. Qualquer incômodo ou desconforto deverá ser avisado para a profissional para que seja suspenso o tratamento e para que a senhora seja encaminhada a uma médica dermatologista e/ou prescrito tratamento pela ginecologista. Caso necessário, os atendimentos e todo o tratamento serão sem custos para a senhora.

Além dos riscos citados, pode haver ainda a situação de constrangimento ou vergonha, onde a senhora pode se sentir incomodada em participar do estudo devido à exposição da sua região genital. Nesse caso, a senhora pode também parar o tratamento sem sofrer nenhuma punição por isso. É importante esclarecer que o risco de constrangimento será diminuído, pois todas as fases do estudo, incluindo as respostas às questões, a avaliação, e todo o tratamento e serão feitas em uma sala fechada, sem nenhuma janela ou área de vidro, de modo que outras pessoas não possam ver o interior da sala, nem entrar nela. Além disso, as sessões do tratamento serão feitas por uma única profissional, do sexo feminino, que acompanhará a senhora durante todo o tratamento, que já atua na área e tem grande experiência.

Ainda assim, caso haja algum tipo de necessidade de encaminhamento a terapia psicológica durante qualquer fase do estudo, incluindo a aplicação dos questionários,

durante o tratamento, ou após a conclusão deste, a senhora será encaminhada para o acompanhamento com psicólogas do mesmo grupo de pesquisa que está desenvolvendo este estudo. Todo tratamento será feito no mesmo local e também gratuito sem nenhum ônus para a senhora.

Ressaltamos que não haverá identificação dos seus dados pessoais, pois serão de natureza confidencial, usados unicamente para fins de pesquisa. Além disso, todos os arquivos com dados da pesquisa, de natureza física ou digital, como por exemplo, termos de consentimento e fichas clínicas, serão guardados pelos pesquisadores responsáveis pela pesquisa, sob total sigilo e segurança por um período de 5 anos. Todo esse material ficará guardado na AGIO- Assistência ginecológica e obstétrica onde serão coletados os dados da pesquisa, no Edifício Louis Pasteur localizado no Complexo Odontomédico Itaipara, sala 704, em armário fechado com chave que apenas a pesquisadora responsável possui, e caso queiram, os participantes poderão ter acesso aos arquivos.

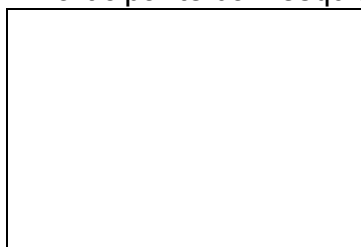
Estamos à disposição para esclarecer qualquer dúvida. A senhora pode sair da pesquisa a qualquer momento, sendo sua privacidade preservada e nenhum dano irá acontecer por isso.

Asseguramos que seu tratamento será mantido mesmo que a senhora desista de permanecer no estudo, mas queira continuar fazendo as sessões de tratamento.

Eu, _____, declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios da pesquisa e autorizo minha participação, bem como divulgação das fotografias realizadas, para fins de pesquisa, sem divulgação da minha identidade.

Salvador, ___de _____ de 20___.

Participante da Pesquisa



Impressão Digital

Responsável pela Pesquisa

Em caso de denúncia ou dúvida, entrar em contato com:

Comitê de Ética em Pesquisa - UFRB

Endereço: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Rua Rui Barbosa, 710, Centro, Cruz das Almas, CEP: 44380-000, Cruz das Almas/BA.

Telefone: (75) 3621-6850

Assistência Ginecológica e Obstétrica- AGIO

Endereço: Avenida Antônio Carlos Magalhães, 585, Edifício Louis Pasteur, Complexo Odontomédico Itaipara, sala 704, Itaipara, CEP: 41825-000, Salvador/Ba.

Telefone: (71) 3353-3549

Pesquisadoras responsáveis:

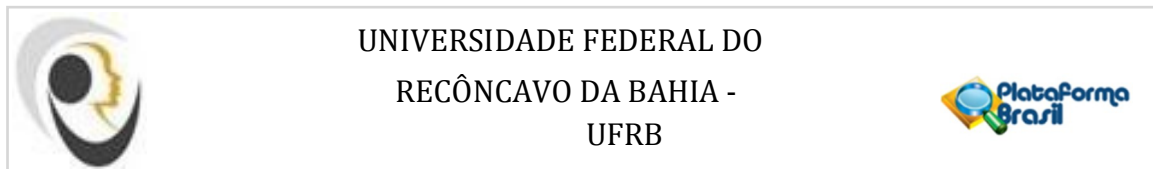
Patricia Lordêlo: **(71) 99972-0687** ou e-mail pvslordelo@hotmail.com ou pelo endereço: Av. Dom João VI, nº275, Brotas. Cep: 40.290-000.

Sibele Tozetto: **(75) 99191-4162** ou email sibele.tozetto@gmail.com ou pelo endereço: Av. Dom João VI, nº275, Brotas. Cep: 40.290-000.

Milena Bastos: **(71) 99319-1881** ou milenabrito@bahiana.edu.br ou pelo endereço: Av. Dom João VI, nº275, Brotas. Cep: 40.290-000.

ANEXOS

Anexo 1- Parecer Consubstanciado do CEP



COMPROVANTE DE ENVIO DO PROJETO

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Uso do Diodo Emissor de Luz Azul 405 nm no tratamento de mulheres com Candidíase Vulvovaginal: um ensaio clínico.

Pesquisador: Sibeles de Oliveira Tozetto Klein

Versão: 3

CAAE:56391416.1.0000.0056

Instituição Proponente: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB

DADOS DO COMPROVANTE

Número do Comprovante: 130639/2016

Patrocinador Principal: Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB

Informamos que o projeto Uso do Diodo Emissor de Luz Azul 405 nm no tratamento de mulheres com Candidíase Vulvovaginal: um ensaio clínico. que tem como pesquisador responsável Sibeles de Oliveira Tozetto Klein, foi recebido para análise ética no CEP Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB em 14/12/2016 às 14:02.

Endereço: Rua Rui Barbosa, 710

Bairro: Centro

CEP: 44.380-000

UF: BA

Município: CRUZ DAS ALMAS

Telefone: (75)3621-6850

Fax: (75)3621-9767

E-mail: eticaempesquisa@ufrb.edu.br

Anexo 2- Pôster apresentado no XII Congresso Paulista de Obstetrícia e Ginecologia

Congresso Paulista de
Obstetrícia e Ginecologia

24 a 26 de agosto de 2017
Transamerica Expo Center
São Paulo, SP

[Menu Principal](#)
[Áreas de abrangência](#)
[Nomes dos autores](#)
[Sigla dos trabalhos](#)
[Selecionados para Oral](#)

G110 Relato de Caso

USO DO DIODO EMISSOR DE LUZ AZUL 405 NM NO TRATAMENTO DA CANDIDÍASE VULVOVAGINAL RECORRENTE: UM RELATO DE CASO

Mariana Robatto; Maria Clara Pavie; Andréa Queiroz; Sibeles Tozetto; Patrícia Lordêlo
Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública

Introdução: A candidíase vulvovaginal recorrente (CVVR) é uma doença do trato genitourinário inferior feminino, que normalmente atinge mulheres em idade reprodutiva. Caracteriza-se por prurido vulvar intenso, leucorréia, disúria, dispareunia, dentre outros sinais e sintomas, que ocorrem quatro ou mais vezes no período de um ano. Nestes casos, o tratamento medicamentoso envolve a fase de remissão e o regime de manutenção, que pode durar meses. O diodo emissor de luz (LED) azul é uma luz do espectro eletromagnético (405nm-490nm) com funções antimicrobianas. É uma alternativa terapêutica já utilizada no tratamento de diversas doenças dermatológicas, porém carece de estudos em relação a sua aplicabilidade em patologias ginecológicas.

Descrição do Caso: Foi realizado um relato de caso em paciente com CVVR, tratada com LED azul 405 nm (três sessões, com duração de 60 minutos cada). A paciente apresentava prurido, leucorréia, dispareunia, ardência, edema e eritema vulvar, sem melhora do quadro clínico com uso de fluconazol 150 mg via oral há seis meses. Com o objetivo de avaliar os efeitos do LED azul 405 nm foram realizados para fins comparativos, a citologia cérvico vaginal e microflora; cultura para fungo, análise do quadro clínico da paciente e mensuração de pH vaginal, antes, imediatamente após a conclusão da terapia e depois de três meses do término do tratamento.

Relevância: Nota-se dificuldade no manejo clínico da CVVR devido a resistência fúngica aos medicamentos atualmente utilizados, tidos como padrão ouro. Desta forma, o número de casos de CVVR tem aumentado e isso ocasiona repercussões na saúde da mulher e impacto na saúde pública. O LED azul 405 nm pode ser uma alternativa promissora no tratamento da CVVR, pois apresenta características antimicrobianas através de um mecanismo de destruição celular que restringe a possibilidade de resistência fúngica. Além disso, é considerada uma técnica não invasiva, de baixo custo, de fácil aplicabilidade e com mínimas reações adversas.

Comentários: Comparando-se as análises antes e imediatamente após a conclusão do tratamento, constatou-se redução de unidades formadoras de colônia (UFC) de *Candida albicans* (de 15 UFC para 5 UFC), ausência de todos os sintomas e de edema vulvovaginal. Além disso, houve redução do pH vaginal (6.0-5.0) porém não houve alterações no exame de citologia, que apresentava inflamação acentuada. Três meses após o término do tratamento, não foi constatada a presença de *candida* na secreção vaginal, assim como dos sinais e sintomas da doença e o pH vaginal encontrava-se em 4.0. Quanto à citologia e microflora, observou-se presença de citólise e de lactobacilos, sem presença de sinais inflamatórios.

