



Serviço Público Federal  
Ministério da Educação  
**Fundação Universidade Federal do Mato Grosso do Sul**



**Instituto de Biociências - INBIO**  
**Curso de Graduação em Ciências Biológicas - Bacharelado**

**LETÍCIA MUXFELDT NAZIAZENO**

**DESEMPENHO DA INATIVAÇÃO FOTODINÂMICA NO TRATAMENTO DE  
INFECCÕES FÚNGICAS VARIADAS:  
UMA REVISÃO DA LITERATURA**

Campo Grande - MS

2023



Serviço Público Federal  
Ministério da Educação  
**Fundação Universidade Federal do Mato Grosso do Sul**



**Instituto de Biociências - INBIO**  
**Curso de Graduação em Ciências Biológicas - Bacharelado**

**LETÍCIA MUXFELDT NAZIAZENO**

**DESEMPENHO DA INATIVAÇÃO FOTODINÂMICA NO TRATAMENTO DE  
INFECCÕES FÚNGICAS VARIADAS:  
UMA REVISÃO DA LITERATURA**

Trabalho de conclusão de curso, modalidade Revisão Bibliográfica, apresentado ao Curso de Graduação em Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, como requisito final à obtenção do título de bacharel.

Orientadora: Profa. Dra. Carla Santos de Oliveira

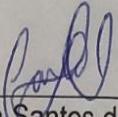
Campo Grande - MS

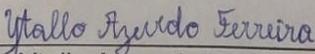
2023

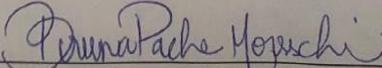


**Ata da Defesa de Monografia do Curso de Ciências Biológicas - Bacharelado**

Ao primeiro dia do mês de dezembro do ano de dois mil e vinte três, às 9:30 horas, presencialmente, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos professores: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carla Santos de Oliveira, Dr. Ytallo Azevedo Ferreira e Me. Bruna Pache Moreschi para julgar o Exame de Defesa da Monografia da aluna Letícia Muxfeldt Naziazeno do Curso de Ciências Biológicas - Bacharelado do Instituto de Biociências da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, intitulada: **“Avaliação do Desempenho da Inativação Fotodinâmica no Tratamento de Infecções Fúngicas variadas: Uma revisão da Literatura”**. A presidente da Banca Examinadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carla Santos de Oliveira, declarou abertos os trabalhos. A seguir, concedeu palavra à aluna que apresentou a sua monografia. Terminada a exposição, os senhores membros da Banca Examinadora iniciaram as arguições. Terminadas as arguições, a presidente da Banca Examinadora fez suas considerações. A seguir a Banca Examinadora reuniu-se para avaliação. Retomando a sessão a Banca Examinadora emitiu o parecer considerando o texto e a apresentação. O resultado anunciado foi o seguinte: APROVADA. Nada mais a ser tratado, a Presidente declarou a sessão encerrada. Em seguida, esta ata, depois de lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Banca Examinadora.

  
\_\_\_\_\_  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carla Santos de Oliveira

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Ytallo Azevedo Ferreira

  
\_\_\_\_\_  
Me. Bruna Pache Moreschi



## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, pela estrutura para a realização do curso.

À minha orientadora, professora Dra. Carla, pelos valiosos ensinamentos e pela dedicação no auxílio do desenvolvimento do meu trabalho.

Ao meu noivo Luiz Miguel, pela paciência e pelo companheirismo.

À minha psicóloga Tamyres, por tornar os obstáculos da Graduação mais leves de serem enfrentados.

À minha mãe, que me proporcionou suporte financeiro para me auxiliar na realização de um sonho.

Aos meus colegas de classe, Claudia Adriene, Marieli Aparecida e Vinicius Santos pela parceria.

Ao professor Dr. Andre Aptroot, por compartilhar seus conhecimentos, e ser uma fonte de inspiração profissional.

Aos meus amigos, por sempre estarem comigo.

A todos os que me ajudaram e acompanharam a minha jornada durante a Graduação, muito obrigada!



Serviço Público Federal  
Ministério da Educação  
**Fundação Universidade Federal do Mato Grosso do Sul**



“Não é na Ciência que está a felicidade, mas na aquisição da Ciência.”

*Edgar Allan Poe*



## RESUMO

A inativação fotodinâmica envolve a administração de um agente fotossensibilizador (FS) que, quando exposto a um comprimento de onda de luz específica, gera espécies reativas de oxigênio (EROS) como oxigênio singlete e superóxidos, causando a inativação ou morte de microrganismos. Este estudo visa avaliar, por meio de uma revisão da literatura dos últimos 10 anos, a eficácia da terapia de fotoinativação (TFI) como tratamento complementar no combate a infecções causadas por quatro espécies de microrganismos fúngicos oportunistas e/ou patogênicos à saúde humana: *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Trichophyton rubrum*. Os resultados destacaram que a TFI demonstrou eficácia significativa na redução das unidades formadoras de colônias (UFC's), principalmente quando associada a agentes antifúngicos e aplicada com critérios rigorosos, incluindo a seleção ideal do FS e a utilização da luz com o comprimento de onda específico de absorção máxima em dose adequada. Essa modalidade terapêutica oferece um potencial promissor no tratamento de infecções fúngicas, sugerindo um tratamento alternativo, eficaz e inovador, principalmente em pacientes imunossuprimidos ou imunocomprometidos.

**Palavras-chave:** Inativação fotodinâmica antimicrobiana. *Aspergillus fumigatus*. *Candida albicans*. *Saccharomyces cerevisiae*. *Trichophyton rubrum*.



## ABSTRACT

Photodynamic inactivation involves the administration of a photosensitizer (PS) that, when exposed to a specific wavelength of light, generates reactive oxygen species (ROS) such as singlet oxygen and superoxides, resulting in the inactivation or death of microorganisms. This study aims to assess, through a literature review of the past 10 years, the efficacy of photoinactivation therapy (PDT) as an adjunct treatment for combating infections caused by four opportunistic and/or pathogenic fungal microorganism species to human health: *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, and *Trichophyton rubrum*. The results highlighted that PIT demonstrated significant efficacy in reducing colony-forming units (CFU's), particularly when combined with antifungal agents and applied with stringent criteria, including the optimal selection of the PS and the use of light with the specific wavelength for maximum absorption at the appropriate dosage. This therapeutic approach holds promising potential for the treatment of fungal infections, suggesting an effective and innovative alternative, especially for immunosuppressed or immunocompromised patients.

**Keywords:** Antimicrobial photodynamic inactivation. *Aspergillus fumigatus*. *Candida albicans*. *Saccharomyces cerevisiae*. *Trichophyton rubrum*.

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

% - Por cento

< - Menor que

> - Maior que

± - Mais ou menos

® - Marca registrada

°C - Grau Celsius

µg - Micrograma

µg/mL - Micrograma por mililitro

µL - Microlitros

µM - Micromolar

µMol - Micromoléculas

ng/mL - Nanogramas por mililitro

<sup>0</sup>S - Fotossensibilizador no estado fundamental

<sup>1</sup>FS\* - Fotossensibilizador no estado singleto

<sup>3</sup>FS\* - Fotossensibilizador no estado tripleto

<sup>1</sup>O<sub>2</sub> - Oxigênio singleto

AIDS - *Acquired Immunodeficiency Syndrome*

ALA - Ácido 5-aminolevulínico

ATCC - *American Type Culture Collection*

Balb/c - Linhagem específica de camundongos de laboratório, conhecida por sua cor albina e predisposição a desenvolver tumores mamários.

cm<sup>2</sup> - Centímetro quadrado

CNI - Controle Negativo da Infecção

CURC - Abreviação de “curcumina”

EROS - Espécies Reativas de Oxigênio

FS - Fotossensibilizador

FS's - Fotossensibilizadores

g - Grama

h - Hora

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - Peróxido de hidrogênio

H<sub>2</sub>DCFDA - Diacetato de dicloridofluoresceína

Hp IX - Hematoporfirina XI

J/cm<sup>2</sup> - Joules por centímetro quadrado

L - Litro

Laser - *Light Amplification By Stimulated Emission Of Radiation*

LED - *Light Emitting Diode*

log - Logaritmo

log<sub>10</sub> - Logaritmo na base 10

mg/mL - Miligrama por mililitro

mg/L - Miligrama por litro

min - Minutos

mL - Mililitro

mm - Milímetros

mM - Milimolar

mW - Miliwatt

mW/cm<sup>2</sup> - Miliwatt por centímetro quadrado

nm - Nanômetro

NYS - Nistatina

NBRC - *NITE Biological Resource Center*

O<sub>2</sub> - Oxigênio molecular

ONOO· - Peroxinitrito

NO· - Radical nitroso

p - Nível de significância estatística

p/v - Peso por volume

p/p - Peso por peso

PACT - *Photodynamic Antimicrobial Chemotherapy*

PBS - *Phosphate Buffered Saline*

PDI - *Photodynamic Inactivation*

PDZ - *Photodithazine*®

PLGA - Poli(ácido lático-co-glicólico)

PpNpNI-Dimetil-8,13-divinil-3,7,12,17-tetrametil-21H,23H-porfirina-2,18-bis[-N[-3-dimetilamina)propil]butanamida]

PpNpNA-Dimetil-8,13-divinil-3,7,12,17-tetrametil-21H,23H-porfirina-2,18-bis[-N[-3-dimetilamina)propil]butanamida]

Pp IX - Protoporfirina IX

RNS - *Reactive Nitrogen Species*

RED - Sigla referente ao pigmento avermelhado da variante de *Saccharomyces cerevisiae*

s - Segundos

SiO<sub>2</sub> - Dióxido de silício

SOD's - *Superoxide dismutases*

TFD - Terapia Fotodinâmica

TFI - Terapia de Fotoinativação ou Inativação Fotodinâmica

UFC/mL - Unidades Formadoras de Colônias por mililitro

UFC's - Unidades Formadoras de Colônias

UVA - Raio ultravioleta A ou *ultraviolet-A light*

YCK1 - *Yeast Casein Kinase 1*

W - Watts

ZnPc - Ftalocianina de zinco

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>13</b>
2.1 Objetivo Geral.....	13
2.2 Objetivos Específicos.....	13
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>14</b>
<b>4. REVISÃO DE LITERATURA E DISCUSSÃO.....</b>	<b>14</b>
4.1 Tratamento convencional de fungos patogênicos.....	15
4.2 Histórico da Terapia de Fotoinativação.....	16
4.3 Mecanismo de ação da Terapia de Fotoinativação.....	17
4.4 Inativação Fotodinâmica no tratamento de fungos patogênicos.....	18
4.5 Fonte de luz e Fotossensibilizadores.....	18
4.6 Infecções fúngicas.....	21
4.6.1 <i>Candida albicans</i> .....	22
4.6.2 <i>Aspergillus fumigatus</i> .....	28
4.6.3 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	32
4.6.4 <i>Trichophyton rubrum</i> .....	34
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>39</b>
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>43</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>45</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A Terapia Fotodinâmica (TFD), é uma categoria terapêutica promissora no tratamento de algumas doenças de caráter oncológico. O método baseia-se no princípio do uso de uma substância fotossensível (fotossensibilizador - corante não tóxico) que ao receber um comprimento de onda de luz visível específica, adequada, e presente em uma região tecidual, desencadeia uma cascata de reações que geram espécies tóxicas altamente reativas para o alvo biológico. (DOUGHERTY et. al., 1998; GONÇALVES et. al., 2021). Por consequência, as espécies podem reagir com moléculas vizinhas do meio, causando danos ao tecido. Se consequentemente ao ser incorporado a células cancerígenas, é possível danificar organelas-alvo, como mitocôndrias, levando à destruição do tumor maligno (JUNQUEIRA, 2002; TARDIVO et. al., 2005).

O processo ocorre no momento em que o oxigênio presente nas células, ao entrar em contato com o agente fotossensibilizador (FS) no estado excitado, reagirá com as moléculas vizinhas por transferência de elétrons ou hidrogênio, retornando o mesmo ao seu estado fundamental. O oxigênio então encontra-se no estado tripleto, e na medida que há interação com o FS, o mesmo é levado a um estado ainda mais elevado de excitação (singleto), gerando uma espécie reativa. Sendo assim, no momento em que um oxigênio passa do seu estado fundamental para o singleto, ocorre a destruição celular devido a oxidação de seus componentes (RIBEIRO, et. al., 2005; PERUSSI, 2007; ARAÚJO, et. al., 2012).

A TFD já foi aprovada para o tratamento de diversos tipos de câncer, além de outras aplicações não oncológicas como lesões pré-malignas, psoríase, artrite, dentre outras doenças. Além disso, a técnica mostrou ser eficaz contra infecções causadas por microrganismos patogênicos como algumas espécies de fungos, bactérias, e vírus, a partir do uso de um FS e comprimento de luz apropriados, denominando assim esse processo de Inativação Fotodinâmica (“TFI ou PDI - inglês, *Photodynamic Inactivation*”) ou Quimioterapia Fotodinâmica Antimicrobiana (“PACT, *Photodynamic Antimicrobial Chemotherapy*”) (WAINWRIGHT, 1998; GAD et. al. 2004; PERUSSI, 2007).

O interesse por fármacos específicos no tratamento antifúngico vem aumentando significativamente nos últimos anos, em virtude do crescimento de casos de infecções fúngicas causadas por micoses oportunistas ou adquiridas em ambiente hospitalar. A maioria desses medicamentos são fungistáticos, ou seja, não provocam a morte do microrganismo, somente inibem a proliferação. Além disso, o uso constante e progressivo de antibióticos de amplo espectro, leva ao aparecimento de linhagens resistentes (CARRÉ et. al., 1999 &

PERUSSI, 2007). Os principais alvos no tratamento por TFI para fungos patogênicos ou potencialmente patogênicos, de relevância clínica, são as seguintes espécies: *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Trichophyton rubrum*, sendo o último muito presente na boca, trato gastrointestinal, garganta e pele, podendo causar prejuízos para a saúde de imunocomprometidos, como pessoas com HIV (PERUSSI, 2007). Estudos demonstram que há resistência de *Candida albicans* contra o medicamento fluconazol, muito utilizado por esses indivíduos (REX et. al., 1995 & PERUSSI, 2007).