[< Voltar](#)

Anexo 3- Artigo Publicado: Tratamento da Candidíase Vulvovaginal e Novas Perspectivas Terapêuticas: uma revisão de literatura



REVISÕES DE LITERATURA

TRATAMENTO DA CANDIDÍASE VULVOVAGINAL E NOVAS PERSPECTIVAS TERAPÊUTICAS: UMA REVISÃO NARRATIVA

TREATMENT OF VULVOVAGINAL CANDIDIASIS AND NEW THERAPEUTIC PERSPECTIVES: A NARRATIVE REVIEW

*Mariana Robatto Dantas Leaf**, *Maria Clara Neves Pavia Cardoso Lima***, *Sibele de Oliveira Tozetto Klein****, *Patrícia Lordêlo*****

Autora para correspondência: Patrícia Virginia Silva Lordelo Garboggi - pvslordelo@hotmail.com

*Fisioterapeuta, Mestre em Medicina e Saúde Humana, Doutoranda em Medicina e Saúde Humana pela Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, pesquisadora do centro de Atenção ao Assoalho Pélvico, membro do grupo de pesquisa do CNPq Saúde da Mulher, Salvador, Bahia, Brasil

**Fisioterapeuta, Mestranda em Tecnologias em Saúde pela Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, pesquisadora do Centro de Atenção ao Assoalho Pélvico, membro do grupo de pesquisa do CNPq Saúde da Mulher, Salvador, Bahia, Brasil

***Bióloga, Pós Doutora em Genética pela Universidade de São Paulo, professora colaboradora do Programa de Pós Graduação da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, professora adjunta do Centro de Ciências da Saúde, chefe do Núcleo de Intercâmbio da Superintendência de Assuntos Internacionais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

****Fisioterapeuta, Pós Doutora em Ginecologia pela Universidade Federal de São Paulo, professora adjunta do Programa de Pós Graduação da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, coordenadora e fundadora do Centro de Atenção ao Assoalho Pélvico, coordenadora do grupo de pesquisa do CNPq Saúde da Mulher Salvador, Bahia, Brasil

RESUMO

Introdução: A candidíase vulvovaginal (CVV) é um processo infeccioso do trato genitourinário inferior feminino causada pelo fungo *Candida*. No Brasil, é o segundo diagnóstico mais comum em ginecologia e tem ocasionado preocupação dos profissionais da saúde devido ao crescente número de casos recorrentes. A dificuldade na abordagem terapêutica da CVV aponta para a relevância do desenvolvimento de estudos que abordem as atuais terapias utilizadas para esta infecção e suas limitações, atentando os profissionais da área a desenvolver a visão crítica acerca do tema e buscar modificações no manejo clínico. **Objetivo:** Este estudo visa descrever o panorama atual dos tratamentos da CVV e as novas perspectivas terapêuticas. **Estratégia Metodológica:** Foi desenvolvida uma revisão de literatura contendo artigos em língua inglesa e portuguesa acerca dos atuais tratamentos existentes para CVV e possíveis perspectivas terapêuticas. **Resultados:** Nota-se que os casos de CVV, principalmente os recorrentes, têm apresentado limitação na resposta aos tratamentos medicamentosos atuais e por isto há uma crescente busca por inovações terapêuticas. Dentre as novas possibilidades, o Diodo Emissor de Luz (LED) azul 405 nm é uma possível modalidade de tratamento, no entanto, necessita-se de mais estudos que comprovem sua eficácia. **Conclusão:** A terapia antifúngica atual tem apresentado limitações, principalmente nos casos de recorrência e isto fortalece a necessidade de busca de novas modalidades terapêuticas que sejam capazes de tratar o processo infeccioso inibindo os mecanismos de resistência do microorganismo.

Palavras-chave: candidíase vulvovaginal; mulheres; tratamento; fototerapia.

ABSTRACT

Introduction: The vulvovaginal candidiasis (VVC) is an infectious process of lower genitourinary tract and it's caused by *Candida* fungus. In Brazil, VVC is the second most common diagnosis and it has turned into a concern to health professionals because of its growing number of cases of recurrence. The difficulty in the therapeutic approach of VVC points to the importance of the development of studies that address the current therapies used for this infection and its limitations, considering the professionals to develop a critical view on the subject and seek changes in the clinical management. **Objective:** This study aims to describe the current panorama of the VVC treatment and its new therapeutic perspectives. **Methodological Strategy:** It was developed a literature review including article in portuguese and english language that discussed the issue of current treatments for VVC and possible new therapeutic. Results: It is noted that VVC cases, especially recurrent, have displayed some level of resistance to current drug treatment and because of that there is an increasing search for new types of therapeutic interventions. Among the new possibilities, the Light Emitting Diode (LED) in the blue color of 405 nm is a possible treatment mode however it's necessary more studies that can prove its effectiveness. **Conclusion:** The present antifungal therapy have shown limitations, mainly in cases of recurrence and this strengthens the need to search for new therapeutic modalities which are able to treat infectious processes by inhibiting microorganism resistance mechanisms.

Key words: vulvovaginal candidiasis, women, treatment, phototherapy.

INTRODUÇÃO

A candidíase vulvovaginal (CVV) é um processo infeccioso do trato geniturinário inferior feminino, causada por várias espécies de cândida e que compromete principalmente a vulva e a vagina^{1,2}. As principais espécies de interesse clínico são as subespécies de *Candida albicans*, *glabrata*, *krusei*, *parapsilosis* e *tropicalis*³.

A CVV é um relevante problema na saúde da mulher e um dos diagnósticos mais frequentes em ginecologia, sendo a segunda infecção genital mais comum no Brasil, precedida apenas pela vaginose bacteriana^{3,4,5}. Estima-se que 75% das mulheres adultas apresentem pelo menos um episódio de vulvovaginite fúngica em sua vida, sendo que destas, 40% a 50% vivenciem novos surtos e 5% tornem-se recorrentes^{1,3,6,7} isto é, apresentam quatro ou mais episódios no período de um ano⁴.

Estudos demonstram que a *Candida albicans* é mais frequente que as espécies não-*albicans*, correspondendo a 80% dos casos. Porém, têm-se observado um aumento na frequência das espécies não *albicans*, especialmente *Candida glabrata*^{1,2,4,8}. A maior preocupação reside no fato de que essas outras espécies tendem a ser mais resistentes aos antifúngicos^{1,9,10}, considerado um importante fator de recorrência¹⁰.

A CVV caracteriza-se clinicamente pela ocorrência de prurido vulvar intenso, dispareunia, disúria, edema e eritema vulvovaginal, sendo o prurido o sintoma mais importante quando comparado a vulvovaginites de outras etiologias^{2,3,9}. Há também a presença de corrimento vaginal branco, espesso e inodoro^{2,5,9} e eventualmente podem surgir pontos branco-amarelados nas paredes vaginal e do colo uterino^{4,5}.

O diagnóstico é estabelecido através da história e quadro clínico da paciente, porém deve ser confirmado por exames complementares, já que a sintomatologia não é patognomônica^{9,11}.

O tratamento da CVV consiste no uso de agentes imidazólicos e triazólicos tópicos ou orais, além dos agentes poliênicos¹, porém muitas mulheres não respondem à terapia inicial e os casos de recidivas são

frequentes¹⁰, levando-as a iniciarem um tratamento cujo objetivo seja remissão clínica e microbiológica com conseqüente regime de manutenção⁶, que pode durar meses. Conseqüentemente, as pacientes podem desenvolver diversos efeitos adversos, como insônia, ansiedade, disúria e dor vaginal¹².

Devido aos riscos associados ao uso de medicamentos e ao crescente índice de casos de recorrência, nota-se uma lacuna científica em relação a novas possibilidades terapêuticas viáveis. Terapias não medicamentosas vêm sendo desenvolvidas no tratamento desta patologia, já que são poucos os recursos disponíveis para tratar casos de resistência fúngica. Diante da importância epidemiológica e repercussões clínicas da CVV, o objetivo desta revisão é descrever os diferentes tratamentos para CVV, incluindo também os casos de recorrência, assim como, teorizar uma hipótese terapêutica inovadora com o uso do diodo emissor de luz (LED) fundamentando para futuros estudos clínicos.

ESTRATÉGIA METODOLÓGICA

Essa revisão foi realizada por meio de busca nas bases de dados Medline, Scielo e Lilacs, sendo utilizados os seguintes descritores: candidíase vulvovaginal, mulheres, tratamento e seus correlatos na língua inglesa: vulvovaginal candidiasis, women, treatment. Foram utilizados artigos nos idiomas português e inglês entre os anos de 2002 a 2014. Após levantamento inicial, análise dos títulos, leitura dos resumos e exclusão das duplicatas, os artigos selecionados foram criticamente analisados.

Foram selecionados artigos de revisão, observacionais e experimentais que abordaram o tratamento da candidíase vulvovaginal e suas perspectivas terapêuticas. Foram excluídos editoriais, resumos e estudos que abordaram o tratamento de vulvovaginites de outras etiologias e que envolvessem gestantes.

RESULTADOS/DISCUSSÃO

MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

O diagnóstico baseia-se no quadro clínico, com o reconhecimento dos sinais e sintomas de prurido, corrimento esbranquiçado e espesso, com aspecto de "leite coalhado", hiperemia, edema e fissura em vulva e vagina. É necessária também a realização da microscopia a fresco com hidróxido de potássio (KOH) 10%. Este exame deve ser associado à mensuração de pH, que na CVV encontra-se normal (≤ 4.5) e é realizado no próprio consultório, para detectar a presença de leveduras e/ou pseudo-hifas fúngicas, confirmando o diagnóstico^{1,4}.

Nos casos recorrentes, deve-se acrescentar a realização de cultura vaginal específica, em meio de Sabouraud, realizada em laboratório, para especificar o subtipo de cândida envolvida no processo infeccioso^{1,4}.

Sabe-se que na prática clínica, o diagnóstico da CVV é realizado baseado no quadro clínico apresentado, no entanto, nenhum dos sinais e sintomas são patognomônicos da patologia. Porém, devido ao elevado nível de incômodo relatado pela paciente, principalmente decorrente do prurido, muitas vezes o diagnóstico é realizado de forma empírica, levando a prescrição precipitada de medicamentos ou a automedicação. Esses fatores são vistos como os principais responsáveis pelo crescente índice de resistência fúngica medicamentosa, propiciando o crescimento dos casos de recorrência e dificultando o tratamento¹².

TRATAMENTO FARMACOLÓGICO

O tratamento da CVV tem por objetivo, melhorar a sintomatologia da paciente, podendo ser efetuado por via oral ou tópica. No tratamento oral, a paciente pode se beneficiar de agentes imidazólicos e triazólicos: Fluconazol 150 mg em dose única e Cetoconazol 200mg uma vez ao dia, por 14 dias⁴. Já o tratamento tópico, deve ser via intravaginal com uso de Clotrimazol 1% durante 7 dias, Terconazol 0.8% aplicação de 5g durante três dias e o ácido bórico 600mg/supositório) duas vezes ao dia, por 14 dias⁴. Estes medicamentos

alcançam cura clínica e microbiológica em 80% a 95% dos casos⁴. A terapia com agentes orais apresenta melhor resposta quando comparada aos antifúngicos tópicos⁹.

Para a manifestação da CVV recorrente, frequentemente é prescrito um tratamento antifúngico mais prolongado. No tratamento local, preconiza-se uso do clotrimazol (2 cápsulas de 100 mg), duas vezes por semana durante seis meses ou uso tópico de terconazol (0.8%) com aplicação de 5g durante sete dias. O tratamento oral engloba o uso de: cetoconazol (2 cápsulas de 200 mg) durante cinco dias após a menstruação, durante seis meses ou o uso de fluconazol (150 mg), administrados durante um mês ou ainda o uso de itraconazol (200 mg) durante trinta dias⁴. Após esse período, a terapia é descontinuada. Caso haja recidiva, reinicia-se o tratamento, com regime de supressão, seguido de manutenção por um ano⁴.

Um estudo realizado por Moreira et al. (2004), comparou a ação de dois medicamentos, fluconazol (150 mg) e itraconazol (400 mg). As 181 pacientes receberam aleatoriamente um dos medicamentos e foram avaliadas do ponto de vista clínico e laboratorial em momentos distintos (7-21 dias e 27-42 dias, respectivamente) e observou-se que houve redução dos sintomas, porém não houve diferença estatisticamente significativa quando comparados ($p=0,247$ e $p=0,219$), respectivamente. No entanto, nas pacientes que fizeram uso do itraconazol, a taxa de recidiva foi maior que nas que utilizaram o fluconazol ($p \leq 0,01$)¹². Este resultado pode ser explicado pelo fato de existir vantagem farmacocinética do fluconazol em relação ao itraconazol, pois as concentrações terapêuticas do primeiro no tecido vaginal permanecem por no mínimo três dias após a administração oral e no itraconazol esse tempo é ligeiramente menor, com duração máxima de três dias¹².

Portanto, não há consenso sobre a superioridade de um medicamento em relação ao outro, devido à escassez de publicações sobre as atividades dos antifúngicos mais utilizados¹². Porém, é relatada na literatura, a ocorrência de reações adversas com o uso de antifúngicos, principalmente naqueles de administração via oral, tais como: dor vaginal, infecção do trato urinário, insônia, ansiedade, desconforto gastrointestinal, disúria, dentre outros¹².

TERAPIA FOTODINÂMICA

A Terapia Fotodinâmica (TFD) é uma modalidade que vem sendo utilizada no tratamento de diversas patologias. Para sua realização, há necessidade de três elementos: droga fotossensibilizante, presença de oxigênio e uma fonte de luz, que pode ser o LASER (light amplification by stimulated emission of radiation) ou o LED (light emitting diode)¹³.

A luz é uma radiação eletromagnética cuja energia se transmite através de fótons ocupando o espectro de emissão, desde o ultravioleta, luz visível e infravermelho. A diferença importante entre o LASER e o LED é que a luz emergente do LED não é colimada nem coerente, o que representa uma limitação, já que a divergência do feixe de luz faz com que os fótons se repartam em uma superfície maior. Porém, essa característica apresenta uma vantagem, pois o terapeuta pode cobrir uma área maior, sem necessidade de movimentação do aplicador. O baixo custo e o fácil manuseio do LED, em relação ao LASER, aumentaram sua procura e utilização¹⁴.

Uma droga fotossensibilizante é capaz de absorver luz na presença de oxigênio e produzir espécies reativas de oxigênio, que reagem com componentes celulares dos microrganismos, gerando morte celular¹⁵. Dentre os fotossensibilizantes mais utilizados, pode-se citar o azul de metileno¹³.

Inúmeros estudos demonstram que alguns fotossensibilizantes podem ser ativados por luz e produzir efeito fungicida e bactericida, sem prejuízo para as células humanas¹⁵. No entanto, há carência de estudos na literatura sobre os efeitos da TFD em vaginites por *Candida albicans*. Entre os trabalhos existentes, a TFD é geralmente aplicada em modelos de candidíase oral¹⁶. Teichert et al. (2002) utilizaram laser associado ao azul de metileno na mucosa oral de murinos demonstrando redução da carga fúngica e maior efeito fungicida quando associado a maior concentração do fotossensibilizante¹⁷. Este resultado pode ser explicado pelo fato do azul de metileno, quando associado ao laser, apresentar elevada penetração na pele, com ação antimicrobiana contra fungos e bactérias¹⁷.

Junqueira et al. (2009) também trataram a candidíase bucal em ratos com laser e azul de

metileno, porém os resultados não mostraram redução estatisticamente significativa da carga fúngica, embora os ratos tratados apresentaram uma menor quantidade de lesões resultantes da candidíase do que os não tratados¹⁸. Diante deste achado, observa-se que a TFD pode ser uma alternativa promissora no tratamento das infecções fúngicas, mesmo não apresentando redução importante na quantidade de fungos, já que houve redução da inflamação e das lesões após 24 horas da aplicação da terapia¹⁸.

FOTOTERAPIA COM USO DO LED AZUL 405 NM

A fototerapia com uso do LED foi inicialmente utilizada em associação a substâncias fotossensibilizadoras, que constitui a TFD. No entanto, alguns estudos observaram que a luz utilizada de forma isolada e em comprimentos de onda menores, entre 400 e 410 nm (LED azul), inibiu o crescimento de inúmeros microrganismos, como fungos e bactérias, sendo que o de 405 nm apresentou melhor resposta de inativação^{19,20}.

Alguns estudos comprovam a ação fungicida do LED azul e seus efeitos variam dependendo da dose, comprimento de onda e natureza do microorganismo^{20,21,22}. Pesquisas demonstram que a luz azul estimula a produção de citocinas pró-inflamatórias que incluem interleucinas 1, fator de necrose tumoral e fator de estimulação de colônias de macrófagos e granulócitos²³. Em processos inflamatórios, se a aplicação for imediata, além de acelerar a fisiologia da inflamação, reduz as lesões e conseqüentemente a dor²⁴.

Além disso, na membrana plasmática e nas mitocôndrias dos fungos, há a presença de porfirinas, que são substâncias fotossensibilizadoras. Quando essas substâncias são expostas à luz azul, especificamente no comprimento de onda 405 nm, geram oxigênio singleto e radicais livres, que causam danos celulares irreversíveis, com conseqüente morte celular²⁵. Este mecanismo de morte celular não é propício ao desenvolvimento de resistência microbiana¹⁹.

Apesar da luz azul 405 nm ser germicida, ele encontra-se dentro de um espectro de comprimento de onda benigna e se for operado a níveis de irradiância adequados é seguro para exposição

humana, tendo como reação adversa leve eritema na região tratada¹⁹. Inamura et al. (2014) realizaram um estudo cujo objetivo foi avaliar os efeitos da luz azul 405 nm em microrganismos associados à infecções persistentes da cavidade oral, dentre eles, a *Candida albicans*. Esta foi cultivada em colônias e dividida em três amostras, expostas a radiação da luz azul 405 nm com potência de 0,2 W e diferentes tempos de radiação e dose. Como resultados, verificaram que não houve efeito inibitório no tempo de 5 minutos (60J), porém nos tempos de 10 (120J) e 20 minutos (240J) houve uma redução de 60% e 90% na quantidade de fungos, respectivamente²⁰. Estes resultados podem ser explicados pela presença de substâncias presentes no fungo, que atuam como fotossensibilizadores endógenos, sendo capazes de atrair e absorver a luz azul, gerando oxigênio atômico e radicais livres, com consequente morte celular²⁰.

Ganz et al. (2005) realizaram um ensaio clínico com uso da luz azul 405 nm em região de mucosa gástrica de pacientes sintomáticos infectados cronicamente por *H. pylori* para testar a hipótese de que esta luz poderia ser utilizada como método terapêutico para inativar e erradicar a bactéria. Como resultados, observou-se morte bacteriana significativa nas amostras tratadas quando comparadas com as amostras controle, com erradicação de pelo menos 90% das bactérias em sete dos nove pacientes. Além disso, não foram observadas diferenças histológicas entre as áreas tratada e não tratada, o que demonstra a segurança da metodologia utilizada²⁶. Justificam-se esses achados pela presença de porfirinas nas células bacterianas, que quando expostas à luz azul 405 nm, geram oxigênio singleto e outras espécies de oxigênio reativo, resultando na morte celular devido à ruptura de organelas e material cromossômico. Além disso, os parâmetros de dose e potência utilizados, apresentaram segurança, sem geração de calor e respeitando os limites para exposição do olho e pele à luz.

Portanto, sabendo que a CVV é uma patologia que tem alta prevalência entre mulheres em idade reprodutiva, que muitas não respondem à terapia inicial medicamentosa, tornando-se recorrentes, que o LED apresenta baixo custo e fácil manuseio, além da necessidade da obtenção de tratamentos alternativos não invasivos e com um mínimo de

reações adversas, faz-se necessária a elaboração de novos estudos, para avaliação dos efeitos do LED azul 405 nm no tratamento da CVV, como alternativa prática de tratamento para as mulheres cometidas com esta patologia.

CONCLUSÃO

Conclui-se que a terapia antifúngica medicamentosa utilizada no tratamento da CVV é eficaz, porém nos casos recorrentes, ela é falha, necessitando de mais pesquisas para desenvolvimento de novos recursos. O LED azul 405 nm parece ser uma alternativa de tratamento promissora nos casos de CVV recorrente, porém necessita ainda de estudos que comprovem a sua real eficácia.

REFERÊNCIAS

1. Ferrazza MSHS, Maluf MLF, Consolaro MEL, Shinobu CS, Svidzinski TIE, Batista MR. Caracterização das leveduras isoladas da vagina e sua associação com candidíase vulvovaginal em duas cidades do sul do Brasil. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2005;27(2):58-63. doi: 10.1590/S0100-72032005000200003
2. Holanda AAR, Fernandes ACS, Bezerra CM, Ferreira MAF, Holanda MRR, Holanda JCP et al. Candidíase vulvovaginal: sintomatologia, fatores de risco e colonização anal concomitante. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2007;29(1):3-9. doi: 10.1590/S0100-72032007000100002
3. Camargo FP, Alves IA, Parlow MS, Goulart LS. Isolamento de *Candida* sp da mucosa vaginal de mulheres atendidas em um serviço de ginecologia do município de Santo Ângelo-RS. *NewsLab.* 2008;87:96-104
4. Álvares CA, Svidzinski TIE, Consolaro MEL. Candidíase vulvovaginal: fatores predisponentes do hospedeiro e virulência das leveduras. *J Bras*