A alta performance antimicrobiana resultante da TFI, e das taxas sem sucesso do tratamento antifúngico por fármacos a longo prazo, torna-se relevante um levantamento bibliográfico na literatura científica sobre o uso desta terapia no combate a diferentes tipos de fungos patogênicos, e identificação de qual(as) espécie(es) apresentam melhor resposta ao tratamento. Portanto, o objetivo da presente revisão narrativa de literatura foi discorrer sobre o mecanismo de ação da TFI no combate a infecções causadas por fungos patogênicos ou potencialmente patogênicos, avaliando-o em quatro espécies distintas dos mesmos.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Revisar a produção literária existente sobre a TFI como tratamento adjuvante no combate de quatro espécies de microrganismos fúngicos oportunistas e patogênicos à saúde humana.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Realizar uma revisão da literatura científica a fim de identificar estudos que exploram o uso da TFI no tratamento de infecções causadas por *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Trichophyton rubrum*.
- Analisar a eficácia da inativação fotodinâmica na eliminação total ou parcial dos microrganismos fúngicos *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichophyton rubrum*, em estudos *in vitro* e *in vivo*.

- Analisar parâmetros experimentais, tais como a concentração e natureza do FS, tempo de irradiação e incubação das amostras, comprimento de onda da luz emitida, a fim de verificar como estes parâmetros influenciam na eficácia do tratamento de infecções causadas por *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichophyton rubrum*.
- Identificar os desafios e as restrições associados à implementação da Inativação Fotodinâmica no tratamento de infecções fúngicas, incluindo resistência fúngica.
- Destacar as perspectivas futuras para os adjuvantes eficazes no tratamento de infecções fúngicas.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de uma revisão narrativa de literatura, realizada por meio da coleta de trabalhos científicos. A busca pelos materiais desta revisão foi realizada através de um levantamento a partir dos bancos de dados online: Google Acadêmico e *Researchgate*. Foram utilizadas as seguintes palavras-chave para a busca do material online: “terapia fotodinâmica”, “*photodynamic therapy*”, “antifúngico”, “*antifungal*”, “inativação fotodinâmica”, “*photodynamic inactivation*”, “controle biológico” e “*biological control*”, nos idiomas português e inglês, respectivamente. Para o refinamento da estratégia de busca nas bases de dados, foram utilizados os descritores booleanos “AND” e “OR”.

Os critérios utilizados para pesquisa e inclusão dos trabalhos incluíram estudos que explorassem o uso da TFI no tratamento de infecções causadas por quatro espécies distintas de fungos patogênicos, escritos nas línguas Portuguesa e Inglesa. Para esta pesquisa, foram excluídos trabalhos caracterizados como monografias de conclusão de curso, livros e artigos científicos que não apresentaram seus respectivos resumos ou *abstracts* nas plataformas de busca, ou que não estivessem alinhados com o assunto. Para a realização da presente revisão da literatura, foram criteriosamente escolhidos apenas alguns trabalhos que abordassem o tema.

### 4. REVISÃO DE LITERATURA E DISCUSSÃO

#### 4.1 Tratamento convencional de fungos patogênicos

O uso de antibióticos no tratamento de microrganismos patogênicos é uma prática conhecida na história da humanidade, com o descobrimento da penicilina em 1928, o qual foi muito utilizado no período da Segunda Guerra Mundial. Devido ao uso prolongado, o gênero de bactérias *Staphylococcus* criou resistência à penicilina, e esse mecanismo propagou-se em variados microrganismos patogênicos, nas décadas seguintes. As infecções causadas por microrganismos resistentes a fármacos podem ser consideradas como doenças de caráter emergente, devido à limitação do tratamento e com potencial de afetar a população mundial por um todo (ROCHA et. al., 2015). Há uma estimativa de que até o ano de 2050, por ano mais de 10 milhões de pessoas poderão vir à óbito em decorrência do desenvolvimento de doenças relacionadas à resistência de microrganismos patogênicos à medicamentos antimicrobianos, superando o câncer (TRAN-DIEN et al., 2018 & DIAS et. al., 2020).

As infecções fúngicas, como micoses popularmente conhecidas, são classificadas como superficiais ou cutâneas quando atingem somente pele, cabelo ou unhas, e sistêmicas quando a infecção atinge regiões mais profundas do organismo. Existem poucas espécies de fungos com alta patogenicidade, entretanto, dependendo da condição imunológica do indivíduo, esse microrganismo pode se comportar como patógeno oportunista (PARENTE et. al., 2017 & BERTO et. al., 2018).

Estima-se que há aproximadamente de 80.000 a 100.000 espécies de fungos descritas na literatura, porém, apenas 50 causam infecção em animais e seres humanos (TAVARES, 2001 & MURRAY et. al., 2017). As principais substâncias antifúngicas popularmente conhecidas e em uso, são classificadas de acordo com o efeito farmacológico, ou seja, princípio ativo, e mecanismo de ação, sendo divididos nos seguintes grupos: polienos, imidazólicos, triazólicos, equinocandinas, inibidores da síntese de quitina, alilaminas e antimetabólitos (BERTO et. al., 2018 & MURRAY et. al., 2017).

As infecções fúngicas sistêmicas, em sua grande maioria, possuem caráter oportunista, (GUARNER 2017 & BERTO et. al., 2018). O número de infecções fúngicas e invasivas cresceu consideravelmente nos últimos vinte anos. Algumas hipóteses foram levantadas para justificar o motivo desse crescimento, das quais pode-se citar: a popularização do uso de medicamentos antineoplásicos e imunossuppressores, utilização de antibióticos em larga escala e por longo período, utilização de dispositivos protéticos. Foi verificado que indivíduos com HIV ou que possuem queimaduras de alto grau, ou imunocomprometidos, possuem uma

grande predisposição para contrair infecções de natureza fúngica (EGGIMANN et. al., 2003; DONNELLY et. al., 2008; GULLO, 2009; PRATES, 2010).

O número de drogas antifúngicas atualmente, não demonstra suprir a crescente demanda de infecções causadas por esses microrganismos (CASTELLI et. al., 2017 & BERTO et. al., 2018), devido à resistência natural ou adquirida de algumas espécies frente à esses medicamentos, além dos possíveis efeitos adversos dos mesmos. É de importância o incentivo à pesquisa e desenvolvimento de meios alternativos para o combate à esses microrganismos patogênicos, devido à carência na produção de novas drogas e compostos mais compatíveis aos perfis microbiológicos em questão (CARRILO et. al., 2006 & BERTO et. al., 2018).

#### **4.2 Histórico da Terapia de Fotoinativação**

Ao longo da história da humanidade, há 3000 anos A.C., já se fazia o uso de luz para o tratamento de infecções/doenças de pele (CHILAKAMARTHI & GIRIBABU, 2017; DIAS et. al., 2020) na Grécia antiga, Egito e Índia. Entretanto, sua aplicação esteve ausente até o século 20 e posteriormente foi redescoberto pela civilização ocidental. A utilização da fototerapia teve os seus primeiros registros científicos com o médico dinamarques Niels Finsen, que empregou uma fonte de calor no tratamento de *Lupus vulgaris*. Foi utilizado uma lâmpada com fins terapêuticos na realização do procedimento, a qual ficou conhecida posteriormente como Lâmpada de Finsen (RAJESH et. al., 2012 & NASCIMENTO, 2013).

O uso da TFI para indução da morte celular foi relatado primeiramente por Oscar Raab, em 1900. O estudante estava trabalhando em colaboração com o Prof. Herman Von Tappeiner em Munique, na Alemanha, quando perceberam que o protozoário *Paramecium infusoria* imerso, em uma solução de laranja de acridina morria após ser exposto à luz. A descoberta fez com que o laboratório introduzisse o termo "ação fotodinâmica" em estudos subsequentes, mostrando que além da luz, era necessário a presença do oxigênio para que a reação ocorresse (NASCIMENTO, 2013).

A aplicação clínica da TFI ocorreu tempos depois em Buffalo - Nova York, no Instituto do Câncer Roswell Park. Somente em 1992 Thomas Dougherty, pós graduado em química e pioneiro do uso da técnica, juntamente com seus colegas, publicaram os resultados de seus estudos demonstrando que dentre os 113 tumores malignos cutâneos ou subcutâneos tratados, 111 apresentaram resolução completa ou parcial. Em 1999, a *Food and Drug Administration* (Administração de Alimentos e Medicamentos - FDA) aprovou a TFI para o

tratamento de lesões cutâneas pré-cancerosas de rosto ou couro cabeludo (LUI & ANDERSON, 1992; NASCIMENTO, 2013).

### 4.3 Mecanismo de ação da Terapia de Fotoativação

A TFI compreende três elementos necessários para a execução: a luz, um FS e oxigênio. A interação desses fatores resulta na geração de radicais oxidantes reativos (DENIS, 2011 & NASCIMENTO, 2013). Quando o FS absorve um comprimento de onda específico, ele alcança um estado eletrônico mais excitado denominado “singlete -  $^1\text{FS}^*$ ”. Nesse estado, o FS pode causar danos nos tecidos ou células de duas maneiras: reações do tipo I e reações do tipo II (LI, 2009 & SANTOS, 2020). Quando o FS volta ao seu estado normal (fundamental -  $^0\text{S}$ ), ele pode liberar a energia extra em forma de “luz fluorescente” ou ainda, passar para um outro estado energético, denominado de “triplete -  $^3\text{FS}^*$ ”, a partir do processo de inversão de spin<sup>1</sup> por meio da reorganização dos elétrons no FS. No estado excitado triplete, o FS pode interagir com o oxigênio local, transferindo energia para o mesmo, o tornando muito reativo, o qual será denominado como “oxigênio singlete -  $^1\text{O}_2^*$ ” (DE OLIVEIRA et al. 2015 & RODRIGUES et. al., 2022).

Após a administração do FS, as células e/ou tecidos-alvos são expostos a irradiações com comprimentos de onda específicos que possuem a função de ativar a molécula sensibilizadora. Na presença de oxigênio, pode matar ou inativar as células-alvo, devido à reatividade dos mesmos (KOCHEVAR et. al., 1996 & GONZALEZ, 2007).

No mecanismo de reação do tipo I, há transferência direta de energia do FS para a célula-alvo, gerando radicais livres como peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e íon hidroxila (-OH), que podem causar danos às células-alvo. No mecanismo de reação do tipo II, o FS transfere elétrons para o oxigênio molecular da célula-alvo, gerando espécies reativas de oxigênio (EROS), como o oxigênio singleto -  $^1\text{O}_2$ , com elevado grau de reatividade, podendo causar a destruição de componentes intracelulares como mitocôndrias, ácidos nucleicos, ribossomos e macromoléculas. O mecanismo do tipo II é mais eficiente no tratamento de doenças sistêmicas ou tópicas (MANOEL et al., 2014; DE OLIVEIRA et al. 2015; RODRIGUES et. al., 2022).

Uma das vantagens da TFI, é a capacidade de direcionar a sua ação para uma célula ou tecido específicos, sem causar injúrias aos demais. Além disso, essa técnica é altamente

---

<sup>1</sup> É o momento magnético intrínseco de uma partícula.

seletiva, uma vez que o FS, na maioria dos casos, trata apenas as áreas afetadas (VOLLET-FILHO et. al., 2017 & RODRIGUES et. al., 2022).

#### **4.4 Inativação Fotodinâmica no tratamento de fungos patogênicos**

Segundo Kato et al. (2013), a TFI é um tratamento já utilizado em diversas áreas como dermatologia, oncologia e oftalmologia, e ainda pode ser explorado como terapia antimicrobiana. Os medicamentos antifúngicos, como polienos (nistatina), imidazol (clotrimazol) e clorexidina (classe clorexidina) (LITTLE et. al., 2017), além de proporcionarem apenas uma melhora temporária, frequentemente resultam em recidivas, podendo causar até mesmo efeitos adversos em alguns indivíduos. Além do limitado número de medicamentos disponíveis no mercado, surgiu a necessidade de encontrar tratamentos alternativos e eficazes contra essas infecções fúngicas (QUEIROGA, 2015).

De forma geral, as EROS atuam primeiramente sobre a membrana celular fúngica, e, após o aumento da permeabilidade celular da mesma, penetram no interior da célula causando a destruição de suas organelas (FREITAS; TEODORO & FERNANDES, 2015).

Segundo Eduardo (2015), como a TFI é uma modalidade terapêutica que atua no tratamento de infecções superficiais e localizadas, não afeta a biota de microrganismos nativos do organismo.

#### **4.5 Fonte de luz e Fotossensibilizadores**

A escolha da fonte de luz desempenha um grande fator de relevância para que a TFI ocorra com êxito (CARRERA et al., 2016 & MACHADO, 2022).

O termo "laser" apresenta como características específicas a monocromaticidade (emissão de fótons com o mesmo comprimento de onda), colimação (emissão de fótons na mesma direção, sem dispersão) e coerência (lançamento em sincronia de fótons no tempo e no espaço, tornando a luz mais intensa e direcional). Além disso, é importante mencionar que a luz laser é uma forma de irradiação eletromagnética não ionizante, segura para vários usos, em comparação às lâmpadas comuns e fluorescentes (DOS SANTOS et al., 2019 & MACHADO, 2022).

Os lasers são agrupados em baixa potência ou terapêuticos e alta potência ou cirúrgicos (ANDRADE; CLARCK; FERREIRA, 2014 & MACHADO, 2022). Os lasers de baixa potência, possuem a capacidade de estimular o processo de cicatrização tecidual no

local em que são aplicados, muito úteis na minimização da inflamação e da dor, tudo isso sem aumentar a temperatura do tecido. Todavia, quando esses lasers são combinados com um FS, como o azul de metileno ou azul de toluidina, se tornam eficazes na eliminação de microrganismos durante a TFI com a produção de EROS singlete -  $^1\text{O}_2$ , causando danos em suas estruturas celulares e possível destruição. A técnica é especialmente utilizada na odontologia e medicina, onde lasers de baixa intensidade como hélio-neônio têm mostrado resultados significativos na morte de microrganismos. Quando associados à FS's, uma abordagem eficaz surge como um meio eficaz no combate a essas infecções (AMARAL et al., 2010; EDUARDO et al., 2015; MACHADO, 2022).

FS's são substâncias químicas com capacidade de absorver luz em uma faixa de comprimento de onda específica (JORI et. al., 2006 & SUZUKI, 2015). Quando iluminados na sua faixa de absorção, se tornam altamente excitados, transferindo energia e elétrons, gerando produtos reativos tóxicos à célula-alvo em questão. Os FS's desempenham um importante papel na TFD e TFI, pois convertem a luz em energia para danificar células cancerígenas, fungos e bactérias (JORI et. al., 2004 & SUZUKI, 2015).

Um fator de relevância é que o FS escolhido possa ser preferencialmente armazenado na célula-alvo, aumentando assim a eficácia e especificidade do tratamento terapêutico. Além disso, é crucial que durante o processo de irradiação, não haja uma rápida degradação da sua composição, antes mesmo de causar danos celular (STELL et. al., 2001; ALLISON et. al., 2004; SUZUKI, 2015).

Os FS's podem ser incorporados tanto pelas células com anormalidade quanto pelas células saudáveis, porém, registros indicam que a preferência são pelas células anormais, como microrganismos patogênicos e células cancerosas. Essa preferência ocorre devido às características distintas existentes em comparação com as células saudáveis. Tecidos neoplásicos ou tecidos de rápida proliferação celular, geralmente, possuem uma quantidade de vasos sanguíneos mais numerosa comparada aos tecidos saudáveis, uma alta permeabilidade vascular, e uma drenagem linfática deficiente. Devido a essas condições, os FS's têm uma tendência natural em se concentrar nessas regiões (ALLISON et. al., 2004; SUZUKI, 2015).

No protocolo para o FS, é necessário definir alguns parâmetros, como a concentração necessária do composto e a sua correta administração. A concentração é um fator crítico para o sucesso da reação fotodinâmica, a qual deverá estar presente em concentrações minimamente tóxicas para as células ou tecidos-alvo, antes da ativação da luz, não causando nenhum dano no escuro. É necessário que possua um alto grau de pureza química e boa especificidade na célula/tecido-alvo, a fim de desencadear a ação fotodinâmica de forma

correta. O FS pode ser administrado em diferentes locais no corpo, de acordo com o objetivo do tratamento, como por via intravenosa, oral ou tópica. O tempo de incubação também é um fator importante a ser considerado, pois é crucial que o FS seja absorvido pelas células-alvo e penetre em suas membranas celulares, antes da ativação pela luz. O tempo de incubação pode variar, dependendo da natureza do FS (CHAN et. al., 2003; DOVIGO et. al., 2011; SUZUKI, 2015).

Dentre a diversidade de FS's existentes e que são utilizados na TFI antimicrobiana, destacam-se as classes das categorias de compostos que abrangem fenotiazínicos, ftalocianinas e porfirinas (DONNELLY; MCCARRON; TUNNEY, 2008; PLAETZER et al., 2009; MACHADO, 2022).

As porfirinas são corantes orgânicos de cor púrpura, com estrutura em anel. São moléculas de origem animal, e possuem uma estrutura geral de macrociclo tetrapirrólico, que faz com que todos os seus derivados absorvam luz a um comprimento de onda próximo dos 410nm, denominada de Banda de Soret. As bandas de menor intensidade de absorção localizam-se em maiores comprimentos de onda (500-650 nm), denominadas de Bandas-Q. (HUDSON et. al., 2005; GARCÊS et. al., 2014; DE OLIVEIRA et. al., 2015).

As ftalocianinas fazem parte de compostos aromáticos sintéticos constituídos por quatro unidades isoindólicas<sup>2</sup> unidas por átomos de nitrogênio, consideradas azoporfirinas (LAIA et. al., 2006; GARCÊS et. al., 2014; DE OLIVEIRA et. al., 2015). Elas são classificadas como fotossensibilizadores de segunda geração por apresentarem afinidade por compostos lipídicos, como membranas celulares, microsossomos e mitocôndrias, locais onde esses compostos exercem a ação fotodinâmica. Se destacam por sua ampla absorção de luz, em torno de 350 nm (região próximo do ultravioleta) e duas ou mais bandas adicionais na faixa de 600 nm a 750 nm (região do vermelho). O metal central da sua estrutura molecular tem um impacto significativo no seu desempenho na ação fotodinâmica, sendo que as ftalocianinas que contêm zinco (ZnPc) estão categorizadas como um dos agentes fotossensíveis mais promissores dentro deste grupo (BROWN et. al., 2004 & GARCÊS et. al., 2014; DE OLIVEIRA et. al., 2015).

Os corantes fenotiazínicos possuem uma faixa de absorção de luz intensa entre 600-660 nm, região do espectro eletromagnético útil no tratamento de infecções em regiões mais profundas, caracterizando-se na "janela terapêutica", devido a eficiência da luz em penetrar nos tecidos com mais facilidade (TARDIVO et. al., 2005 & GARCÊS et. al., 2014). O FS azul de metileno, tem sido usado clinicamente em tratamentos fotodinâmicos

---

<sup>2</sup> Composto orgânico cíclico formado por um anel aromático contendo dois átomos de nitrogênio.

oncológicos como câncer na bexiga, adenocarcinomas e esôfago, além de infecções e inflamações da pele como psoríase e micoses (MACHADO, 2000 & GARCÊS et. al., 2014).

A família de plantas *Asteraceae* é conhecida como uma grande produtora de compostos orgânicos que exibem diversas atividades biológicas notáveis. Dentre essas atividades, destacam-se as propriedades com características anti-inflamatórias, imunossupressoras e bactericidas (SUNDARARAJAN et. al., 2006 & GARCÊS et. al., 2014). Os curcuminoides, compostos encontrados na cúrcuma, têm sido muito estudados devido a suas altas propriedades farmacológicas, incluindo atividades antitumoral e bactericida. A curcumina possui comportamento de FS, podendo ser aplicada na TFI absorvendo luz a um comprimento de onda de 450 nm, e produzindo EROS (SUZUKI, 2016).

#### **4.6 Infecções fúngicas**

Os fungos pertencem a um grupo amplamente distribuído, cuja principal função ecossistêmica é a degradação de matéria orgânica (MURRAY et. al., 2018 & TOLEDO, 2022). Por serem altamente diversificados, podem assumir numerosas formas de interação com outros organismos, como saprófagos, obtendo os nutrientes de matéria orgânica em decomposição; simbiontes, formando relações mutualísticas onde ambos se beneficiam; comensais, vivendo em estreita relação, porém, apenas um organismo é beneficiado não causando prejuízo ao hospedeiro; e parasitas, relação em que o fungo vive às custas do hospedeiro, sendo prejudicial e este (MURRAY et. al., 2017, TOLEDO, 2022).

Nas últimas décadas, os fungos emergiram como principal causador de doenças em humanos, especialmente em indivíduos imunossuprimidos, hospitalizados ou em situações clínicas graves. Uma vez que esses indivíduos se encontram com o sistema imunológico comprometido, os fungos podem atuar como patógenos oportunistas, causando infecções. A lista de fungos potencialmente patogênicos aumenta gradualmente a cada ano, e esse fator pode ser atribuído ao crescente número de pacientes imunocomprometidos (MURRAY et. al., 2017, TOLEDO, 2022).

Quando em contato com o organismo, podem causar micoses capazes de se manifestar de diferentes formas, de acordo com a via de infecção e disseminação no hospedeiro. Isso inclui infecções cutâneas, afetando a camada queratinizada da pele, pêlos e unhas; subcutâneas, acessando as camadas mais profundas do tecido, podendo acometer músculos, tecido conjuntivo e córnea; e sistêmicas, espalhando-se para outras partes do organismo, além da pele e tecidos subcutâneos (BRASIL, 2013; MURRAY et. al., 2017; TOLEDO, 2022).

#### 4.6.1 *Candida Albicans*

O gênero *Candida* é um grupo de fungos classificados como leveduras, que podem causar infecções oportunistas em humanos. Esse grupo compõe-se de 150-200 espécies, sendo que muitas habitam o trato gastrointestinal, sistema urogenital, pele e mucosas do sistema respiratório (DIGNANI et. al., 2003; VIEIRA, 2017).

As espécies de leveduras do gênero *Candida* de interesse médico e epidemiológico são: *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* e *Candida krusei*, sendo que a *Candida albicans* é a espécie mais comum em infecções humanas. *Candida albicans* possui cromossomos organizados em pares (diplóide), contendo dois pares de oito cromossomos cada. Sua multiplicação é por brotamento, onde há o surgimento de células filhas que se desprendem da célula-mãe na maturação. Em algumas situações específicas, a levedura pode criar uma espécie de extensão de si denominada de tubo germinativo, onde surgirão estruturas semelhantes a "pseudo-hifas" ou "hifas verdadeiras" (DIGNANI et. al., 2003; PFALLER & DIEKEMA, 2007; VIEIRA, 2017).

A candidíase, infecção causada pelo agente etiológico *Candida*, pode se manifestar clinicamente de diferentes formas, como a candidíase cutânea mucosa, envolvendo manifestações superficiais apenas, e candidíase sistêmica, que pode disseminar-se pelo organismo afetando órgãos e sistema circulatório (candidemia) (DIGNANI et. al., 2003 & VIEIRA, 2017).

Tem-se observado nos últimos anos um aumento significativo nas infecções resistentes à terapia com antifúngicos padrões, devido ao uso intensivo e a longo prazo de medicamentos derivados de azólicos, como o fluconazol (WHITE et al., 1998; COSTE et al., 2007; MULU et al. 2013; CARVALHO et. al., 2016). As variadas apresentações clínicas da candidíase e sua importância médica têm estimulado a produção de novas pesquisas, em decorrência das altas taxas de infecção da doença, transformando assim esses fungos em organismos mais virulentos (CRISSEY et. al., 1995 & CARVALHO et. al., 2016).

A resistência do gênero *Candida* está associada à capacidade de criar biofilmes, que são comunidades de microrganismos que se desenvolvem em diversos tipos de superfícies, sendo elas bióticas ou não. Devido à estrutura da cadeia polimérica da matriz extracelular do biofilme ser de natureza viscosa, há uma dificuldade na ação dos medicamentos nas células, as tornando resistentes aos fármacos, como os azólicos (BARBEDO et al., 2010 & CARVALHO et. al., 2016).

Frente ao atual cenário, torna-se importante o desenvolvimento de pesquisas e novos tratamentos antifúngicos, em razão de *Candida* ser relevante na ocorrência de patologias graves, e causa significativa na mortalidade de indivíduos imunocomprometidos (CARVALHO et. al., 2016).

No estudo conduzido por Queiroga (2015), foram analisadas e testadas quatro grupos de cepas celulares de *Candida albicans* (ATCC 10231): os grupos controle, de solução salina (F-L-), azul de metileno testado no escuro (F+L-), e laser, testado sem a presença do FS (F-L+), e o grupo de tratamento, onde foi empregado a técnica de fotoinativação (F+L+). Para a condução do experimento, utilizou-se o FS azul de metileno na concentração de 150µg/mL, submetido a uma iluminação a laser de 660 nm, na potência de saída constante de 100 mW e dose de 426 J/cm<sup>2</sup>, durante 128 s. O tempo de incubação das cepas no escuro foi de 5 min, a uma temperatura ambiente. Os grupos controle (F+L- e F-L+), receberam as mesmas doses de FS e de luz, respectivamente. Como resultado, o Grupo F+L+ apresentou uma média menor no valor de log<sub>10</sub> UFC/mL comparado aos grupos controle, com um valor de p = 0,019 e uma média e desvio padrão de 2,10 ± 2,42 (2,04), indicando um efeito inibitório significativo (p<0,05) nas colônias celulares de *Candida albicans* para o mesmo. Pôde-se observar que somente os grupos F+L- e F-L+, testados separadamente, não exerceram efeito inibitório contra as UFC's. Os valores das médias e desvios padrões do log<sub>10</sub> UFC/mL para os grupos controles F-L-, F+L- e F-L+ são, respectivamente, de: 5,51 ± 0,67 (5,60); 5,57 ± 0,71 (5,69); 5,64 ± 0,77 (5,76).

Nos estudos *in vivo* conduzidos por Sena (2013), técnicas de indução da infecção de *Candida albicans* (ATCC 90028) foram aplicadas em 20 camundongos fêmeas da linhagem Balb/c, a fim de criar um modelo similar de candidíase vaginal em mulheres. A processo de aplicação da TFI nas vaginas das fêmeas foi subdividida em três grupos de tratamento: grupo azul de metileno, testado na ausência de luz (F+L-); grupo laser, testado sem a presença do FS (F-L+), e o grupo onde foi empregado a técnica de fotoinativação (F+L+), com concentrações em níveis crescentes de uma solução aquosa de FS: 100 µM, 500 µM e 1000 µM. Além disso, foi incluído um grupo controle (F-L-), com animais infectados e não tratados, que receberam a mesma quantidade de solução salina tamponada. O tempo de incubação do FS nas vaginas foi de 10 minutos. As configurações e dosagem do laser de luz vermelha na TFI foi de 100 mW de potência, 660 nm de comprimento de onda e uma dose total de energia de 36 J, em modo contínuo e durante 6 minutos. Além disso, após a obtenção dos resultados iniciais do primeiro estudo, a TFI foi testada em dose única, em variados intervalos de tempos (0, 24 e 96h), utilizando concentrações de FS de 0 e 1000 µM, respectivamente. Foi testado o

desempenho da TFI em duas sessões, com o intuito de avaliar se o tratamento apresentaria melhores resultados. As configurações foram mantidas, mas com uma dose total de energia de 18 J e tempo de aplicação de 3 min em cada sessão. O Grupo F-L-, o qual não foi submetido a nenhum tratamento, apresentou um crescimento de 6 log UFC/mL após o estabelecimento da infecção, indicando a colonização fúngica na vagina das fêmeas de camundongos. Vinte e quatro horas após o tratamento pela TFI, não foi encontrada uma redução significativa ( $p > 0,05$ ) na quantidade de microrganismos entre os grupos tratados, em razão da não disseminação total da infecção. O grupo que apresentou uma maior redução média foi o grupo com 1000  $\mu\text{M}$  de AM, com um valor de 0,96 log UFC/mL. O grupo com concentração de 500  $\mu\text{M}$  de AM apresentou uma redução de 0,43 log, enquanto o grupo com 100  $\mu\text{M}$  de AM, 0,48 log. A TFI testada em uma única sessão, nos primeiros segundos não apresentou uma redução significativa das colônias fúngicas. No entanto, após as 24h, o grupo tratado teve uma redução significativa de 1,62 log UFC/mL ( $p < 0,05$ ). Após 96h, o grupo tratado não demonstrou redução significativa em relação à quantidade de fungos nos primeiros segundos ( $p > 0,05$ ). Os resultados da TFI aplicada em duas sessões, com um intervalo de 24h entre elas, demonstraram uma redução de 1,56 log UFC/mL em relação aos grupos controles após o tratamento. Na análise dos cortes histológicos das porções vaginais dos camundongos, nota-se uma grande redução da área de células inflamatórias quando a TFI foi aplicada em duas sessões. Esses achados sugerem que a TFI, especialmente quando administrada em dose dupla, pode ser muito eficaz na redução de microrganismos e do processo inflamatório. Os grupos controle F+L- e F-L+, testados isoladamente, não apresentaram atividade antifúngica significativa após 24h ( $p > 0,05$ ).