- Patol Med Lab. 2007;43(5):319-27
5. Peixoto JV, Rocha MG, Nascimento RTL, Moreira VV, Kashiwabara TGB. Candidíase: uma revisão de literatura. BJSCR. 2014;8(2):75-82
6. Feuerschuette OTM, Silveira SK, Feuerschuette I, Corrêa T, Grandó L, Trepani A. Candidíase vaginal recorrente: manejo clínico. *Femina*. 2010;38(2):31-36
7. Galle LC, Gianinni MJSM. Prevalência e susceptibilidade de leveduras vaginais. *J Bras Patol Med Lab*. 2004;40(4):229-36. doi: 10.1590/S1676-24442004000400004
8. Rosa MI, Rumel D. Fatores associados à candidíase vulvovaginal: estudo exploratório. *RBGO*. 2004;26(1):65-70. doi: 10.1590/S0100-72032004000100010
9. Ferracin I, Oliveira RMW. Corrimento vaginal: causa, diagnóstico e tratamento farmacológico. *Infarma*. 2005;17(5/6):82-6
10. Rodrigues MT, Gonçalves AC, Alvim MCT, Filho DSC, Zimmermann JB, Silva VL et al. Associação entre cultura de secreção vaginal, características sociodemográficas e manifestações clínicas de pacientes com diagnóstico de candidíase vulvovaginal. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2013;35(12):554-61. doi: 10.1590/S0100-72032013001200005
11. Andrioli JL, Oliveira GSA, Barreto CS, Souza ZL, Oliveira MCH, Cazorla IM et al. Frequência de leveduras em fluido vaginal de mulheres com e sem suspeita clínica de candidíase vulvovaginal. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2009;31(6):300-4. doi: 10.1590/S0100-72032009000600006
12. Carvalho NS, Baracat EC, Naud PSV, Giraldo PC, Simões JÁ, Duarte G et al. Estudo multicêntrico comparativo entre fluconazol e itraconazol no tratamento da candidíase vulvovaginal. *Rev Bras Med*. 2002;59(4):244-9
13. Donnelly RF, McCarron PA, Tunney MM, David Woolfson A. Potential of photodynamic therapy in treatment of fungal infections of the mouth. Design and characterization of a mucoadhesive patch containing toluidine blue O. *J Photochem Photobiol B*. 2007;86(1):59-69. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2006.07.011
14. Meyer PF, Araújo HG, Carvalho MGF, Tatum BIS, Fernandes ICAG, Ronzio OA et al. Avaliação dos efeitos do LED na cicatrização de feridas cutâneas em ratos Wistar. *Fis Bras*. 2010;11(6):428-32
15. Sena RMM. Efeitos da terapia fotodinâmica mediada por laser de emissão vermelha e azul de metileno em vaginite induzida por *Candida albicans* [Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear- Materiais] – Instituto de Pesquisas Nucleares da Universidade de São Paulo: São Paulo; 2013
16. Mima EGDO, Pavarina AC, Dovigo LN, Vergani CE, Costa CADS, Kurachi C et al. Susceptibility of *Candida albicans* to photodynamic therapy in a murine model of oral candidosis. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2010;109(3):392-401. doi: 10.1016/j.tripleo.2009.10.006
17. Teichert MC, Jones JW, Usacheva MN, Biel MA. Treatment of oral candidiasis with methylene blue-mediated photodynamic therapy in an immunodeficient murine model. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2002;93(2):155-60. doi: 10.1067/moe.2002.120051
18. Junqueira JC, Martins Jda S, Faria RL, Colombo CE, Jorge AO. Photodynamic therapy for the treatment of buccal candidiasis in rats. *Lasers Med Sci*. 2009;24(6):877-84. doi: 10.1007/s10103-009-0673-4
19. Maclean M, McKenzie K, Anderson JG, Gettinby G, Macgregor SJ. 405 nm light technology for the inactivation of pathogens and its potential role for environmental disinfection and infections control. *J Hosp Infect*. 2014;88(1):1-11. doi: 10.1016/j.jhin.2014.06.004
20. Inamura T, Tatehara S, Takebe Y, Tokuyama R, Ohshima T, Maeda N et al. Antibacterial and antifungal effect of 405 nm monochromatic laser on endodontopathogenic

microorganisms. *Int J Photoenergy*. 2014;1-7. doi: 10.1155/2014/387215

21. Imada K, Tanaka S, Ibaraki Y, Yoshimura K, Ito S. Antifungal effect of 405-nm light on botrytis cinerea. *Lett Appl Microbiol*. 2014;59(6):670-6. doi: 10.1111/lam.12330

22. Guffey JS, Wilborn J. In vitro bactericidal effects of 405-nm and 470-nm blue light. *Photomed Laser Surg*. 2006;24(6):684-8. doi: 10.1089/pho.2006.24.684

23. Goldberg DJ, Russell BA. Combination blue (415 nm) and red (633 nm) LED phototherapy in the treatment of mild to severe acne vulgaris. *J Cosmet Laser Ther*. 2006;8(2):71-75. doi: 10.1080/14764170600735912

24. Vinck E. Applicability of light emitting diode irradiation in physiotherapy. *Photomed Laser Surg*. 2005;23(2):167-171

25. Murdock LE, Mckenzie K, Maclean M, Macgregor SJ, Anderson JG. Lethal effects of high-intensity violet 405-nm light on saccharomyces cerevisiae, candida albicans and on dormant and germinating spores of aspergillus niger. *Fungal Biol*. 2013;117(7-8):519-27. doi: 10.1016/j.funbio.2013.05.004

26. Ganz RA, Viveiros J, Ahmad A, Ahmadi A, Khalil A, Tolkoff J et al. Helicobacter pylori in patients can be killed by visible light. *Lasers Surg Med*. 2005;36(4):260-265. doi: 10.1002/lsm.20161

Anexo 4- Artigo Publicado: Blue Light Emitting Diode in Treatment of Recurring Vulvovaginal Candidiasis: a Case report

ORIGINAL ARTICLES

How to cite: Robatto M, Pavie MC, Tozetto S, Brito MB, Lordêlo P. Blue light emitting diode in treatment of recurring vulvovaginal candidiasis: a case report. 2017;5(4):162-168. doi: 10.17267/2317-3386bjmh.v5i4.1472



BLUE LIGHT EMITTING DIODE IN TREATMENT OF RECURRING VULVOVAGINAL CANDIDIASIS: A CASE REPORT

Mariana Robatto¹, Maria Clara Pavie², Sibeles Tozetto³, Milena Bastos Brito⁴, Patrícia Lordêlo⁵

¹Physiotherapist. MSc in Medicine and Human Health. Internship supervisor at the Jorge Amado University Centre. Salvador, Bahia, Brazil. mariarobatto@gmail.com

²Physiotherapist specialized in Urogynecological and Obstetrical Rehabilitation. Salvador, Bahia, Brazil. mariaclarapavie@gmail.com

³Doutora em Biologia do Desenvolvimento. Professor at the Federal University of the Recôncavo da Bahia. Salvador, Bahia, Brazil. sibeles.tozetto@gmail.com

⁴MD. PhD in Gynecology and Obstetrics. Professor at BAHIANA - School of Medicine and Public Health and at the Federal University of Bahia. Salvador, Bahia, Brazil. milenabrito@bahiana.edu.br

⁵Corresponding author. Physiotherapist. PhD in Medicine and Human Health. Professor at BAHIANA - School of Medicine and Public Health. Salvador, Bahia, Brazil. patricialordelo@bahiana.edu.br

Introduction: Recurring vulvovaginal candidiasis (RVVC) is an infectious disease of the lower genitourinary tract, that occurs at least 4 times per year. Drug treatment can last months and favor the appearance of adverse effects and increase the chances of recurrence. Blue Light Diode (LED) is an electromagnetic spectrum light, with antimicrobial functions. **Case Report:** A case report was made of a patient with RVVC whose treatment consisted of three sessions of 60-minutes each, of application of blue LED in intervals of 15 days. Evaluation was carried out before, at the end of third application and three months after the last session by means of fungal culture, cervical cytology; analysis of patient's clinical condition; and measurement of vaginal pH. After the third session, there was a reduction in fungal load and vaginal pH; absence of symptoms (pruritus, burning and dyspareunia) and vulvovaginal edema, but there were no alterations in the cytology and microflora, which remained with inflammatory markers. Three months after the end of the treatment, there was no Candida in vaginal secretion, neither signs nor symptoms of candidiasis, and vaginal pH was normal. As for cytology and microflora, cellular alterations associated with cytolysis and presence of lactobacilli was observed. **Conclusion:** The blue LED 401±5 nm may be a promising alternative to treat RVVC by eliminating signs and symptoms in women.



INTRODUCTION

Vulvovaginal candidiasis (VVC) is an infection of the vagina and vulva caused by numerous species of *Candida*, where *Candida albicans* is responsible for 85% of the cases¹. It is characterized by intense vulvar pruritus, dyspareunia and vaginal discharge in lumps. In addition, the vulva and vagina become swollen and hyperemic, often followed by dysuria and burning sensation².

This infection is one of the most common diagnoses in gynecological practice, being considered the second most prevalent genital infection in Brazil, preceded only by bacterial vaginosis. It is estimated that 75% of adult women present at least one episode of VVC during their lifetime, of which 5% present recurrence, i.e. four or more VVC episodes per year².

The factors that lead to the development of recurrent vulvovaginal candidiasis (RVVC) are still uncertain. However, it is believed that intrinsic factors linked to women, i.e. changes in the immune response of the vaginal epithelium may facilitate the emergence of new disease outbreaks. In some cases, stressful situations could also lead to the onset of fungal infection, because cortisol, considered a powerful anti-inflammatory, can be responsible for triggering an important suppression of the vaginal immune system³. The use of broad-spectrum antibiotics, personal hygiene, *diabetes mellitus* and immunosuppression are also considered possible risk factors for cases of recurrence².

The treatment of RVVC initially includes drug therapy, aiming to achieve clinical and microbiological remission of the infection. Frequent use of oral antifungal for 7 to 14 days followed by maintenance with oral antifungal is also used for a period of six months. Alternative treatments, such as the use of oral yoghurts, lactobacillus therapies and low-carbohydrate diets are described in the literature, but there is a lack of evidence of their actual efficacy⁴.

It is hypothesized that Light Emitting Diode (LED) irradiation may be a therapeutic alternative for VVC, based on its proven antimicrobial effect in other studies⁵. The LED consists of semiconductor diodes that when subjected to an electric current emits light. This light is part of the electromagnetic

spectrum and wavelength varies from 405 to 940 nm, which leads to differentiation of the color and of effects obtained⁶.

At shorter wavelengths, between 400 and 425 nm, LED is blue and has antimicrobial effects confirmed by studies. The highest capacity of destruction of microorganisms has been found at 405 nm. Even with the germicidal action of the blue LED, this is considered safe for humans because it does not cause cellular damage when used in adequate irradiance⁷.

Most of the studies use the light associated with photosensitizer because it believes that this initiates the process of photochemical reaction for consequent cellular destruction⁸. However, it is known that the plasma membrane and mitochondria of fungi have endogenous porphyrins that allow photoactivation and cause singlet oxygen production when in contact with blue light, which is highly reactive and causes cellular destruction, without allowing any mechanism of resistance⁹.

The blue light with short wavelengths (400-425 nm) has been already used in humans for the purpose of destroying bacteria. There are studies performed in gastric mucosa and skin for the treatment of *Helicobacter pylori* and acne, respectively^{5,10}. The use of this therapy also at a shorter wavelength (405 nm) for fungal destruction has already been proven in *in vitro* and in studies with animals; however, there are no reports of its use in isolation in humans^{9,11}.

Considering the fungicidal effect of the blue LED at shorter wavelengths, this may be an alternative for the treatment of VVC, especially in recurrent cases, since it has a mechanism of action that inhibits resistance chances. In addition, this phototherapy is effective and safe¹⁰.

This study aims to report the microbiological and clinical effects of the blue LED with wavelength length ranging between 401 ± 5 nm in a patient with RVVC, in addition to verifying the adverse effects of the technique.

CASE REPORT

A 33-year-old female patient, married, with a clinical diagnosis of RVVC arrived at the doctor's office

located in the city of Salvador/Bahia with a history of *Candida* infection higher than 4 times per year, abundant vaginal secretion and pruritus in a region of external genitalia. She used fluconazole 150 mg in weekly applications for the past six months and clotrimazole 2% vaginal cream, one tube per day for 3 days, during periods of worsening of symptoms. The study was conducted from February to June 2017 and has been approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of Recôncavo Baiano (UFRB), CAAE: 56391416.1.0000.0056 and is registered in the *Clinicaltrial* under number NCT03075046 as this is a study that will continue through a randomized clinical trial.