Machado (2022) testa em seus estudos, a eficácia da TFI com utilização do FS azul de Taylor à uma concentração de 750ng/mL, contra uma cepa de *Candida albicans* (ATCC 90028) com resistência ao fluconazol, um antifúngico comum no tratamento de candidíase. Os ensaios foram conduzidos em quatro grupos experimentais distintos: F-L- (sem tratamento), F+L- (tratado apenas com o FS azul de Taylor no escuro), F-L+ (tratado apenas com fonte de luz vermelha), e F+L+ (submetido à TFI com o FS e irradiação de luz por 16min e 33s). As configurações de dosagem incluíram uma densidade de energia de 20 J/cm<sup>2</sup> e um comprimento de onda na faixa de 660 nm, com um tempo de incubação do FS no escuro de 5min. Após a conclusão dos ensaios, as contagens de UFC/mL revelaram uma redução logarítmica de 99,5% ( $p < 0,0001$ ) na carga total *Candida albicans* resistente ao fluconazol. Isso sugere que a TFI, associada ao azul de Taylor, foi altamente eficaz na redução da biota microbiana.

Souza et. al., (2014), explora o uso do FS verde malaquita (400 e 800  $\mu\text{Mol}$ ) em combinação com uma fonte de luz LED vermelha a 626 nm, na redução da presença de *Candida albicans* (ATCC 90028) em seu estudo. As amostras foram divididas em quatro grupos distintos: F-L- (sem tratamento), F+L- (tratado apenas com o FS verde malaquita no escuro), grupo F-L+ (tratado apenas com a irradiação de luz LED), e F+L+ (que recebeu o tratamento da TFI com irradiação LED durante os tempos de 5, 10, 20 e 60 minutos). O tempo de incubação do FS nas células foi de 10min. Os resultados revelaram uma redução estatisticamente significativa no número de UFC's ( $p < 0,05$ ). Foi obtido um valor de  $p=0,0024$  na análise de variância do grupo tratado com 400  $\mu\text{Mol}$  de FS em associação com o LED, indicando que um ou mais grupos são diferentes entre si. Os autores mencionaram que o verde de malaquita em altas concentrações (800  $\mu\text{Mol}$ ) teve um efeito tóxico nas células, mesmo na ausência de luz, e enfatizaram a necessidade de mais investigações sobre o caso a parte.

Estudos recentes abordam a importância da associação de FS com outras substâncias como monômeros, nanocápsulas, medicamentos antimicrobianos, açúcares, metais e até mesmo subprodutos botânicos. É ressaltado que esses componentes, ao serem incorporados nos fungos, sob condições específicas, podem otimizar o processo de inativação dessas células (TADA et. al., 2014).

No estudo proposto por Silva et. al. (2020), os autores investigaram como a incorporação do FS azul de metileno forma espécies reativas de oxigênio (EROS) em diferentes cepas microbianas de *Candida albicans* (ATCC 10231, YEM 14 e YEM 15), sob diferentes concentrações de glicose (1 mM e 20 mM) e parâmetros de irradiação. O equipamento foi ajustado para operar com uma potência de 473 mW e emissão de luz LED a 660 nm. As amostras foram submetidas à irradiação nos tempos de 1, 3 e 6 minutos, respectivamente. A concentração de FS administrado no estudo foi de 100  $\mu\text{M}$ , com um tempo de incubação nas células fúngicas de 10min. Para as suspensões contendo glicose, o tempo de incubação foi de 90 min. As amostras fúngicas foram divididas em 6 grupos experimentais: F-L- (sem aplicação de tratamento), F-L+ (tratado apenas com fonte de luz LED vermelha), F+L- (tratado apenas com FS azul de metileno no escuro), F+L+ 1 (que recebeu o tratamento da TFI com irradiação LED durante 1min), F+L+ 3 (que recebeu o tratamento da TFI com irradiação LED durante 3min), e F+L+ 6 (que recebeu o tratamento da TFI com irradiação LED durante 6min). O experimento foi realizado em triplicata nas amostras, com concentrações de glicose variando de 0, 10 e 20 mM. Nos resultados da Espectroscopia Óptica (UPTAKE), as cepas apresentaram uma melhor incorporação do FS

quando a concentração de glicose foi de 1mM. Quanto aos resultados referente à produção de EROS sob diferentes parâmetros de irradiação, a presença da glicose não afetou a produção do mesmo, porém, observou-se influência da intensidade e do tempo de exposição à irradiação. Nos resultados obtidos sobre a morte celular das cepas de *Candida albicans* sob diferentes concentrações de glicose associada com azul de metileno e fonte de luz, houve uma inativação significativa quando as mesmas estavam associadas à concentração de glicose de 1mM, e submetidas à irradiação por 6 minutos. Houve uma redução significativa de 6 logs da carga de microrganismos. Resultados obtidos somente com azul de metileno, luz LED e glicose, testados separadamente, não apresentaram uma inativação significativa. A associação da glicose com o FS melhorou o processo da TFI devido ao fato de que *Candida albicans* utiliza o monossacarídeo como fonte metabólica em sua respiração, o que resultou na incorporação de uma maior quantidade de azul de metileno pelas células.

Além disso, um estudo conduzido por Correia (2018), investigou o uso de nanocápsulas de ouro (NC) em combinação com FS azul de metileno (AM) para a inativação de cepas *Candida albicans* (ATCC 90028) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 29231). As nanocápsulas consistem em núcleos de sílica (SiO<sub>2</sub>) revestidos com ouro. Os níveis de concentrações empregados na solução de nanocápsulas de ouro e utilizados no experimento foram de 0,1 e 1 µM para *Candida albicans*, e 30 µg/ mL para *S. aureus*. O tempo de incubação das nanocápsulas em ambas amostras foi de 10min. A concentração do FS utilizado nos experimentos com *Candida albicans* foi de 10 µM, enquanto em *S. aureus* foi de 80 µM, com um tempo de incubação nas células de 10 min à temperatura ambiente. A irradiação das amostras foi feita com luz LED vermelha a 630 nm e uma potência de 40 mW, durante os tempos de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 8 e 10 min. No tratamento de *Candida albicans*, foram criados grupos experimentais, incluindo: AM-NC-L- (sem tratamento), AM+L-, 0,1NC+L- e 1NC+L- (tratados apenas com 10 µM de azul de metileno, ou nanocápsulas de ouro a 0,1 µM e 1µM, no escuro), AM-NC-L+ (tratado apenas com irradiação), AM+L+ (tratados com 10 µM de azul de metileno e luz), 0,1NC+L+ e 1NC+L+ (tratados apenas com nanocápsulas de ouro a 0,1 µM e 1µM, com luz), AM+0,1NC+L+ e AM+1NC+L+ (tratados com 10 µM de azul de metileno, nanocápsulas de ouro a 0,1 µM e 1µM, e luz). As nanocápsulas utilizadas isoladamente, independentemente das condições de irradiação e concentrações, não demonstraram ação antimicrobiana em nenhum dos dois espécimes. Porém, o azul de metileno à uma concentração de 10 µM, combinado com as nanocápsulas 1 µM, e submetido à tempos de irradiação de 8 e 10 minutos, foi capaz de reduzir significativamente o números de unidades formadoras de colônias, em ambas cepas. Curiosamente em *S. aureus*, a TFI

mediada apenas pelo azul de metileno, foi capaz de erradicar totalmente a cepa de microrganismos em apenas 3 minutos. Quando o FS foi associado às nanocápsulas de ouro, a erradicação total das células bacterianas foi reduzida em apenas 1 minuto.

Suzuki (2016) propôs em seu estudo a utilização de curcumina natural, um composto fenólico extraído da cúrcuma, popularmente conhecido como açafrão da terra, e que apresenta várias propriedades farmacológicas (NAKSURIYA et. al., 2014), como um possível FS. Porém, a curcumina *in natura* é pouco solúvel em meio aquoso, dificultando a sua utilização como agente terapêutico, além da sua facilidade em ser degradada pela luz e oxigênio, afetando a sua estabilidade. Como mecanismo estratégico frente ao problema, a autora propôs o desenvolvimento de nanopartículas poliméricas de PLGA (poli(lactato-co-ácido glicólico)), um polímero biocompatível em diferentes sistemas, de acordo com suas dimensões e eficiência de encapsulamento (72 nm e 70% para PLGA-CURC1, 215 nm e 80% para PLGA-CURC2, e 242 nm e 80% para PLGA-CURC3). Os testes foram realizados em cepas de *S. aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Candida albicans* (ATCC 90028). Uma luz azul com comprimento de onda de 450 nm foi utilizada na condução dos experimentos, com uma intensidade de 35 mW/cm<sup>2</sup>. As concentrações dos FS's variaram de 0,10 a 500 µg/mL, com tempos de incubação nas células de 1 a 5 horas. Quatro grupos experimentais foram analisados: F-L- (sem tratamento), F+L- (tratado apenas com o FS curcumina natural e encapsulada no escuro), F-L+ (tratado apenas com a irradiação de luz LED), F+L+, (que recebeu o tratamento da TFI com ambos FS's, com irradiação LED durante os tempos de 10 e 20 minutos). Os ensaios *in vitro*, com a solução de curcumina natural encapsulada, foram eficazes na inativação de *Candida albicans*, eliminando praticamente todas as cepas nas condições experimentais empregadas, com 5h de incubação e 7 µg/mL de concentração. Além disso, a curcumina natural encapsulada não apresentou toxicidade no escuro, mesmo em concentrações elevadas (500 µg/mL), diferentemente quando comparada a sua forma livre, a qual foi tóxica. Essa característica é muito importante para as formulações, pois é ideal que o FS seja ativado somente na presença de luz, gerando toxicidade às células.

Outro estudo, conduzido por Rimachi e Janeth (2018), avalia a eficácia da TFI associada à nistatina no tratamento de candidíase oral em camundongos Swiss fêmeas, com cepa de microrganismos também resistentes ao fluconazol. Para este trabalho, foi utilizado como agente FS, o Photodithazine (PDZ). Inicialmente, os animais foram infectados pela inoculação de *Candida albicans* (ATCC 96901) resistentes em uma suspensão, à 10<sup>7</sup> UFC/mL. Após 7º e 11º, diversos grupos de camundongos receberam diferentes abordagens terapêuticas, incluindo a TFI com PDZ à uma concentração de 200 mg/L, iluminação por luz

LED vermelha a 660 nm e 44,6 mW/cm<sup>2</sup> de potência na língua dos camundongos, por 19 min e durante 5 dias consecutivos. O tempo de incubação do FS e nistatina sob a região tecidual afetada foi, respectivamente, 20 e 39 min. Os grupos foram divididos em 8 grupos experimentais: F+L+ (tratado com PDZ e luz LED), F-L+ (tratado apenas com luz), F+L- (tratado apenas com FS), NYS+F-L- (tratados apenas com nistatina, fazendo parte do controle positivo), NYS-F-L- (sem tratamento), CNI+ (composto apenas por animais saudáveis, sem infecção), NYS+F+L+ (tratado com a aplicação de nistatina, seguida da TFI), F+L+NYS (tratado com a TFI, seguido da nistatina). A análise da combinação das duas terapias distintas teve como intuito, investigar como a ordem das administrações afeta os diferentes tratamentos e sua interação com as células-alvo. Como resultado do estudo, verificou-se uma redução significativa de *C. candida* nas línguas dos camundongos após 24h de tratamento no grupo com combinação de PDZ, luz LED e nistatina (F+L+NYS) apresentando uma redução de 2,6 log<sub>10</sub>, enquanto o grupo que iniciou o tratamento com nistatina (NYS+F+L+) apresentou uma redução de 2,1 log<sub>10</sub> em sua carga microbiana total. Uma análise mais detalhada dos tecidos tratados, mostrou uma significativa redução da resposta inflamatória, que passaram a se assemelhar ao tecido saudável. Este resultado foi obtido por meio da combinação das terapias (F+L+NYS e NYS+F+L+) nos camundongos, levando à eliminação de mais de 90% das lesões em ambos os grupos tratados.

#### 4.6.2 *Aspergillus fumigatus*

Os microrganismos do gênero *Aspergillus* são fungos filamentosos, organismos decompositores onipresentes, cosmopolitas, com adaptações para viverem desde áreas áridas à polares. Seus conídios, os propágulos assexuados, são facilmente carregados pelo ar, facilitando a dispersão do fungo a grandes áreas, incluindo ambientes fechados como hospitais (GUARRO, 2012; VERWEIJ et. al., 2016; MESQUITA-ROCHA, 2019).

O gênero inclui mais de 250 espécies, onde a maioria se reproduz assexuadamente (anamorfa), e alguns representantes possuem a reprodução sexuada (teleomorfa). Dentro desse número de espécies, 40 se destacam como patógenos oportunistas para os indivíduos com o sistema imunológico enfraquecido. A espécie de fungo do gênero *Aspergillus* que mais comumente causa doenças aos humanos é a *Aspergillus fumigatus*, seguida por *Aspergillus flavus*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus ustus* (GUARRO, 2012 & MESQUITA-ROCHA, 2019).

Aspergilose, conjunto diversificado de doenças causadas pelo agente etiológico *Aspergillus*, pode se manifestar de diversas maneiras, afetando principalmente os pulmões. Porém, pode atingir outros órgãos e regiões superficiais do corpo como pele e tecidos, causando ceratite e onicomicoses<sup>3</sup>, por exemplo (STEVENS, 2009; GHAZAEI, 2017; MESQUITA-ROCHA, 2019).

*Aspergillus fumigatus* está classificado em uma categoria taxonômica denominada de "Fumigati", um subgênero de *Aspergillus* que compreende 30 espécies diferentes, onde 10 apresentam a forma anamorfa de reprodução, e 30 apresentam a forma telemorfa. São organismos saprófitas e podem ser encontrados no mundo inteiro (SAMSON et. al., 2007; HONG et. al., 2010; MESQUITA-ROCHA, 2019). Em relação às suas características distintivas, possuem alta germinação, adaptações para crescer em ambientes com altas temperaturas, capacidade de se reproduzir em locais com baixa disponibilidade de oxigênio e sua notável flexibilidade nutricional em razão da capacidade de utilização de uma ampla variedade de substratos, esses microrganismos conseguem sobreviver em diversos ambientes. Vale destacar a capacidade dos representantes desta espécie de sintetizar uma ampla variedade de enzimas, incluindo as proteases. Isso assume relevância como um dos fatores de virulência quando a espécie atua como parasita de diversos tipos de hospedeiros, incluindo animais e vegetais (CROFT et al., 2016; VEERDONK et al., 2017; BALLARD et al., 2018; FRANCISCO, 2020).

A infecção por *A. fumigatus* pode ser diagnosticada utilizando variados métodos, incluindo histológicos, de culturas e observação de características macro e micromorfológicas. Entretanto, esses métodos são limitados, principalmente quando diz respeito à identificação correta à nível de espécie, limitando assim um diagnóstico correto para seu respectivo tratamento (SAMSON et. al., 2007; HONG et. al., 2010; MESQUITA-ROCHA, 2019).

Os antifúngicos convencionais desempenham um papel fundamental no tratamento de quadros de aspergilose e infecções causadas pelo gênero *Aspergillus*. Os antifúngicos azólicos<sup>4</sup> têm sido a escolha principal para a terapia. No entanto, diversas estratégias adaptativas podem emergir, incluindo modificações genéticas que conferem resistência a esses antifúngicos, conforme documentado por Shishodia et. al. (2019) e Francisco (2020). Adicionalmente, a composição e estrutura da parede celular desses fungos filamentosos

---

<sup>3</sup> Infecção da córnea e unhas, respectivamente.

<sup>4</sup> Grupo de agentes fungistáticos sintéticos.

sofrem alterações no decorrer do seu ciclo de vida, o que torna a ação dos antifúngicos uma tarefa desafiadora (VAN et. al., 2017 & FRANCISCO, 2020).

Um estudo *in vitro* realizado por Friedberg et. al. (2001) teve como objetivo, avaliar os efeitos da TFI na inativação de *Aspergillus fumigatus*. Neste contexto, a TFI foi empregada sobre as cepas utilizando o FS “Green 2W” com adição de paládio, ativado por luz vermelha em um comprimento de onda de 630 nm à 5W de potência, por várias frações ao longo do tempo, com intervalos de 12h. O experimento foi realizado por meio de testes em variados grupos: (F-L-) sem luz e sem FS; (F-L+) com luz e sem FS; (F+L-) sem luz e com FS, e o grupo (F+L+) com luz e FS, o qual foi aplicada a TFI. A concentração administrada de Green 2W foi de 31.5 mg/L. O FS Green 2W sem paládio também foi testado nas mesmas concentrações, a fim de verificar o seu desempenho. Nos resultados, os autores verificaram que a TFI reduziu a carga microbiana inicial ( $2,7 \times 10^6$  UFC/mL) por completo a partir do uso do FS Green 2W e paládio. A dose de luz necessária para eliminar completamente a carga fúngica total de *Aspergillus fumigatus* durante a TFI, de acordo com os resultados apresentados, foi de 385 J/cm<sup>2</sup>, demonstrando um caráter fungicida para as cepas. A eficiência da TFI foi dependente da dose de luz, conforme mencionado no estudo. Doses mais altas de luz mostraram uma maior capacidade de eliminar o fungo, especialmente combinados com o FS + paládio.

Um estudo experimental recente, conduzido por Arboleda et. al. (2014), investigou a eficácia de dois agentes FS, rosa de bengala (RB) e a riboflavina (RF) na inativação de três isolados fúngicos, com *Aspergillus fumigatus* em destaque, associados à ceratite ocular<sup>5</sup>, uma condição oftalmológica desafiadora. O estudo foi realizado a partir do teste de cinco grupos de isolados fúngicos: (RB-RF-L-) sem tratamento; (RB+RF-L-) tratado com rosa de bengala 0,1% isolado; (RB-RF-L+) tratado com irradiação de 518 nm isolada; (RF+L+) TFI com o uso de riboflavina + irradiação a 375 nm; e (RB+L+) TFI com rosa de bengala + irradiação a 518 nm. A irradiação foi realizada utilizando luzes emitidas por LED's (luz verde e ultravioleta) com diferentes comprimentos de onda, com 5,4 J/cm<sup>2</sup> de energia. Os resultados do presente estudo demonstraram que a TFI mediada pelo FS RB foi altamente eficaz na inibição do crescimento dos microrganismos, quando irradiados a um comprimento de onda de 518 nm. Em contrapartida, nenhum dos outros grupos experimentais, mostrou efeito inibitório sobre os isolados, mesmo com o tratamento realizado com TFI com RF. Esses achados destacam o potencial do rose bengal na redução da carga microbiana, sendo um eficiente FS.

---

<sup>5</sup> Inflamação da córnea.

Sueoka et. al. (2019) também avaliaram a eficácia da TFI no combate de dois fungos patogênicos, com destaque para *Aspergillus fumigatus* (NBRC 8866). O estudo foi realizado a partir do uso do FS denominado TONS 504 e uma fonte de luz LED a 660 nm, com potência de 0,055W durante 3min para o tratamento dos fungos. Foram testados diferentes concentrações de TONS 504 (1 mg/L ou 10 mg/L), e diferentes níveis de energia do LED (10, 20 ou 30 J/cm<sup>2</sup>), para determinar a eficácia da terapia no controle dos microrganismos. O tempo de irradiação dos isolados fúngicos foi de 3 minutos, com intervalo de 1 minuto entre as exposições. Foram avaliados os efeitos do FS em três grupos de isolados fúngicos: F+L- (com o FS na ausência de luz), F-L+ (sem o FS na presença de luz), e F+L+ (combinação do FS e luz). Foram testados os efeitos da redução no número de colônias com a presença da luz e FS isoladamente. Os resultados demonstraram que a inibição para *Aspergillus fumigatus* foi parcial, mesmo com o FS em uma concentração de 10 mg/L e LED irradiado com 20 ou 30 J/cm<sup>2</sup>.

Francisco (2020) explorou a eficácia de diferentes agentes antifúngicos convencionais (anfotericina B, miconazol e hipoclorito de sódio) e os compara a TFI em conídios, micélios e biofilmes de duas espécies distintas de fungos filamentosos: *Aspergillus flavus* e *Aspergillus fumigatus*. Ambos espécimes são resistentes aos medicamentos convencionais testados. Os FS testados no presente estudo foram o azul de metileno (AM) e novo azul de metileno (NAM), um fenotiazínico catiônico com baixo custo de obtenção e uma alta eficiência em gerar oxigênio singlete (WAINWRIGHT et. al., 1999), na ausência e presença de potássio e em diferentes concentrações (AM: 17 µg/mL, 8,4 µg/mL, 3,3 µg/mL, 1,7 µg/mL e 0,8 µg/mL; NAM: 25 µg/mL, 13 µg/mL, 5 µg/mL, 2 µg/mL e 1 µg/mL). As placas contendo os biofilmes e os FS's, foram divididas em dois grupos distintos: (L-) referente ao grupo mantido na ausência de luz e o outro exposto à luz (L+). Foi utilizada uma luz com comprimento de onda variando entre 600 nm e 650 nm, com uma irradiação de 14 mW/cm<sup>2</sup> e o tempo de incubação dos FS's nas células foi de 30min. A exposição à luz foi realizada sob agitação durante 1h, com fluência total de 50 J/cm<sup>2</sup>, aproximadamente. Para o biofilme de *Aspergillus fumigatus*, foi necessário estender a duração da exposição luminosa para 2h (100 J/cm<sup>2</sup>). Os resultados indicaram que os biofilmes demonstraram resistência à TFI, mesmo no emprego de diferentes FS. Não houve uma redução significativa da carga microbiana. Além disso, é destacado um aumento na atividade catalásica nos biofilmes de *Aspergillus fumigatus* após o tratamento por TFI, indicando uma possível resposta de defesa dos biofilmes.

Duan et. al. (2023) investigam o efeito inibitório do FS ALA-TFI (tratamento fotodinâmico com ácido 5-aminolevulínico) em biofilmes de *Aspergillus fumigatus*, sob

variadas concentrações e doses de luz em um ambiente de laboratório controlado. Foram avaliados os efeitos tóxicos de ALA e da luz LED individualmente nos isolados fúngicos, e a combinação de ambos em diferentes doses de iluminação. Os grupos experimentais foram denominados de grupo controle (F-L-), sem a administração de FS e luz, grupo (F+L-), tratado apenas com a administração de FS em diferentes concentrações (5 mM, 15 mM e 30 mM) por 24 horas e ausência de luz, grupo (F-L+), tratado apenas com iluminação LED, e grupos (F-TFI 1), (F-TFI 2) e (F-TFI 3), que receberam tanto FS e luz vermelha, à um comprimento de onda de 635 nm em diferentes doses (50 J/cm<sup>2</sup>, 100 J/cm<sup>2</sup> e 200 J/cm<sup>2</sup>), respectivamente, e uma intensidade de irradiação da luz de 100 mW/cm<sup>2</sup>. As concentrações testadas de ALA foram de (5, 10, 15, 20 e 30 mM) em diferentes tempos de incubação (0.5, 1, 2 e 4h) para avaliar os efeitos do mesmo sobre os biofilmes. Foi determinado que a concentração de 15 mM e o tempo de incubação de 2 horas foram ideais para a TFI no presente experimento. Para os testes no escuro, as amostras foram incubadas em uma temperatura média de 37°C durante 20 minutos. O estudo demonstrou que a aplicação de ALA-TFI em *Aspergillus fumigatus* inibiu o desenvolvimento de biofilmes, e também teve efeitos positivos na inibição das células planctônicas, sugerindo que a terapia pode ser eficaz em diferentes estágios de desenvolvimento do fungo.

#### 4.6.3 *Saccharomyces cerevisiae*

Leveduras do gênero *Saccharomyces*, compreende um grupo de fungos ascomicetos da ordem *Saccharomycetales* e família *Saccharomycetaceae* (SCHADEN & KOZEK-LANGENECKER, 2010 & SILVA et. al., 2011). Os microrganismos desse gênero têm formas de reprodução sexuada, estando presente no estado haplóide ou poliplóides com formação de ascos com ascósporos, quanto assexuada, através do processo de brotamento multilateral (VAUGHAN-MARTINI & MARTINI, 2011 & DE FREITAS TEIXEIRA, 2015). Em seres humanos, a levedura pode ser encontrada nas mucosas do trato gastrointestinal, respiratório e urinário em indivíduos com comorbidades já existentes (AUCOTT et. al., 1990; ENACHE-ANGOULVANT & HENNEQUIN, 2005; MUNOZ et. al., 2005; VAUGHAN-MARTINI & MARTINI, 2011; SILVA et. al., 2011).

O representante mais conhecido do gênero é a espécie *Saccharomyces cerevisiae*, que desempenha um papel fundamental em várias áreas, incluindo panificação, produção de etanol, enologia e na indústria farmacêutica (KURTZMAN, 2011; SICARD & LEGRAS, 2011; SILVA et. al., 2011; BORNEMAN & PRETORIUS, 2015 & DE FREITAS TEIXEIRA,

2015). Apesar de raro, a incidência de infecção causada por essa levedura, tem sido uma preocupação emergente na área da saúde, onde a frequência das infecções fúngicas diagnosticadas em exames de sangue, podendo atingir 4%. A associação dessa infecção com outras infecções fúngicas, comumente visto em *Candida*, é descrita nos bancos de dados da literatura, cuja ocorrência está associada a índices elevados de mortalidade (ENACHE-ANGOULVANT & HENNEQUIN, 2005; JENSEN et. al., 2007; RICHARDSON & LASS-FLÖRL, 2008 & SILVA et. al., 2011).

Um estudo realizado por Garcês et. al. (2014), teve como objetivo, testar os efeitos fotodinâmicos dos FS's sintéticos ftalocianina de cloroalumínio, ftalocianina de zinco, azul de metileno e azul de toluidina, além do extrato em estado bruto e parcialmente processado de *Bidens sulphurea*, conhecida como "picão laranja", sobre as culturas de *Saccharomyces cerevisiae*. Para melhorar a eficácia dos FS's, os pesquisadores utilizaram aditivos como proteínas aglutinantes da planta *Moringa oleifera*. Além disso, encapsularam os FS's em lipossomas de fosfatidilcolina, contendo aditivos como colesterol, polietilenoglicol e albumina. No estudo, foram empregados quatro sistemas de irradiação, com variadas janelas terapêuticas, para avaliar o desempenho de cada um deles na TFI: PHLS (400 a 800 nm), WE-IV (600 a 700 nm), LED 600 (640 nm) e AMS-II (670 nm), no intervalo de 0 a 40min de irradiação. Os resultados mostraram que o tempo ideal de incubação dos FS's com as células de *Saccharomyces cerevisiae* é de 20 minutos para a inativação das mesmas, e que as proteínas de *M. oleifera* Lam superaram os lipossomas como sistema de entrega dos FS's, e que os extratos de *B. sulphurea* mostraram bons resultados para a inativação fotodinâmica. Foi observado que os equipamentos PHLS e WE-IV são mais adequados para sensibilizar dos extratos de *B. sulphurea*, devido ao amplo espectro de luz que os mesmos oferecem. Os equipamentos LED 600 e AMS-II, devido à sua homogeneidade e com uma faixa de emissão de luz com comprimento de onda restrito, podem ser mais eficientes na sensibilização de ftalocianinas, uma vez que esses FS's possuem um pico máximo de absorção de 670 nm.

Silva et. al. (2018), avaliaram a eficácia do FS rosa de bengala (RB) na inativação de *Saccharomyces cerevisiae* em dois cenários distintos: como o corante RB, quando em solução aquosa e sem materiais, afeta o crescimento de microrganismos, e como o mesmo se comporta adsorvido em quitosana, um biopolímero natural. Esse processo foi realizado através de diálise. Além disso, avaliaram como o tempo em que a quitosana estava ligada ao RB afetou a sua eficiência. Foi utilizado um sistema de irradiação LED verde que emitiu um comprimento de onda de entre 495 e 570 nm, e foram empregadas variadas concentrações de solução do corante (12,5, 25, e 100 µM). O tempo de incubação no escuro foi de 20 minutos

para todas as amostras. Os grupos experimentais foram: F+L+ e F+L-, fotoinativação microbiológica da associação do FS com quitosana, com e ausência de luz, respectivamente; RB+L+ e RB-L-, FS não ligado a biomolécula, com e ausência de luz, respectivamente; e F-L+ e F-L+ testes de controle, também com e ausência irradição, respectivamente. Utilizou-se corante na concentração de 12,5 µM, pois a partir dos resultados de absorbância, foi a escolha mais apropriada para obtenção de resultados satisfatórios, indicando uma queda de 0,7 logs em relação ao grupo controle. Além disso, foi verificado que a faixa de absorção mais eficiente do rosa de bengala é de 550 nm, por meio de análises espectrais. Os resultados mostraram que a TFI foi mais eficaz quando o FS estava livre em solução, em comparação com a associação com quitosana.