The participant was instructed by her gynecologist to seek alternative treatment with the use of blue LED because resolution of the pathology was not achieved with conventional therapy.

The treatment took place in the OGYC (Obstetrics and Gynecological Care) office located in a medical center in the city of Salvador/BA and before starting the study, the participant signed the Free and Informed Consent Term as this is was a new modality therapy never previously tested in the human vaginal region.

Initially the patient was interviewed by a physiotherapist to obtain clinical data (Table 1) and questioned about the presence or absence of the following symptoms: pruritus, burning, dysuria and dyspareunia. These symptoms are common in patients with CVV, but are not exclusive of this pathology. The questioning about the presence or absence of this symptoms was based on the FEBRASGO's manual about vulvovaginites¹².

Table 1. Clinical characteristics of the patient with RVVC diagnosis treated with Blue LED.

Variable	YES	NO
Diabetes		X
Regular menstrual cycle	X	
Oral contraceptive		X
Condom use	X	
Sexually active	X	
Fixed sexual partner	X	
Daily intimate protector		X
Intimate hygiene product		X
Drying of intimate clothing in an airy place	X	
Hygienization in vagina-anus direction	X	

The participant then underwent a gynecological clinical examination by the OGYC physician, where the presence or absence of the following signs was checked: leukorrhea, edema, erythema and excoriations in the vulva and uterus. In addition, cervico-vaginal and microflora cytology, pH evaluation and vaginal fluid specific culture were performed to confirm the infection and to determine the types of *Candida* involved. After collection, the material was sent to the clinical analysis laboratory located in the same building.

It was used a prototype of blue LED, developed by study surveyors, with wavelight length ranging between 401 ± 5 nm, with irradiance of $0,000773$ W/cm², and with a total energy of $2,7828$ J/cm². The light was applied for 60 minutes, with the apparatus statically tripped, 5 cm away from the vulva and vagina region. The LED device consists of three light units and it has 3,5 cm in diameter at the location of the light output. Light emission was performed using a speculum in the vaginal canal for 30 min, and the rest of the time without the use of any intracavitary

material. The number of sessions was based on the report of the clinical condition of the patient, since there are no previous studies using LED in the vaginal region that could support the protocol. After the use of light, vaginal secretion was collected to determine the number of colony forming units (CFUs). In addition, the apparatus was sanitized with moist gases soaked in 70% alcohol.

Three sessions were performed in intervals of 15 days. During the visits, the patient was naked, in a closed room, in the lithotomy position on a gynecological stretcher, in the presence of only one physiotherapist specialized in urogynecology, who applied the light. The patient was advised to attend to the clinic if any new complaint appeared, or in case of persistence or worsening of symptoms in the intervals without treatment.

The microbiological evaluation was performed through a fungal culture test with quantitative analysis of CFUs (secretion collected shortly after the first LED application, immediately after the last session and three months after the conclusion of the treatment) and for specification of *Candida* subtypes present in the area (material collected before the first LED application, after the last session and three months after the end of therapy).

In the analysis performed before the start of the treatment with the use of the blue LED, it was detected infection by *C. albicans*. The vaginal secretion collected after the first application of the LED indicates growth of 15 CFUs of the same species. Immediately after the last application of the light, the result of the fungus culture presented reduced growth of the germ to 5 CFUs of *C. albicans* species. After three months, *Candida* absence was verified, with negative culture result.

In addition, vaginal pH and vaginal cervical cytology and microflora were also performed

before, immediately after therapy, and three months after the completion of therapy. In the case of pH evaluation, tapes were used for this purpose and there was alteration when compared the values before the beginning of treatment (pH = 6.0), immediately after its completion (pH = 5.0) and three months after completion of therapy (pH = 4.0).

The cervical cytology and microflora performed by conventional smear did not present alterations when compared before the beginning of the treatment and immediately after, being observed variation only in the reevaluation after three months of conclusion of the treatment. In the interpretation of the previous evaluation and that performed immediately after therapy, benign reactive cellular changes associated with marked inflammation were seen: cells with discretely increased nuclei and fine chromatin in the medium to numerous neutrophils. As for organisms, fungal elements were found morphologically compatible with *Candida*. In the same exam conducted three months after the end of the treatment, there were no inflammatory signs and it was observed presence of cellular changes associated with cytolysis and common lactobacilli of the healthy vaginal microflora. In addition, the report was negative for intraepithelial lesion or malignancy.

The patient's clinical status was assessed before, immediately after the therapy and three months after completion of treatment. Each sign and symptom was classified as: present or absent. In the reassessments, when the symptoms remained present, they were still classified as: better, worse or unchanged for comparative purposes. There was observed an improvement in most of the signs and symptoms presented, when compared before and immediately after treatment, and in the last reassessment, three months after the therapy, it was detected the resolution of symptomatology (table 2).

Table 2. Clinical picture of patient diagnosed with RVVC before, immediately after and three months after completion of treatment with blue LED.

Variables	Before		Immediately after		Three months after	
	Present	Absent	Present	Absent	Present	Absent
Itching	X			X		X
Burning	X			X		X
Dysuria		X		X		X
Dyspareunia	X			X		X
Leukorrhea	X		X			X
Erythema	X		X			X
Edema	X			X		X
Vulva /uterus excoriations		X		X		X

The patient did not present discomfort, sensation of heat, pain, erythema or any other adverse effect during and/or after the LED application. In addition, she discontinued the use of the antifungal medication after the second therapy session.

Discussion

This study pioneered in the use of blue LED in RVVC, presenting positive results in clinical and microbiological complaints in one patient. The mechanism of action in this case is still unknown. However, it is known that the use of blue light with the objective of evaluating fungal load in *in vitro* studies and bacterial load in humans has also obtained effective results, with significant reduction of microorganisms^{5,9,13}.

The results of fungal load reduction indicated by the number of *C. albicans* colonies in the examination performed before and immediately after the treatment and the negative fungal culture result at three months after treatment conclusion can be explained by the presence of endogenous porphyrins present in the fungi. When these come into contact with blue light, generate singlet oxygen and other reactive oxygen species, leading to cell death¹³.

Inamura et al. (2014) evaluated the effects of 405 nm blue light on pathogenic microorganisms present in the oral cavity, among them *C. albicans*, demonstrating a 90% reduction in fungal load when using a dose of 240J for 20 minutes¹³. This study justifies the use in the vaginal mucosa because of the similar tissue characteristics¹⁴.

Ganz et al. (2005) conducted a clinical trial using 405 ± 2 nm blue light on gastric mucosa of symptomatic patients infected with *Helicobacter pylori* and found a significant bacterial death rate in all treated individuals, with eradication of at least 90% of the bacteria in seven of the nine patients submitted to treatment. According to the authors, this result can be explained by the fact that light at this wavelength induces the photoexcitation of endogenous porphyrins present in *Helicobacter pylori*, resulting in the production of reactive species of singlet oxygen and consequent death of the microorganism⁵.

In this study, the patient's clinical symptoms of pruritus, burning, dysuria, dyspareunia and edema disappeared after application of the blue LED immediately after conclusion of the third session and this result remained in the reassessment three months after treatment conclusion. This finding may be related to the restoration of the vaginal microflora by the significant reduction of fungal load after treatment, as a result of absorption of light by the porphyrins present in the fungi. The molecules, interacting with this light, generate highly reactive singlet oxygen, causing damage to the membrane and mitochondria of fungal species, with consequent selective cell death⁹.

Morton et al. (2005) performed a study in 30 subjects with mild to moderate acne on the face, who received eight treatment sessions with blue light (409-419 nm), at a dose of 48J/cm² and intensity of 40 Mw/cm². According to the authors, despite the variation of clinical response between individuals, there was a 73% improvement in the inflammatory lesions resulting from acne. This result can be explained by

the destruction and inhibition of *Propionibacterium acnes* proliferation due to the absorption of blue light by the endogenous porphyrins, generating singlet oxygen production and subsequent bacteria destruction¹⁰.

Elman et al. (2003) performed a study in patients with acne vulgaris using 405-420 nm blue LED with irradiance between 50 and 200 mW/cm². The research involved a dose response study involving part of the face; a clinical trial involving the whole face; and a double blind controlled study with application of LED in only one hemiface. All three studies found a decrease in inflammatory lesions. According to the authors, *Propionibacterium acnes* produces, as part of its normal metabolism, porphyrin, which when exposed to light generates a chemical reaction with peroxide production that has the potential of destroying the bacteria¹⁵.

In this study, the decrease in vaginal pH, approaching the values considered physiologically normal and protective of genital health, represents a benefit because acid environments are less favorable to the development of pathogens¹⁶. Although *Candida* has a different metabolism from most microorganisms, with better adaptation to this medium¹², there was an improvement in clinical and microbiological conditions, with disappearance of symptoms and absence of fungi.

The persistence of inflammatory signs when comparing the cytology and microflora examination results performed before and immediately after treatment may be explained by the fact that the reassessment was made shortly after the last LED application and, at that moment, not enough time had elapsed for resolution of the inflammatory condition. Furthermore, research shows that the blue LED has no anti-inflammatory effect¹⁵.

The scarcity of studies with the use of blue LED in the female genital region indicates the need for further experimentation in order to explain the possible relationship between this light and its effects on vaginal microflora and pH.

No adverse effects such as hyperemia, irritation or discomfort during and after LED treatment were reported by the patient in this study. The study of Ganz et al (2005) developed in individuals with H.

pylori using the 405 ± 2 nm blue light⁵ is in line with the present research, considering that no adverse reactions were evidenced.

CONCLUSION

We conclude that the blue LED with wavelength length ranging between 401±5 nm may be a promising alternative non-drug therapy, with low cost, easy application and free from adverse reactions in the treatment of RVVC. However, randomized clinical trials are needed to evaluate the efficacy, besides non-inferiority tests in relation to drug treatment.

ACKNOWLEDGEMENTS

Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) - Grant of academic masters scholarship under order number: 589/2016 and grant term of scholarship: BOL 0273/2016.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Grant of doctoral fellowship (For this kind of scholarship doesn't exist any number of protocol).

Andrea Queiroz Vilas Boas - A gynecologist who participated in the data collection and granted the practice to develop the study.

COMPETING INTERESTS:

No financial, legal or political competing interests with third parties (government, commercial, private foundation, etc.) were disclosed for any aspect of the submitted work (including but not limited to grants, data monitoring board, study design, manuscript preparation, statistical analysis, etc.).

REFERENCES

1. Shiozawa P, Cechi D, Figueiredo MAP, Sekiguchi LT, Bagnoli F, Lima SMRR. Tratamento da candidíase vaginal recorrente: revisão atualizada. Arq Med Hosp Fac Cienc Med Santa Casa São Paulo. 2007;52(2):48-50.
2. Álvares CA, Svidzinski TIE, Consolaro MEL. Candidíase vulvovaginal: fatores predisponentes do hospedeiro e virulência das leveduras. J Bras Patol Med Lab. 2007;43(5):319-327. doi: [10.1590/S1676-24442007000500004](https://doi.org/10.1590/S1676-24442007000500004)
3. Cordeiro SN, Giraldo PC, Sabatino JH, Fonsechi-Carvasan GA, Turato ER. Vulvovaginites recorrentes: uma doença psicossomática?. DST- J Bras Doenças Sex Transm. 2004;16(1):45-51.