Silva (2019), conduziu uma série de estudos experimentais sobre os efeitos de FS's na presença de luz em *Saccharomyces cerevisiae*. Os FS's utilizados foram azul de metileno, azul de toluidina e rosa de bengala, ambos à uma concentração de 100 µmol/L. O tempo de incubação no escuro e na presença de luz foi de 20 minutos. Os resultados demonstraram que quando as leveduras foram expostas à luz após a interação com o azul de metileno por 20 minutos, causou uma redução significativa na viabilidade das mesmas, o que indicou ser um ótimo FS. O autor ressalta que, ao utilizar uma proporção igual (1:1) de azul de toluidina com azul de metileno à uma concentração de 25 µmol/L no processo de inativação fotodinâmica, identificaram uma variante da levedura diferente da abordada no estudo, denominada de RED *Saccharomyces cerevisiae*, a qual apresentava uma coloração distinta da original. Devido a um descuido, a amostra contendo o isolado fúngico foi extraviada.

#### **4.6.4 *Trichophyton rubrum***

Os fungos da espécie *Trichophyton rubrum* são organismos filamentosos, cosmopolitas e dermatófitos, com habilidade de causar infecções tanto em humanos, quanto em animais, colonizando a pele, unhas e raramente pelos/cabelos (PASSOS et. al., 2002; JENNINGS et. al., 2002; MONOD et al., 2002; LIU et. al., 2014). São organismos queratinofílicos e queratinolíticos, levando à destruição da superfície queratinosa presente dessas estruturas. Nas infecções de pele, esses microrganismos invadem apenas a camada mais externa da epiderme, o estrato córneo, sendo raras as infecções em camadas mais profundas (camadas granulares). A dermatofitose causada por *Trichophyton rubrum* é responsável por aproximadamente 80% dos casos relatados de onicomicose (CAMPOS et. al., 2006; SEEBACHER et. al., 2008; NENOFF et al., 2014; CORREIA, 2022). Da mesma

maneira ocorre nas infecções dos pelos e unhas, acometidos somente as camadas queratinizadas invadidas.

De acordo com Woodfolk & Platts-mills (1998), foram identificadas mais de 40 espécies de dermatófitos, as quais possuem características distintas em sua morfologia em cepas e em exames microscópicos, com preferência por diferentes partes do corpo. *Trichophyton rubrum* tem sido descrito na literatura como patógeno invasivo em pacientes com sistema imunológico comprometido. Squeo et. al. (1998) descreveram um caso clínico de um indivíduo de 55 anos submetido à um transplante renal o qual apresentava nódulos e pápulas no pé direito e panturrilha, demonstraram a presença de células arredondadas de paredes espessas, com 2 a 6 microns de diâmetro, na derme. Na biópsia realizada na cultura de fungos presentes na pele desse indivíduo, foi identificado que houve o crescimento de *Trichophyton rubrum* (MURRAY, 2013).

A resposta imune ao gênero *Trichophyton* não é comum, em razão desse patógeno desencadear tanto reações de hipersensibilidade imediata (IH) quanto reações de hipersensibilidade mediada por células ou do tipo retardado (DTH) nos testes cutâneos, causando assim uma infecção mais persistente ou recorrente (HAY et. al., 1983 & BRESSANI, 2011).

Um estudo conduzido por Baltazar et. al. (2013), visou investigar como a TFI afeta o desenvolvimento de *Trichophyton rubrum* (ATCC 28189), e se é mais eficaz do que o agente antifúngico tópico ciclopiroxolamina, comumente utilizado no tratamento de infecções por esses microrganismos. Além disso, o estudo investigou o papel dos radicais livres, como espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, na inativação de *Trichophyton rubrum*. Foram utilizados 12 isolados distintos de *Trichophyton rubrum*, incluindo uma cepa referencial (controle). Avaliou-se o comportamento dos fungos na presença do medicamento, e qual concentração é a ideal para a redução em massa por microdiluição. O FS utilizado no teste da TFI foi azul de toluidina (TBO). Os experimentos da TFI foram conduzidos sob diferentes concentrações de TBO (10, 40 e 70 mg/L) e variadas doses de luz LED vermelha (18, 48 e 72 J/cm<sup>2</sup>) com pico de absorção máxima de 633 nm, a fim de determinar as condições ideais para o tratamento. Os testes de tempo-morte foram realizados para comparar o efeito do ciclopiroxolamina e da TFI ao longo do tempo. Os resultados obtidos indicaram que a concentração ideal de TBO foi de 10 mg/L, e a dose de irradiação vermelha foi de 48 J/cm<sup>2</sup>, com comprimento de onda medindo 630 nm, na inativação dos microrganismos. Nessas condições, a TFI resultou em uma redução significativa (P<0,0001) na viabilidade do *Trichophyton rubrum*, com uma inibição superior a 98% do desenvolvimento fúngico após

24h, dependendo da cepa analisada. Na maioria das amostras testadas, a concentração mínima de ciclopiroxolamina para uma eficaz inibição do crescimento celular fúngico foi de 2,0 mg/L, eliminando 90% das cepas, sendo menos eficaz no combate microbiano em relação ao tratamento por inativação fotodinâmica. Radicais livres como EROS, ONOO<sup>-</sup> e NO<sup>-</sup> desempenharam um importante papel na atividade fungicida da TFI.

Ramos et. al. (2016), investigaram a performance de derivados da protoporfirina IX na inativação de *Trichophyton rubrum* (ATCC 28188). Os pesquisadores realizaram testes *in vitro* da fotodinâmica desses derivados, irradiando as cepas fúngicas com luz LED a 400 nm. Esse processo foi realizado em 12 ciclos de 10 minutos, com intervalo de 5 minutos cada, com diferentes derivados de protoporfirina IX, a fim de verificar qual deles era mais eficaz na redução da cepa microbiana. Os testes foram divididos em variados grupos de tratamentos: grupo controle (F-L-), sem aplicação de luz ou FS; (F-L+) com aplicação de luz e sem FS; aplicação de derivados de protoporfirina IX (Hp IX, Pp IX dimethyl ester, PpNpNI e PpNpNA), separadamente (F+L-), e com presença de luz em cada um (F+L+). A concentração de FS utilizada em todos os derivados foi de 20 µM. Os resultados mostraram que a partir do segundo ciclo, houve uma eliminação total das UFC's de *Trichophyton rubrum*, pela TFI. A eficácia da eliminação variou entre os derivados da protoporfirina IX testados, destacando-se aqueles que conseguiram eliminar a cepa com maior velocidade. Os resultados do estudo indicaram que a eficácia da atividade fotodinâmica está relacionada com a incorporação adequada dos derivados de protoporfirina IX, e seu aprimoramento pode ser alcançado por meio de ajustes nos grupos periféricos do anel porfirínico. Os derivados PpNpNA e PpNpNI, foram capazes de eliminar completamente a cepa de *Trichophyton rubrum* em um pequeno intervalo de exposição à luz.

Um ensaio clínico conduzido por Souza et. al. (2014), teve como objetivo avaliar o efeito da terapia fotodinâmica com azul de metileno no tratamento da onicomicose distal e lateral grave causada pelo *Trichophyton rubrum*. O estudo foi realizado com a participação de 22 pacientes, divididos em dois grupos: o grupo A, contendo 11 pacientes com infecção fúngica grave por *Trichophyton rubrum*, e o grupo B, com 11 pacientes em estado leve e moderado da infecção. Os pacientes foram submetidos ao tratamento pela TFI, com sessões de solução aquosa do FS à 2%, irradiada por um dispositivo emissor de luz de 630 nm e 36 J/cm<sup>2</sup>, quinzenalmente, por seis meses. Como resultados, o azul de metileno mostrou-se um excelente FS no tratamento de fotoinativação de *Trichophyton rubrum*. Os pacientes que apresentaram uma melhoria após o tratamento, foram aqueles infectados pela forma leve e moderada da onicomicose, apresentando uma taxa de resposta clínica de 100%, em

comparação com os pacientes com onicomicose grave (63,3%). Não foram observados efeitos adversos.

Ma et. al. (2022) investigaram a eficácia da utilização de antraquinona psoraleno (AE) derivada de ervas chinesas tradicionais como FS para o tratamento de infecções por *Trichophyton rubrum* em um experimento *in vitro* e em modelos animais (*ex vivo* e *in vivo*). Além disso, o estudo teve como objetivo avaliar o desempenho do tratamento em modelos animais na infecção cutânea e onicomicose utilizando porquinhos-da-índia. Foram utilizados microconídios de *Trichophyton rubrum* para a realização do experimento, os quais foram incubados com 10  $\mu\text{M}$  de AE no escuro por 1, 2 e 3 horas consecutivas. Também foram utilizadas cepas controles ATCC 28188 para comparação. Em seguida, os microconídios foram irradiados com luz de  $435 \pm 10$  nm durante 2,4, 12, 24, 48 e 72  $\text{J}/\text{cm}^2$ . Esse procedimento foi importante para avaliar os possíveis efeitos de toxicidade nas células fúngicas da luz e do FS, separadamente. Para verificar se a combinação de AE e luz poderia afetar a viabilidade dos microconídios, os pesquisadores realizaram experimentos adicionais. Os mesmos foram incubados em uma solução aquosa de AE à 1  $\mu\text{M}$  e 10  $\mu\text{M}$  por 2 horas no escuro e em seguida, irradiados com luz de  $435 \pm 10$  nm por diferentes períodos de tempo, incluindo 0, 1, 5, 10 e 20 minutos. A estrutura interna das células foram avaliadas por meio de microscopia eletrônica de varredura e transmissão, após a administração da terapia. Além disso, como parte do estudo, os pesquisadores investigaram se a TFI com AE aumentou a formação de espécies EROS dentro das células de microconídios, com a utilização da sonda  $\text{H}_2\text{DCFDA}$ . A citometria de fluxo foi a técnica utilizada para quantificar a presença de EROS dentro das células. Os resultados indicaram que a análise citotóxica de AE e luz, separadamente, não afetaram significativamente os microconídios de *Trichophyton rubrum*. O tratamento com TFI causou uma redução significativa ( $P < 0,01$ ) na viabilidade desses fungos, e a eficácia aumentou com a dose de luz aplicada e concentração do FS, com uma redução de 17,10% para a cepa controle e 18,63% para a cepa clínica (com 1  $\mu\text{M}$  de AE), e uma redução total na taxa de sobrevivência dos microconídios em ambos casos (com 10  $\mu\text{M}$  de AE). A análise microscópica indicou danos na estrutura celular dos microconídios, afetando a parede e membrana celular e núcleo. Além disso, foi verificado que a superfície das células ficaram distorcidas. A TFI com AE resultou em um aumento significativo de EROS dentro dos microconídios, indicando um mecanismo eficaz da ação oxidativa. O tratamento com 1  $\mu\text{M}$  de AE e luz, aumentou os níveis de EROS em aproximadamente 98,50% para ambos isolados de *Trichophyton rubrum*. Nos modelos animais, a TFI com AM mostrou-se eficaz na redução e recuperação das onicomicoses e infecções cutâneas, sendo que

nos fragmentos de unhas tratados, não houve o crescimento de fungos após 28 dias de tratamento.

Um estudo conduzido por Valkov et. al. (2021) testou diferentes FS's em culturas de *Candida albicans* ATCC 90028 e *Trichophyton rubrum* ATCC MYA-4438, a fim de encontrar formulações ideais para a TFI no tratamento dessas infecções fúngicas. Foram selecionados três FS's solúveis em água para testar seu desempenho na atividade antifúngica: rosa de bengala (RB), verde malaquita oxalato (VMO) e azul de metileno (AM). Visaram também avaliar a eficácia desses FS's sob diferentes concentrações, formulações (soluções aquosas ou soluções glicerol/água (70/30%, p/p)), e em combinação com agentes ceratolíticos (uréia e tiouréia). A presença de ceratolíticos é necessária para aumentar a permeabilidade aos agentes ativos nas unhas. O tratamento foi então iniciado em *Candida albicans* e a concentração final dos FS's testados nas suspensões fúngicas foi de 500  $\mu\text{M}$ . As amostras contendo AM foram expostas à luz por um período de 4h. Já as amostras contendo RB e VMO foram expostas à iluminação em diferentes períodos: 0,5, 1, 2, 3 e 4 horas. A faixa de emissão luminosa utilizada na condução do estudo variou de 400 a 700 nanômetros, com intensidade de luz de 1,9  $\text{mW}/\text{cm}^2$ , a partir de um medidor de luz LX-102. Para fins de comparação, foram realizados experimentos de controle (F-L-) com amostras de *Candida albicans* e *Trichophyton rubrum* em suspensão, sem adição de FS's e luz. A experimentação mostrou que apenas RB e VMO causaram erradicação total das células de *Candida albicans*. Uma vez que apenas dois dos FS's demonstraram inibição celular completa, a pesquisa prosseguiu focando exclusivamente nos testes de RB e VMO em *Trichophyton rubrum*. Posteriormente, foram testados a atividade de fotoinativação de RB e VMO em diferentes concentrações finais (200 a 0,78  $\mu\text{M}$  em solução aquosa, e 800 a 3,12  $\mu\text{M}$  em solução aquosa e de glicerol/água, respectivamente) em variados períodos de tempo. Em adição, foram testados os agentes ceratolíticos uréia e tiouréia na atividade antifúngica sob as concentrações finais de 25% a 5% (p/v) e 7% a 0,06% (p/v) em solução aquosa, respectivamente, e, 20 a 2% (p/v) e 0,078 a 0,008% (p/v), para as soluções preparadas em glicerol/água (70/30%, p/p). Os resultados finais demonstraram que, a uma concentração de 150  $\mu\text{M}$  sob iluminação, somente o RB foi capaz de eliminar completamente o crescimento de *Trichophyton rubrum* e *Candida albicans*, no entanto, os resultados objetivos para MGO não tiveram efeito significativo sob iluminação e escuro. Os agentes ceratolíticos uréia e tiouréia foram eficazes em inibir o crescimento de *Trichophyton rubrum* em concentrações a 25% e 3%, respectivamente. As placas contendo suspensões dos microrganismos foram expostas à luz por 30 minutos e incubadas no escuro por 7 dias, a fim de verificar o crescimento ou inibição dos fungos. A formulação final