4. Feuerschuette OHM, Siveira SK, Feuerschuette I, Corrêa T, Grando L, Trepani A. Candidíase vaginal recorrente: manejo clínico. *Femina*. 2010;38(2):31-36.
5. Ganz RA, Viveiros J, Ahmad A, Ahmadi A, Khalil A, Tolkoff MJ et al. Helicobacter pylori in patients can be killed by visible light. *Lasers Surg Med*. 2005;36(4): 260-65. doi: [10.1002/lsm.20161](https://doi.org/10.1002/lsm.20161)
6. Estrela JV, Duarte CCF, Almeida DNA, Araruna VR, da Silva RMV, Cavalcanti RL et al. Efeito do LED na flacidez tissular facial. *Catussaba*. 2014;3(2):29-36.
7. Maclean M, McKenzie K, Anderson JG, Gettinby G, MacGregor SJ. 405 nm light technology for the inactivation of pathogens and its potential role for environmental disinfection and infection control. *J Hosp Infect*. 2014;88(1):1-11. doi: [10.1016/j.jhin.2014.06.004](https://doi.org/10.1016/j.jhin.2014.06.004)
8. Oriel S, Nitzan Y. Photoinactivation of cãndida albicans by its own endogenous porphyrins. *Curr Microbiol*. 2010;60(2):117-23. doi: [10.1007/s00284-009-9514-8](https://doi.org/10.1007/s00284-009-9514-8)
9. Murdoch LE, McKenzie K, Maclean M, MacGregor SJ, Anderson JG. Lethal effects of high-intensity violet 405-nm light on *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, and on dormant and germinating spores of *Aspergillus niger*. *Fungal Biol*. 2013;117(7-8):519-27. doi: [10.1016/j.funbio.2013.05.004](https://doi.org/10.1016/j.funbio.2013.05.004)
10. Morton CA, Scholefield RD, Whitehurst C, Birch J. An open study to determine the efficacy of blue light in the treatment of mild to moderate acne. *J Dermatolog Treat*. 2005;16(4):219-223.
11. Mima EGDO, Pavarina AC, Silva MM, Ribeirão DG, Vergani CE, Kurachi C et al. Denture stomatitis treated with photodynamic therapy: Five cases. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2011;112(5):602-8. doi: [10.1016/j.tripleo.2011.05.019](https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2011.05.019)
12. Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia – FEBRASGO, Jacyntho C. Manual de orientação em trato genital inferior e colposcopia: vulvovaginites. São Paulo: FEBRASGO; 2010.
13. Imamura T, Tatehara S, Takebe Y, Tokuyama R, Ohshima T, Maeda N et al. Antibacterial and antifungal effect of 405 nm monochromatic laser on endodontopathogenic microorganisms. *Int J Photoenergy*. 2014;1-7. doi: [10.1155/2014/387215](https://doi.org/10.1155/2014/387215)
14. Okamoto T, Ishikawa I, Kumasaka A, Morita S, Katagiri S, Okano T et al. Blue-violet lighthitting diode irradiation in combination with hemostatic gelatin sponge (Spongel) application ameliorates immediate socket bleeding in patients taking warfarin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2014;117(2):170-7. doi: [10.1016/j.oooo.2013.09.009](https://doi.org/10.1016/j.oooo.2013.09.009)
15. Elman M, Slatkine M, Harth Y. The effective treatment of acne vulgaris by a high-intensity, narrow band 405–420 nm light source. *J Cosmetic & Laser Ther*. 2003;5(2):111-116.
16. Linhares IM, Giraldo PC, Baract EC. Novos conhecimentos sobre a flora bacteriana vaginal. *Rev Assoc Med Bras*. 2010;56(3):370-4. doi: [10.1590/S0104-42302010000300026](https://doi.org/10.1590/S0104-42302010000300026)

Anexo 5- Artigo referente a dissertação para publicação: The use of Light Emitting Diode in Healthy Vaginal Mucosa: a phase I clinical trial

The use of Light Emitting Diode in Healthy Vaginal Mucosa: a Pilot Study

ABSTRACT

Introduction: Healthy female genital mucosal presents an ecosystem that remains in balance through the interactions of endogenous and exogenous factors, and may be influenced by situations as hormonal variations and sexual intercourse. The Light Emitting Diode (LED) is a semiconductor device that emits light at different wavelengths, varying the color and effects generated by it. The use of blue light in humans is best known with an antimicrobial purpose, having already been used in the face region and gastric mucosa. **Objective:** To test the safety and effect of blue LED $401 \pm 5\text{nm}$ on healthy vaginal mucosa. **Materials and Methods:** This was a fase I clinical trial involving 10 women aged 18-45 years with healthy vaginal mucosa, that is, without signs and symptoms of vulvovaginitis, with typical Fresh Cytology findings and negative Test of Hydroxide Potassium (KOH). Were excluded women in the use of pacemakers, with diagnosis and/or suspicion of neoplasia, difficulty in answering anamnesis, neurological and/or psychiatric diseases, pregnant women, and those who started or stopped using hormonal contraceptive (HC) during the study. Initially, an anamnesis was carried out and subsequently, a physical examination and collection of vaginal secretion were carried out to perform a KOH test, fresh cytology. The volunteers who followed the study underwent to vaginal Hydrogen Potential (pH) verification and cervical-vaginal collection for oncotic cytology. Participants underwent a $401 \pm 5\text{ nm}$ blue LED session, with speculum introduced into the vaginal canal, for 30 minutes. Between 21 and 28 days after therapy, depending on the participant's menstrual cycle, she was again submitted to anamnesis, vaginal pH verification and analysis of vaginal microflora by oncotic cytology. **Results:** Ten women were included in the study, one of them was excluded because she stopped using HC after blue LED application. The mean age of the sample was 27 ± 5.4 years and the mean Body Mass Index (BMI) $25.25 \pm 3.05\text{ kg/m}^2$. There were no pathogenic changes in the vaginal microbiota of any participant. Regarding vaginal pH, only 1 of the 9 women in the study had a reduction in the value (5.0 - 4.0). In addition, no adverse effects such as pain or heat were seen in any of the women during or after the light use. **Conclusion:** The present study demonstrated that the use of the $401 \pm 5\text{ nm}$ blue LED in healthy vaginal mucosa of young women did not cause pathogenic changes in microflora and in vaginal pH values. In addition, there were also no observed adverse effects such as pain, warming or discomfort were observed during or after light use in the participants. It is suggested that the blue LED $401 \pm 5\text{ n}$ be used to verify the effects of light on vulvovaginal pathogens.

Key words: Female genitalia. Healthy. Low Intensity Light Therapy.

Introduction:

The female genital mucosal presents an ecosystem that remains in balance through the interactions between the vaginal microflora, products of microbial metabolism, hormonal condition and immune response ¹. The health of the vagina is maintained through the correlation between endogenous and exogenous processes, and the microflora is one of the main responsible for the normal physiology of the region by its defense mechanisms ².

The vaginal microflora is inhabited by different species of microorganisms which can be nonpathogenic and pathogenic³. The main component of healthy flora are *Lactobacillus* sp, which produce lactic acid, leaving the vaginal environment acid and inhospitable to pathogens, with normal pH between 3.8 and 4.5 ^{4,5}. In addition to these organic acids, lactobacilli also produce hydrogen peroxide and bacteriocins that are capable of inhibiting or destroying potential aggressive microorganisms ⁴. Several factors such as hormonal variations, sexual activity and use of medications may alter the composition of the vaginal microflora, causing an imbalance of the ecosystem and consequent predisposing to lower reproductive tract infections ².

The Light Emitting Diode (LED) is a semiconductor device that emits light at different wavelengths, causing variation of the color and of the obtained effects ^{6,7}. The LED has different possibilities of use, among them antimicrobial effect, increase of the cellular proliferation, cicatrization ^{7,8,9}.

Most studies using blue light report its use for antimicrobial purposes. This phototherapy has already been used for example in human skin and in human gastric mucosa for destruction of bacteria, without causing damage to local cells and without generating a thermal effect, what means that it is a possible form of treatment with minimal adverse effects ^{10,11}. In addition, the blue LED was used in female genitalia to treat recurrent vulvovaginal candidiasis and it presented a positive result without causing adverse effects ¹².

Due to previous use of blue light in humans, arises the hypothesis of its use in vaginal region for therapeutic purpose. In this way we conducted a phase I study with the objective of Testing the safety and effects of the blue LED 401 ± 5 nm in healthy vaginal mucosa.

Methodology:

The protocol was approved by the institutional review board of Federal University of Recôncavo da Bahia (UFRB) through the CAAE: 56391416.1.0000.0056 and it has a register number in the Clinical Trials (NCT03075046).

This is a descriptive clinical study fase I with 10 healthy women between 18 and 45 years old, with healthy vaginal mucosa. All study participants presented a normal cervico-vaginal cytology of the last 12 months. In addition, for participants to be included, they should not be using medications that influence in vaginal microflora such as antibiotics, corticosteroids or immunosuppressant,. The selection of the participants occurred by spontaneous demand, through referral of gynecology services and the study happened in a gynecological office, located in a medical center in Salvador city, Brasil.

We excluded women using pacemaker, diagnosed and/or suspected of neoplasias, who had difficulty answering the questions of anamnesis, neurological and/or psychiatric diseases, pregnant women, and those who during the study period started or stopped using hormonal contraceptive (HC), antibiotics, corticosteroids or immunosuppressant.

Initially, participants were interviewed for obtaining clinical and socio-demographic data as: age, Body mass index (BMI), schooling, monthly income, marital status, comorbidities (diabetes, systemic arterial hypertension (SAH), thyroid diseases, cardiopathy), history of neoplasia, history of epilepsy, cognitive deficit, neurological or psychiatric diseases, history of pregnancy/deliveries/abortion, surgery in the perineal region, presence of regular menstrual cycle, use of hormonal contraceptive (HC), use of steroids, use of immunosuppressants, hormonal therapy replacement, infection by human immunodeficiency virus, if they were sexually active (have had sexual intercourse in the last four weeks), fixed sexual partner, use of Daily intimate protector, use of specific product of intimate hygiene, wearing tight or synthetic underwear, if they were stressed or anxious)

After that, they underwent clinical examination, performed in a private room, always by the same professional. At that moment, some findings regarding the vaginal mucosa were considered as normality criteria for the inclusion in the research: absence of signs and symptoms indicative of pathologies such as pruritus, pain, burning, dysuria, erythema, fissure, edema, vulva-uterine excoriations and lumpy discharge; a negative Potassium Hydroxide Test (KOH) and Fresh Cytology with the use of saline to observe the vaginal secretion through an optical microscope. This last examination should present cells typical of the vaginal microbiota such as *Lactobacillus sp.* and/or other bacilli, absence or rare leukocytes and absence of fungal hyphae or fungal spores and pathogenic bacteria.