contendo RB + uréia + tiouréia variou entre 150  $\mu\text{M}$ /5%/0,5% e 0,6  $\mu\text{M}$ /0,02%/0,002% (p/v), respectivamente, em solução de glicerol/água (70/30%, p/p), e mostrou uma total inativação de *Trichophyton rubrum* sob iluminação, mas não na sua ausência. Para a estabilidade das formulações, foi verificado que as à base de água e água/glicerol foram estáveis durante 32 dias, com exceção da formulação contendo uréia na solução de água/glicerol.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos resultados experimentais obtidos nos artigos citados no presente trabalho, pôde-se verificar efeitos positivos da TFI na inibição das cepas fúngicas de *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Trichophyton rubrum*, os quais apresentaram sensibilidade à essa modalidade terapêutica. Essa situação foi evidenciada por uma significativa redução na viabilidade celular, em seu crescimento contínuo e inibição eficaz na formação de biofilmes, em comparação com os grupos controle ou grupos não tratados. Esses achados sugerem o potencial da TFI como um tratamento alternativo promissor no controle e tratamento de infecções causadas por esses patógenos. Em contrapartida, alguns resultados obtidos e mencionados da TFI na inibição de *Aspergillus fumigatus*, em comparação com os demais espécimes do estudo, não foram tão significativos. Possíveis motivos para esses resultados incluem, possíveis erros na concentração e no tipo de FS administrado no estudo, tempo de incubação insuficiente, bem como as características morfológicas e mecanismo de resistência do fungo. Dentre os estudos citados, destacam-se os trabalhos conduzidos por Sueoka e colaboradores (2019) e Francisco (2020), os quais apresentaram resultados parciais e não satisfatórios quanto à administração da TFI, respectivamente.

Os resultados positivos na redução do número de unidades formadoras de colônias em *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Trichophyton rubrum*, após a aplicação da TFI, podem ser explicados por uma série de fatores. O estudo dirigido por Silva et. al. (2020) descreve a utilização da associação do FS azul de metileno com glicose, onde a presença da mesma à 1 mM foi capaz de acelerar a inativação das cepas fúngicas, permitindo uma maior captação do FS pelas células fúngicas, demonstrando que a composição do meio pode aumentar a eficácia da terapia. Essa situação pode ter ocorrido devido ao metabolismo da levedura, a qual utiliza a glicose como fonte para a realização da sua respiração celular. Um estudo publicado por Broxton et. al. (2018) investiga a utilização da glicose na fermentação e/ou respiração em *Candida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae*. De acordo com o autor, a glicose em *Saccharomyces cerevisiae* é utilizada na fermentação metabólica, reprimindo a

respiração, por meio de uma enzima denominada de superóxido dismutase (SOD1), a qual auxilia a levedura para detectar a glicose por meio da produção de  $H_2O_2$ , onde é ativado a caseína quinase YCK1, para assim ser utilizada como fonte de energia ou substrato metabólico em seus processos celulares. Esse processo é comum em fungos não oportunistas. Já em *Candida albicans* o comportamento é inverso, uma vez que a glicose é utilizada na respiração, presente em fungos oportunistas. Aqui, as SOD's desempenham um papel distinto do que ocorre em *Saccharomyces cerevisiae*, auxiliando na prevenção da absorção da glicose na célula. Sabendo-se que esses dois fungos apresentam um grau de ancestralidade, é comum o comportamento de repressão dos genes transportadores de hexoses em altas concentrações de glicose para *Candida albicans*. Mas em quantidades ideais, é possível que ela absorva o composto pelo seu metabolismo, melhorando a capacidade de absorção do FS quando o mesmo está associado. Além disso, os resultados no estudo conduzido por Silva et.al., (2020) demonstram que a glicose não afetou as espécies reativas de oxigênio, e a mesma ocorreu independentemente das condições do FS.

Hsieh et. al. (2018) avaliaram a associação de curcumina de 1 a 80  $\mu M$ , com o antifúngico fluconazol com uma concentração de 208  $\mu M$  durante 24 ou 48 h, na inativação de culturas suspensas e biofilmes de *Candida albicans*. Os resultados mostraram que a aplicação do fluconazol durante 24 e 48h, isoladamente, diminuiu a viabilidade celular para 55% e 20%, respectivamente, enquanto o seu uso na TFI com 10  $\mu M$  de curcumina, reduziu a viabilidade celular para 5% em 48h. Em um outro estudo conduzido por Donlan (2017) referente à avaliação de cepas resistentes, foi relatado que a TFI mediada pelo FS azul de toluidina, foi potencialmente maior quando associada à quitosana. A associação de um medicamento antifúngico no tratamento de candidíase oral, tem se mostrado uma abordagem terapêutica eficaz e promissora no controle e eliminação de infecções fúngicas, até mesmo em cepas resistentes a esses medicamentos. O estudo elaborado por Hidalgo et. al. (2018) investigou a eficácia da TFI quando associada à nistatina no tratamento de candidíase oral induzida em camundongos fêmeas. Neste estudo, as cepas fúngicas eram resistentes ao medicamento fluconazol, um antifúngico comum no tratamento desse tipo de infecção. Os resultados da TFI aplicada aos grupos os quais a nistatina estava associada (F+L+NYS e NYS+F+L+) promoveram uma redução significativa nas primeiras 24h, e após 7 dias, houve uma redução mediana. Os resultados positivos do estudo também corroboram quando a aplicação da TFI é isolada da nistatina, dependendo da cepa analisada (ATCC ou isolado clínico).

Diferentemente dos FS's já consagrados na literatura, Sousa et. al. (2014) observaram em seus estudos que o FS verde de malaquita em *Candida albicans*, em altas concentrações apresenta toxicidade, mesmo na ausência de luz. Esse resultado corrobora com o estudo realizado por Ferreira et. al. (2014). O motivo desta ação ainda está em processo de investigação.

A utilização de FS's naturais têm apresentado bons resultados na inativação de microrganismos. No estudo conduzido por Garcês et al. (2014), os extratos de *Bidens sulphurea* foram testados como possíveis FS's naturais na fotoinativação de *Saccharomyces cerevisiae*, a partir da extração por solventes (hexano, diclorometano e acetato de etila). A fração acetato de etila mostrou-se mais eficiente na fotoinativação de *Saccharomyces cerevisiae*, à uma diluição mínima inibitória de 1/7680. O extrato bruto liofilizado, por possuir os mesmos compostos da fração acetato de etila, apresentou resultados significativos na redução da carga microbiana pela TFI. Porém, por haver uma grande quantidade de antioxidantes em sua composição, os efeitos fotodinâmicos nas células podem ser reduzidos.

Nos resultados apresentados no estudo de Garcês et al. (2014), entre os FS's testados na inativação de *Saccharomyces cerevisiae* (azul de metileno, azul de toluidina, ftalocianina de cloroalumínio e ftalocianina de zinco), o mais eficiente foi o Azul de Metileno. O azul de metileno é atualmente o FS mais utilizado e conhecido, em função de várias razões, como por exemplo, rápida absorção máxima da luz visível em comprimentos de onda que variam de 610 a 660 nm. Além disso, o azul de metileno proporciona a geração de uma grande quantidade de espécies tóxicas para o microrganismo (TEODORO et al., 2020 & MACHADO, 2022). Devido à sua natureza hidrofílica, seu baixo peso molecular e sua carga positiva, permite a sua interação com grupos negativamente carregados nas células dos microrganismos, sendo eficaz sua capacidade de se comunicar com as organelas desses microrganismos (EDUARDO et al., 2015 & MACHADO, 2022).

Os trabalhos realizados por Queiroga (2015), Sena (2013), Silva et. al. (2020), Correia (2018), Francisco (2020), Silva (2019), Souza e colaboradores (2014) e Valkov et.al. (2021) utilizaram como FS o azul de metileno em diversas concentrações, variando de 0,8 a 1000 µg/ml. Dependendo da espécie e das condições, é necessário uma concentração maior de azul de metileno. Estudos apontam que o tempo de incubação do azul de metileno nas cepas fúngicas mais utilizado foi no período de 5 minutos, com concentrações variando desde 10 a 500µg/ml de acordo com (TEICHERT et. al., 2002; DE SOUZA et. al., 2006; GIROLDO et. al., 2009; PEREIRA et. al., 2011; QUEIROGA et. al., 2011; QUEIROGA, 2015). O estudo de Sena (2013) e Queiroga (2015) utilizaram tempos de incubação de 5 e 10 minutos,

respectivamente. Por ser um composto de baixa toxicidade e forte absorção da luz visível, o azul de metileno é amplamente empregado em diversas aplicações na farmacologia, microbiologia, e em especial, como droga fotossensibilizante em combinação com uma fonte de luz contínua a partir de um comprimento de onda específico (TEICHERT et. al., 2002 & QUEIROGA, 2015). Queiroga (2015) e Sena (2013) utilizaram em seus estudos o comprimento de luz vermelha de 660 nm, valores acima da taxa mínima de absorção da luz, a fim de garantir a ativação eficaz do FS.

O período de incubação antes da exposição à luz é um fator importante, para que o FS seja absorvido pelo microrganismo e se acumule em suas células (QUEIROGA, 2015 e LYON et. al., 2011). Durante o processo de irradiação, é necessário que o FS já esteja incorporado no interior da célula, pois para a formação de oxigênio singlete é necessário que sua difusão mínima esteja na faixa de 100 nm, e o seu efeito tóxico só ocorre no local produzido (RYSKOVA et. al., 2010 & QUEIROGA, 2015).

No estudo de Ló (2015) é mencionada a investigação dos efeitos de diferentes comprimentos de onda de luz (azul, verde e vermelha), em uma bactéria denominada de *D. radiodurans* (HAMBLIN & JORI, 2015). O estudo utilizou dois tipos diferentes de derivados porfirínicos como FS's. Nas condições experimentais estabelecidas, a luz azul, apresentando um comprimento de onda variando de 400-450 nm foi mais eficaz que a luz verde (480-580 nm) e que a luz vermelha (600-700 nm) na inativação desses microrganismos. Porém, a luz vermelha foi mais eficaz no tratamento de lesões mais profundas. Isso ocorre devido a sua capacidade de penetração em áreas teciduais mais internas. Em razão disso, foram sugeridos FS's de segunda geração, como clorinas ou ftalocianinas para situações como estas.

Como observado nos trabalhos citados, a aplicação dos FS's e luz isoladamente, não apresentou influência significativa na viabilidade dos microrganismos. O FS e a luz não representam toxicidade por si só, porém quando combinados, causam destruição da área estabelecida (GIROLDO et. al., 2009; DAI et. al., 2012; QUEIROGA, 2015).

A partir dos resultados obtidos nos estudos conduzidos por Francisco (2020) e Duan et. al. (2023), pôde-se notar alguns obstáculos obtidos nos resultados da TFI em *Aspergillus fumigatus*. No primeiro estudo, os biofilmes submetidos à TFI utilizando azul de metileno e novo azul de metileno, tanto na presença quanto na ausência de iodeto de potássio, apresentaram resistência ao tratamento. Hamblin (2017) relatou que o uso de iodeto de potássio no tratamento de conídios em suspensão em diversos espécimes de fungos, pode potencializar a TFI. Porém, sabe-se que biofilmes são comunidades celulares compostas por hifas, com alto grau de complexidade e estruturação, além da presença de células em diversos

estágios de desenvolvimento, contribuindo para resistência aos agentes antimicrobianos convencionais e à TFI (BORGHI, BORGIO, MORACE, 2016; FANNING, MITCHELL, 2012; FRANCISCO, 2020). Adicionalmente, ambas espécies de *Aspergillus* mencionadas no estudo apresentaram atividade catalásica. De acordo com Francisco (2020), com o aumento na produção de EROS durante a TFI na tentativa de restabelecimento do equilíbrio metabólico, os microrganismos podem aumentar a atividade das enzimas do complexo antioxidante. Blum e colaboradores (2008) observaram em seus estudos comparativos da atividade de catalase em *A. terreus* e *Aspergillus fumigatus*, que o aumento da sua atividade enzimática está diretamente relacionado à resistência ao estresse oxidativo. Diante do pressuposto, é esperado que biofilmes que são resistentes à TFI tenham uma alta atividade catalásica, em resposta ao estresse oxidativo de suas células (BLATZER et al., 2015; BLUM et al., 2008; FRANCISCO, 2020). Francisco (2020) enfatiza que a TFI de *A. flavus* e *Aspergillus fumigatus* com o uso de azul de metileno e novo azul de metileno, nas condições empregadas em seu estudo, não foi eficiente na inativação dos biofilmes. De forma geral, não houve aumento da atividade catalásica nos biofilmes após a terapia na ausência de iodeto de potássio. Porém, na presença do mesmo, esse aumento ocorreu com a administração do FS novo azul de metileno.

Duan et. al. (2023) observaram que a TFI com ALA-TFI foi eficaz na inibição de biofilmes em estágios iniciais e células em suspensão, com determinadas concentrações e doses de luz ideais. Os achados sugerem que embora a TFI com ALA-TFI possa perturbar a manutenção dos biofilmes em estágios mais avançados, ela não consegue eliminá-los completamente. Uma das possíveis causas pode ser em razão da estrutura tridimensional do biofilme, sendo um possível mecanismo de defesa contra agentes antifúngicos (AMIN et. al., 2019). Outra razão pode ser explicada pela rápida absorção de conídios em suspensão pelo FS em detrimento do biofilme. Estudos indicam que ALA-TFI na fotoinativação, inibe patógenos planctônicos com mais eficiência que em biofilmes (ZHANG et. al., 2017).