After analyzing these criteria, if the data found were compatible with normality, the participant would be submitted to the next phases of the study, evaluation of vaginal pH which was made through specific tapes (MColorpHastTM, Germany) introduced into the vaginal canal for one minute and collection of vaginal secretion for analysis of Oncotic Cytology, through Pap smear examination using the spatula of air (ectocervix material) and endocervical brush (endocervical material). It is important to emphasize that were considered normal the presence of *Lactobacillus sp.* and/or other bacilli, discrete inflammation and absence of cellular atypia.

The blue LED prototype was specifically developed for this study, and it has wavelength of 401 ± 5 nm, power of 30 W, mean irradiance of $0.000773 \text{ W / cm}^2$. It was used in the healthy women who followed the research, for 30 minutes. During the application of the light the woman was placed in dorsal position, with knees bent and hips in abduction and, for greater comfort of the participant, the feet were supported on the stretcher. The speculum used was small in order to reduce the risk of discomfort, and it was inserted in the vaginal canal and the device of the tripod-supported LED, external and static, in front of the vulvovaginal region, about 5 cm distance from it. Therapy was performed by a physiotherapist in a closed environment and the protocol consisted of only one session.

After an interval of 21 to 28 days, depending on the participant's menstrual cycle, she underwent a new similar evaluation with interview and tests such as oncotic cytology and measurement of vaginal pH for subsequent analysis of the data in a comparative manner.

In this interval of days, if there were any complaints, the participant was advised to attend the research location for gynecological consultation and, if necessary, she would receive the appropriate referrals.

In compliance with ethical questions, a sample calculation was not performed in order to be a pilot study, phase I, to test the safety and effect of the blue LED $401 \pm 5\text{nm}$ on healthy vaginal mucosa. This is a new technique, not previously used on female genitalia.

The Statistical Package for Social Sciences (SPSS), version 14.0 for Windows, was used for the elaboration of the database and descriptive analysis. The results were presented by tables. Numerical variables were expressed as mean and standard deviation, and categorical variables were expressed as absolute values.

Results:

Twenty women were initially invited to participate in this study. Of these women, ten were not included: four because they presented numerous leukocytes and supracyttoplasmic bacilli (suggestive of *Gardnerella / Mobiluncus*) visualized on fresh cytology and through the positive KOH test with odor exacerbation; two due to the presence of fungal hyphae *Candida sp.*, and four by finding numerous leukocytes, both of this results seen on fresh cytology.

Of the ten participants included in the study, one of them was excluded at the time of the reevaluation, due to interrupt HC.

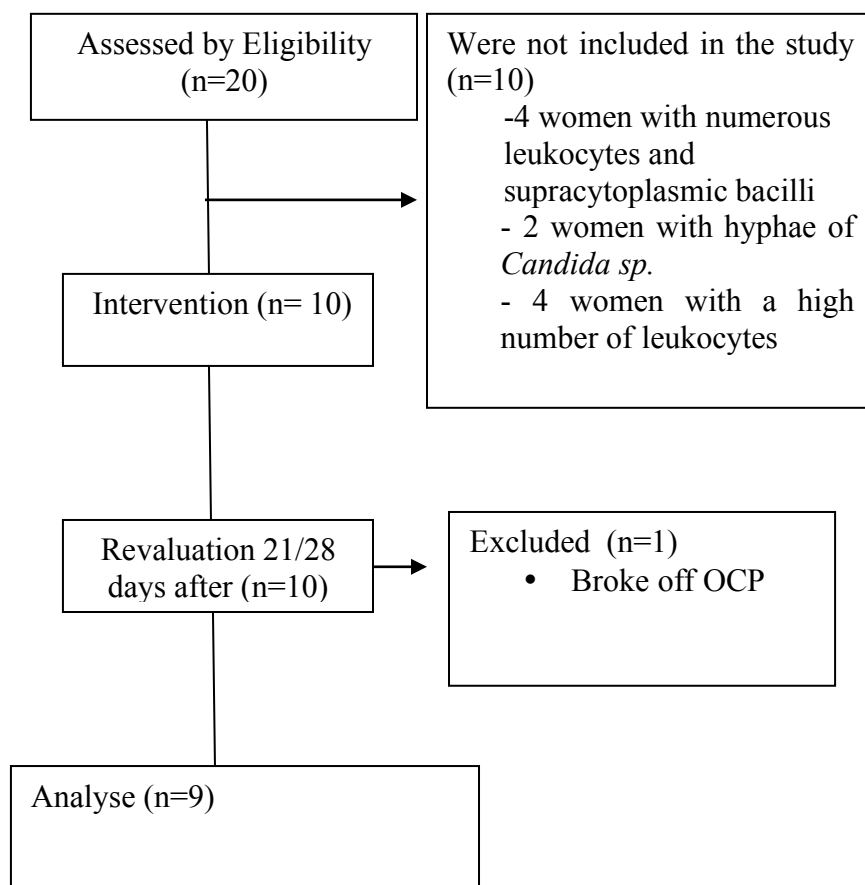


Illustration 4 - Randomization flowchart recommended by Consort.

The sociodemographic characteristics and the gynecological data are described in table 1. The mean age of the sample was 27 ± 5.4 years, and the mean BMI was 25.25 ± 3.05 kg / m². In addition, most women (seven) had a regular menstrual cycle and five of them used HC.

Table 1: Sociodemographic characteristics and gynecological data of 10 women submitted to the application of blue LED light 401 ± 5nm (Salvador-BA).

SC	Age	BMI	Use of OCP	MC	Change of Broken off the MC	Historic VV	G/C/A
1	22	31.2	No	Regular	No	No	0/0/0
2	31	22.4	Yes	Regular	No	No	0/0/0
3	25	28.7	Yes	Absent	No	Yes	0/0/0
4	25	24.7	Yes	Regular	No	Yes	0/0/0
5	22	23.3	Yes	Regular	-	Yes	0/0/0
6	24	24.0	Yes	Absent	No	No	0/0/0
7	21	22.4	No	Irregular	No	No	0/0/0
8	29	27.3	No	Regular	No	Yes	0/0/0
9	36	22.2	No	Regular	No	Yes	0/0/0
10	35	25.9	No	Regular	No	No	0/0/0

SC = Sample code; BMI= Body Mass Index; OCP= Hormonal oral contraceptive; CM= Menstrual cycle; MC= Contraceptive method; VV= Vulvovaginitiss; GCA= Gestation, Childbirth, Abortion.

Regarding the life habits, among the five that were sexually active, three of them did not use condoms in sexual relations. In addition, most of them did not use specific hygiene products and daily intimate protectors and half of them made frequent use of internal absorbent.

Tabela 2: Life habits of 10 women submitted to the application of blue LED light 401 ± 5nm (Salvador-BA).

SC	Sexually active	Condom	Use DIP	IT	Place to dry underwear	Use of IHP
1	No	-	No	No	Airy	No
2	Yes	Yes	Yes	Yes	Moist	No
3	No	-	No	No	Moist	No
4	Yes	No	No	Yes	Moist	Yes
5	Yes	No	No	Yes	Moist	Yes
6	Yes	No	Yes	No	Airy	Yes
7	No	-	No	No	Moist	No
8	No	-	No	Yes	Moist	No
9	Yes	Yes	No	No	Moist	No
10	No	-	No	Yes	Airy	Yes

SC = Sample code; DIP= daily intimate protector; IT= Internal tampons; IHP= Intimate hygiene product.

Regarding the cytological data, no pathogenic modification in the composition of microflora was observed in any of the participants; being kept the findings of benign cellular alterations (discrete inflammation). Regarding pH, among the nine participants in the study, eight presented equal values in the two moments of the

evaluation; and one presented reduction (5.0 - 4.0). One of the participants presented atrophy and it remained in reevaluation.

Tabela 3: Cytological and chemical data of 10 women submitted to the application of blue LED light 401 ± 5nm (Salvador-BA).

SC	pH		Microflora		BCC		Cellular Atypia	
	T 1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2
1	4.0	4.0	LB	LB	ID	ID	Absent	Absent
2	4.0	4.0	LB +OB	LB+OB	ID	ID	Absent	Absent
3	4.0	4.0	LB	LB	ID	ID	Absent	Absent
4	5.0	5.0	LB+OB	LB+OB	ID+AT	ID+AT	Absent	Absent
5	4.0	-	LB	-	ID	-	-	-
6	4.0	4.0	LB	OB	ID	ID	Absent	Absent
7	4.0	4.0	LB	LB	ID	ID	Absent	Absent
8	4.0	4.0	LB	LB	Absent	Absent	Absent	Absent
9	5.0	4.0	LB+OB	LB	Absent	Absent	Absent	Absent
10	4.0	4.0	LB+OB	LB+OB	ID	ID	Absent	Absent

SC= Sample code; T1= Time 1; T2= Time 2; pH= Potencial Hidrogen; LB= *Lactobacillus sp.*; OB= Other Bacilli; BCC= Benign cellular changes; DI= Discrete Inflammation; AT= Atrophy.

None of the participants reported adverse effects such as warming and pain during and/or after exposure to blue LED 401 ± 5nm, and the therapist did not observe the appearance of erythema in the exposed region. One of the participants reported discomfort during the passage of the speculum through the vaginal canal, however this episode was remedied within minutes with the accommodation of the equipment in place.

Discussion

The present study is a phase I clinical trial, pioneering in the use of the blue LED 401 ± 5nm in healthy vaginal mucosa and suggests that this light cause no adverse effect in young healthy women. There were no complains for heating or pain, either no pathogenic modifications or appearance of cellular.

The fact that no adverse effects were observed among participants of this research during or after the application of blue LED can be explained because this phototherapy is non-invasive, athermic therapeutic mode and also it has a superficial penetration. Some studies have already used blue light in humans in different regions

and have also demonstrated no adverse effects ^{11,12,13}.

The blue LED (405-420nm), with irradiance ranging from 50 to 200 W / cm², was applied in face region of 46 participants with acne. There were no adverse effects or pain or discomfort in any of the subjects involved ¹³. In the same way, blue light (409-419 nm), with a variation of doses between the groups of 24J/cm² and 48J/cm². was applied in 30 patients with acne on the face and was seen self-limited reactions, exclusively in lesion regions. It was observed erythema in 16 (53%), dryness of skin in four (13%) of them and mild pruritus in five (16%)¹⁴. These self-limited reactions can be justified by the inflammatory characteristics of the injured areas and by the interaction of the blue LED with the bacterium present in acne.

In the present study there was no reported adverse effect secondary to exposure to blue light, only one participant reported discomfort during passage of the speculum through the vaginal canal. It is believed that this fact can be explained by the incomplete relaxation of the perineal musculature during the introduction of the device, since this complaint is common among women who undergo gynecological examination, and is one of the justifications for non-performance of its ¹⁵. The absence of lubricant use and pelvic muscle tension could explain the discomfort during the passage of the speculum reported by one participant^{15,16}.

The mechanism of action of the LED is by photobiomodulation, that is to stimulate local cells, promoting activation of its and regulating its operation, with minimum of adverse effects. In addition, this light is considered benign for human exposure when used at appropriate wavelength and irradiance, with approval even by Food and Drug Administration (FDA) ^{16,17}. These characteristics of the light may support the fact that there were no pathogenic modifications in vaginal microflora of women involved in this study.

By universal mechanism of photoactivation, LED light is capable of promoting cell proliferation, increase production of ATP and of local vascularization ^{9,16}. Participants in this study had healthy vaginal mucosa and maintained these characteristics at reevaluation. It is believed that even if local cellular activation occurred due to light action, the balance of the vaginal microbiota was maintained, without pathological or atypical alterations.

A pilot study involving eight healthy people observed unchanged skin after light blue light therapy (380-480nm) for five consecutive days, with a daily irradiance of 20 J/cm². It was observed transient melanogenesis in one participant and greater

vascularization without consequent apoptosis, which allowed them to suggest that the use of blue light on human skin for a short period of time is safe¹⁹.

Ganz et al. (2005) developed a study using $405 \pm 2\text{nm}$ blue light with irradiance of $40\text{J} / \text{cm}^2$ in symptomatic patients diagnosed with *Helicobacter pylori* in the stomach region. These authors also find neither adverse effects nor histological alterations after blue LED therapy,¹¹.

A case report was made with a participant diagnosed with recurrent vulvovaginal candidiasis in which 3 blue LED sessions ($401 \pm 5\text{nm}$) were applied in the vaginal region. In the study, no adverse effects were observed during or after use of the blue LED and no cellular alterations suggestive of malignancy were also observed when compared to oncotic cytology tests before and three months after treatment. The study points out that there was no variation in cells typical of the vaginal microbiota, but does not support this result¹².

In the present study, all the participants maintained a healthy vaginal microflora composition, what suggests that the blue LED $401 \pm 5\text{nm}$ does not present risks to the balance of the healthy vaginal ecosystem. Two participants had a change in the composition of microflora, in relation to the types of bacilli found, but the new findings of reevaluation were typical of healthy vaginal microbiota.

The differences seen in the composition of the vaginal flora of the two participants of this study can be explained not specifically as a change of the types of bacilli, but these certainly were already present but were not visualized in the initial oncotic cytology examination because they were not the most prevalent at that moment. In addition, when these variations occur, they are considered normal since endogenous and exogenous factors exert a direct influence on vaginal ecosystem fluctuations and, in addition, it is known that healthy vaginal ecosystems are not exclusively composed of *Lactobacillus sp.* types of bacilli^{1,2,20}.

Among the factors that may cause physiological fluctuations in the composition of the vaginal microflora it is the sexual intercourse. Through the very friction that occurs in the mucosa during sexual intercourse there is the possibility of microtraumas that may lead to changes in local characteristics. In addition, either by the contact of the acidic vaginal mucosa with the semen that has alkaline characteristics, or by the contact of the mucosa with the chemical components of the condom, there may be fluctuations in the composition of the vaginal microflora^{1,21,22}.

One of the participants who presented changes in vaginal microbiota used

specific products of intimate hygiene and daily protectors frequently, which can also cause variations in the composition of the vaginal ecosystem and in some cases even interfere in local health^{23,24}. The non-use of HC and the presence of regular menstrual cycle, which was the case of the other participant who presented flora modification, is also responsible for promoting important hormonal oscillations throughout the days of the cycle and this fact can also interfere in the composition of vaginal microbiota¹.

In all participants, it was possible to observe the maintenance of the discrete inflammation when comparing the two moments of evaluation. This finding is considered normal and typical of healthy vaginal mucosa^{20,22}.

Most of the participants of this study maintained the same vaginal pH values when compared the two assessment moments, and only one of them had a reduction in pH (5.0 - 4.0). This finding is configured as an adequacy of vaginal pH value, since values between 3.8 and 4.5 are considered normal and is characterized as a protective factor of the vaginal environment against pathogen infections due to its acidic characteristic^{5,21,25,26}. No basements were found that could correlate this change in the pH value with the use of the blue LED 401 \pm 5nm, but it is known that the oscillations in the acidity of the region occur physiologically and are linked to maintaining of the balance of the vaginal flora.

As limitations of the study, it is possible to quote the absence of research on the period of the menstrual cycle of the participants at the evaluation dates, since this may be an interference factor in the composition of the vaginal microflora. In addition, this study did not investigate blood hormone values nor specific local immunity data of the vagina as presence of defense cells before and after light use in the participants involved.

This study suggests that the blue LED 401 \pm 5nm may be a possible alternative for the treatment of vulvovaginal dysfunctions, however, there is a need for further studies using the blue LED 401 \pm 5nm in women with pathologies in the genitourinary tract to verify the effect in relation to the dysfunctions. The Research Group involved in the development of this research is executing new phases of clinical trials continuing the clarification about the response of the blue LED 401 \pm 5nm in female vaginal mucosa.

Conclusion

The present study demonstrated that the use of the 401 ± 5 nm blue LED in healthy vaginal mucosa of young women did not cause pathogenic changes in microflora and in vaginal pH values. In addition, there were also no observed adverse effects such as pain, warming or discomfort were observed during or after light use in the participants.

It is suggested that the blue LED 401 ± 5 nm be used to verify the effects of light on vulvovaginal pathogens.

References:

1. Giraldo PC, Amaral RLG, Gonçalves AK, Vicentini R, Martins CH, Giraldo H, et al. Influência da frequência de coitos vaginais e da prática de duchas higiênicas sobre o equilíbrio da microbiota vaginal. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2005; 27(5): 257-62.
2. Linhares IM, Giraldo PC, Baract EC. Novos conhecimentos sobre a flora bacteriana vaginal. *Rev Assoc Med Bras.* 2010; 56(3): 370-4.
3. Mills BB, Vaginitis: Beyond the basics. *Obstet Gynecol Clin.* 2017; 44:159–177.
4. Brolazo EM, Simões JA, Nader MEF, Tomás MSJ, Gregoracci GB, Marconi C. Prevalência e caracterização de espécies de lactobacilos vaginais em mulheres em idade reprodutiva sem vulvovaginites. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2009;31(4):189-95.
5. Feuerschuette OTM, Silveira SK, Feuerschuette I, Corrêa T, Grando L, Trepani A. Candidíase vaginal recorrente: manejo clínico. *Femina.* 2010;38(2):31-36
6. Estrela JV, Duarte CCF, Almeida DNA, Araruna VR, da Silva RMV, Cavalcanti RL, et al. Efeito do LED na flacidez tissular facial. *Catussaba.* 2014; 3(2): 29-36.
7. Meyer PF, Sc D, Araújo HG De, Goretti M, Carvalho F, Ingrid B, et al. Assessment of effects of LED on skin wound healing in Wistar rats. 2010;11:428–32.
8. Agnes JE. *Eu sei eletroterapia.* 2 ed. Santa Maria: Pallotti, 2011.
9. Murdoch LE, McKenzie K, Maclean M, MacGregor SJ, Anderson JG. Lethal effects of high-intensity violet 405-nm light on *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, and on dormant and germinating spores of *Aspergillus niger*. *Fungal Biol [Internet].* 2013;117(7-8):519–27.
10. Maclean M, McKenzie K, Anderson JG, Gettinby G, MacGregor SJ. 405 nm light technology for the inactivation of pathogens and its potential role for environmental disinfection and infection control. *J Hosp Infect.* 2014; 88(1):1-11.

11. Ganz RA, Viveiros J, Ahmad A, Ahmadi A, Khalil A, Tolkoﬀ MJ, et al. *Helicobacter pylori* in patients can be killed by visible light. *Lasers Surg Med*. 2005 Apr; 36(4): 260-5.
12. Robatto M, Pavie MC, Tozetto S, Brito MB, Lordêlo P. Blue light emitting diode in treatment of recurring vulvovaginal candidiasis: a case report. 2017;5(4):162-168. doi: 17267/2317-3386bjmhh.v5i4.1472.
13. Elman M, Slatkine M, Harth Y. The effective treatment of acne vulgaris by a high-intensity, narrow band 405–420 nm light source. *J Cosmetic & Laser Ther*. 2003; 5: 111–116.
14. Morton CA, Scholefield RD, Whitehurst C, Birch J. An open study to determine the efficacy of blue light in the treatment of mild to moderate acne. *J Dermatolog Treat*. 2005;16:219–223.
15. Silva JB, David SD, Zalc JM, Lippi UG, Baracat FF, Lopes RGC. Influência da lubrificação do espêculo vaginal na interpretação da colpocitologia oncótica. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet*. 2005; 27(6): 347-52.
16. Higgins JA, Smith NK. The Sexual Acceptability of Contraception: Reviewing the Literature and Building a New Concept. *The Journal of Sex Research*, 53(4-5), 417–456, 2016.
17. Inamura T, Tatehara S, Takebe Y, Tokuyama R, Ohshima T, Maeda N, et al. Antibacterial and Antifungal Effect of 405 nm Monochromatic Laser on Endodontopathogenic Microorganisms. 2014.
18. Whelan HT, Smits RL Jr, Buchman EV, Whelan NT, Turner SG, Margolis DA, et al. Effect of NASA light-emitting diode irradiation on wound healing. *J Clin Laser Med Surg*. 2001 Dec;19(6):305-14.
19. Karu T. Photobiological Fundamentals of Low-Power Therapy. *IEEE Journal of Quantum Electronics*, New York, v. 23, n. 10, p. 1703-1717, 1987.
20. [Kleinpenning MM](#), [Smits T](#), [Fruent MH](#), [van Erp PE](#), [van de Kerkhof PC](#), [Gerritsen RM](#). Clinical and histological effects of blue light on normal skin. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2010 Feb;26(1):16-21.
21. Consolaro MEL, Engler SSM. *Citologia clínica cérvico-vaginal*. 1º edição. São Paulo: Roca; 2012.
22. Borges S, Silva J, Teixeira P. The role of lactobacilli and probiotics in maintaining vaginal health. *Arch Gynecol Obstet*. 2013.
23. Koss LG, Gompel C. *Introdução a citopatologia ginecológica com correlações histológicas e clínicas*. 1ª edição. São Paulo: Rocca; 2006.
24. ZLK Jármy-Di Bell, Araujo MP, Martins_{KDF}, Zucchi_{EVM}, Girão MJBC, Sartori_{MGF}. O uso de sabonetes íntimos femininos. *Femina*. 2009; 37(4): 229-35.

25. Bride MBM, Rhodes DJ, Shuster LT. Vulvovaginal atrophy. [Mayo Clin Proc](#). 2010 Jan; 85(1): 87–94.

26. Donders GG. Definition and classification of abnormal vaginal flora. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology* Vol. 21, No. 3, pp. 355–373, 2007.