## 6. CONCLUSÃO

A TFI surge como uma abordagem promissora no tratamento de infecções fúngicas. Com base nos estudos revisados, é evidente que o sucesso da terapia é influenciada por diversos fatores, incluindo a escolha do FS e comprimento de onda ideal, além da associação com outros agentes terapêuticos, como por exemplo a quitosana. A TFI mostrou-se eficaz na inativação de microrganismos resistentes à medicamentos antimicóticos convencionais, oferecendo uma alternativa viável no tratamento de infecções difíceis de tratar e oportunistas

em pacientes imunocomprometidos. Além disso, a escolha do momento ideal para iniciar o tratamento, logo após o diagnóstico, é essencial para interromper o desenvolvimento de biofilmes e conseqüentemente, aumentar a eficiência da terapia. À medida que novos investimentos em pesquisas surjam nessa área, a partir do desenvolvimento de novos FS's e técnicas experimentais, pode-se esperar que a TFI desempenhe um papel cada vez mais significativo no tratamento de infecções, oferecendo melhor qualidade de vida aos pacientes. Porém, é necessário ressaltar a importância de mais estudos clínicos e experimentais para a validação e otimização das abordagens da TFI em diferentes contextos, em especial aos fungos que criam biofilmes, garantindo o seu sucesso contínuo na inativação de microrganismos patogênicos.

## REFERÊNCIAS

- ALLISON, R. R., DOWNIE, G. H., CUENCA, R., HU, X. H. CHILDS, C. J., & SIBATA, C. H.. Photosensitizers in clinical PDT. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 1, n. 1, p. 27-42, 2004.
- AMARAL, R. R., AMORIM, J. C. F., NUNES, E., SOARES, J. A., & SILVEIRA, F. F. Terapia fotodinâmica na endodontia: revisão de literatura. **RFO UPF**, v. 15, n. 2, p. 207-211, 2010
- AMIN, M., NAVIDIFAR, T., SHOOSHTARI, F. S., RASHNO, M., SAVARI, M., JAHANGIRMEHR, F., & ARSHADI, M. Association between biofilm formation, structure, and the expression levels of genes related to biofilm formation and biofilm-specific resistance of *Acinetobacter baumannii* strains isolated from burn infection in Ahvaz, Iran. **Infection and Drug Resistance**, p. 3867-3881, 2019.
- ANDRADE, Fabiana do Socorro da Silva Dias; CLARK, Rosana Maria de Oliveira; FERREIRA, Manoel Luiz. Efeitos da laserterapia de baixa potência na cicatrização de feridas cutâneas. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 41, p. 129-133, 2014.
- ARAÚJO, N. C., FONTANA, C. R., GERBI, M. E. M., & BAGNATO, V. S. Overall-mouth disinfection by photodynamic therapy using curcumin. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 30, n. 2, p. 96-101, 2012.
- ARBOLEDA, A., MILLER, D., CABOT, F., TANEJA, M., AGUILAR, M. C., ALAWA, K., ... & PAREL, J. M. Assessment of rose bengal versus riboflavin photodynamic therapy for inhibition of fungal keratitis isolates. **American Journal of Ophthalmology**, v. 158, n. 1, p. 64-70. e2, 2014.
- AUCOTT, J. N., FAYEN, J., GROSSNICKLAS, H., MORRISSEY, A., LEDERMAN, M. M., & SALATA, R. A. Invasive infection with *Saccharomyces cerevisiae*: report of three cases and review. **Clinical Infectious Diseases**, v. 12, n. 3, p. 406-411, 1990.
- BALLARD, E., MELCHERS, W. J., ZOLL, J., BROWN, A. J., VERWEIJ, P. E., & WARRIS, A. In-host microevolution of *Aspergillus fumigatus*: A phenotypic and genotypic analysis. **Fungal Genetics and Biology**, v. 113, p. 1-13, 2018.
- BALTAZAR, L. D. M., SOARES, B. M., CARNEIRO, H. C. S., AVILA, T. V., GOUVEIA, L. F., SOUZA, D. G., ... & CISALPINO, P. S. Photodynamic inhibition of *Trichophyton rubrum*: *in vitro* activity and the role of oxidative and nitrosative bursts in fungal death. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 68, n. 2, p. 354-361, 2013.
- BARBEDO, Leonardo S.; SGARBI, Diana Bg. Candidíase. Dst - J Bras Doenças Sex Transm, Niterói – RJ, v. 22, n. 1, p.22-38, abr. 2010.
- SILVA, K. B., SILVA, R. D. C., NOGUEIRA, M. D. M., SANTOS, M. B. D., FEITOSA, I. B., TAVARES, A. C. E. O. T., ... & HERMES, D. M. Bases da resistência antifúngica: uma revisão comentada. **Revista Uningá**, v. 55, n. 3, p. 52-71, 2018.

BLATZER, M., JUKIC, E., POSCH, W., SCHÖPF, B., BINDER, U., STEGER, M., ... & WILFLINGSIEDER, D. Amphotericin B resistance in *Aspergillus terreus* is overpowered by coapplication of pro-oxidants. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 23, n. 18, p. 1424-1438, 2015.

BLUM, G., PERKHOFER, S., HAAS, H., SCHRETTL, M., WÜRZNER, R., DIERICH, M. P., & LASS-FLÖRL, C. Potential basis for amphotericin B resistance in *Aspergillus terreus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 4, p. 1553-1555, 2008.

BORGHI, Elisa; BORGIO, Francesca; MORACE, Giulia. Fungal biofilms: update on resistance. **Fungal Biofilms and related infections: Advances in Microbiology, Infectious Diseases and Public Health Volume 3**, p. 37-47, 2016.

BORNEMAN, A. R.; PRETORIUS, I. S. **Genomic insights into the *Saccharomyces sensu stricto* complex**. *Genetics*, v. 199, p. 281–291, Fev. 2015

BRANDIS, A., MAZOR, O., NEUMARK, E., ROSENBAACH-BELKIN, V., SALOMON, Y., & SCHERZ, A. Novel Water-soluble Bacteriochlorophyll Derivatives for Vascular-targeted Photodynamic Therapy: Synthesis, Solubility, Phototoxicity and the Effect of Serum Proteins. **Photochemistry and photobiology**, v. 81, n. 4, p. 983-992, 2005.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 8: Detecção e identificação de fungos de importância médica/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2013.

BRESSANI, Viviani Olivastro. **Caracterização da resposta imunológica celular em pacientes portadores de dermatofitoses extensas causadas por *Trichophyton rubrum***. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2011.

BROWN, Stanley B.; BROWN, Elizabeth A.; WALKER, Ian. The present and future role of photodynamic therapy in cancer treatment. **The Lancet Oncology**, v. 5, n. 8, p. 497-508, 2004.

BROXTON, C. N., HE, B., BRUNO, V. M., & CULOTTA, V. C. A role for *Candida albicans* superoxide dismutase enzymes in glucose signaling. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 495, n. 1, p. 814-820, 2018.

CAMPOS, M. R. D. M., RUSSO, M., GOMES, E., & ALMEIDA, S. R. D. ( Stimulation, inhibition and death of macrophages infected with *Trichophyton rubrum*. **Microbes and Infection**, v. 8, n. 2, p. 372-379, 2006.

CARMELLO, J. C., DOVIGO, L. N., MIMA, E. G., JORGE, J. H., DE SOUZA COSTA, C. A., BAGNATO, V. S., & PAVARINA, A. C. In vivo evaluation of photodynamic inactivation using Photodithazine® against *Candida albicans*. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 14, p. 1319-1328, 2015.

CARMELLO, J. C., ALVES, F., G. BASSO, F., DE SOUZA COSTA, C. A., BAGNATO, V. S., MIMA, E. G. D. O., & PAVARINA, A. C. Treatment of oral candidiasis using photodithazine®-mediated Photodynamic Therapy in vivo. **PloS One**, v. 11, n. 6, p. e0156947, 2016.

CARRÉ, V., GAUD, O., SYLVAIN, I., BOURDON, O., SPIRO, M., BIAIS, J., ... & GUILLOTON, M. Fungicidal properties of meso-arylglycosylporphyrins: influence of sugar substituents on photoinduced damage in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 48, n. 1, p. 57-62, 1999.

CARRERA, E. T., DIAS, H. B., CORBI, S. C. T., MARCANTONIO, R. A. C., BERNARDI, A. C. A., BAGNATO, V. S., ... & RASTELLI, A. N. D. S. The application of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) in dentistry: a critical review. **Laser Physics**, v. 26, n. 12, p. 123001, 2016.

CARRILLO-MUNOZ, A. J., GIUSIANO, G., EZKURRA, P. A., & QUINDÓS, G. Antifungal agents: mode of action in yeast cells. **Rev Esp Quimioter**. Jun;19(2):130-9. PMID: 16964330. 2006.

CARVALHO, D.P.L. Estudo da Terapia Fotodinâmica, no controle, de micro-organismos isolados de feridas infectadas Estudo *in vitro*. 2012. 65 p. 1 Disco Laser Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Universidade Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2012.

CARVALHO, M. L., PINTO, A. P., MARQUES DA SILVA, B. G., & COSTA, M. S. Efeito antifúngico do resveratrol sobre a *Candida albicans*. **Universidade do Vale do Paraíba, Laboratório de Bioquímica aplicada a Engenharia Biomédica. São Jose dos Campos. São Paulo**, 2016.

CHAN, W. M., LAM, D. S., WONG, T. H., LAI, T. Y., KWOK, A. K., TAM, B. S., & LI, K. K. Photodynamic therapy with verteporfin for subfoveal idiopathic choroidal neovascularization: one-year results from a prospective case series. **Ophthalmology**, v. 110, n. 12, p. 2395-2402, 2003.

CHILAKAMARTHI, Ushasri; GIRIBABU, Lingamallu. Photodynamic therapy: past, present and future. **The Chemical Record**, v. 17, n. 8, p. 775-802, 2017.

CORREIA, Franciele Fernandes. **Resposta imune in situ na dermatofitose humana: análise da expressão de CD1a, CD68, fator XIIIa, IL-10 e TNF-a**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2022.

CORREIA, Thâmara Tallita da Silva. **Inativação fotodinâmica antimicrobiana in vitro de *Candida albicans* e *Staphylococcus aureus* assistida por Nanocascas de ouro**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. 2018.

COSTA, A., LEITE, P., PINTO, J. G., & FERREIRA–STRIXINO, J. Terapia Fotodinâmica na Inativação de Microrganismos. Revisão de Literatura.

COSTE, A.; SELMECKI, A.; FORCHE, A.; DIOGO, D.; BOUGNOUX, M. E.; D'ENFERT, C.; BERMAN, J.; SANGIARD, D. Genotypic evolution of azole resistance mechanisms in sequential *Candida albicans* isolates. **Eukaryot Cell**.v.6, p.1889, 2007.

- CRISSEY, J.T.; LANG, H.; PARISH, L.C. Manual of medical mycology. Cambridge: Blackwell Science, 1995.
- CROFT, C. A., CULIBRK, L., MOORE, M. M., & TEBBUTT, S. J. Interactions of *Aspergillus fumigatus* conidia with airway epithelial cells: a critical review. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 472, 2016.
- DAI, T., FUCHS, B. B., COLEMAN, J. J., PRATES, R. A., ASTRAKAS, C., ST. DENIS, T. G., ... & TEGOS, G. P. Concepts and principles of photodynamic therapy as an alternative antifungal discovery platform. **Frontiers in microbiology**, v. 3, p. 120, 2012.
- TADA, D. B., SURANITI, E., ROSSI, L. M., LEITE, C. A., OLIVEIRA, C. S., TUMOLO, T. C., ... & BAPTISTA, M. S. Effect of lipid coating on the interaction between silica nanoparticles and membranes. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 10, n. 3, p. 519-528, 2014.
- DE FREITAS TEIXEIRA, Juliana. A levedura *Saccharomyces cerevisiae*: caracterização do gênero, domesticação e importância na composição de vinhos. 2015.
- DE OLIVEIRA, K. T., DE SOUZA, J. M., DA SILVA GOBO, N. R., DE ASSIS, F. F., & BROCKSOM, T. J. Conceitos fundamentais e Aplicações de Fotossensibilizadores do tipo Porfirinas, clorinas e Ftalocianinas em Terapias Fotônicas. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 1, p. 310-335, 2015.
- DE SOUZA, S. C., JUNQUEIRA, J. C., BALDUCCI, I., KOGA-ITO, C. Y., MUNIN, E., & JORGE, A. O. C. Photosensitization of different *Candida* species by low power laser light. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 83, n. 1, p. 34-38, 2006.
- DIAS, LUCAS D.; VERONESE, JÚLIA M.; PEREIRA, MARIETTE M. Terapia Fotodinâmica e Educação no Combate à Resistência Bacteriana. **Revista Anápolis Digital**, v. 12, n. 3, p. 61-80, 2020.
- DIGNANI MC, SOLOMKIN JS, ANAISSIE E. *Candida*. In: Anaissie E, McGinnis MR, Pfaller MA. Medical Mycology. Filadélfia: Livingstone; p. 195-239. 2003.
- DONLAN, Rodney M. Biofilms: microbial life on surfaces. **Emerging Infectious Diseases**, v. 8, n. 9, p. 881, 2002.
- DONNELLY, RYAN F.; MCCARRON, PAUL A.; TUNNEY, MICHAEL M. Antifungal photodynamic therapy. **Microbiological Research**, v. 163, n. 1, p. 1-12, 2008.
- DOS SANTOS, T. K. G. L., DE CARVALHO ALCOFORADO, L. G., DE SOUSA LEITÃO, A., VANDERLEI, A. C. D. Q. V., CARVALHO, A. K. F. A., & VIEIRA, A. P. D. S. B. Uso da Laserterapia de Baixa Potência no Tratamento de Lesões Orais. **Revista Campo do Saber**, v. 4, n. 5, 2019.
- DOUGHERTY TJ, KAUFMAN JH, GOLDFARB A. Photoradiation Therapy for the Treatment of Malignant Tumors. **Cancer Research**, [s. l.], v. 38, n. 8, p. 2628-2635, 1978.

DOUGHERTY, T. J., GOMER, C. J., HENDERSON, B. W., JORI, G., KESSEL, D., KORBELIK, M., ... & PENG, Q. Photodynamic therapy. **Journal of National Cancer Institute**, v. 90, n. 12, p. 889-905, 1998.

DOVIGO, L. N., PAVARINA, A. C., CARMELLO, J. C., MACHADO, A. L., BRUNETTI, I. L., & BAGNATO, V. S. Susceptibility of clinical isolates of *Candida* to photodynamic effects of curcumin. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 43, n. 9, p. 927-934, 2011.

DUAN, Z., TONG, J., ZHENG, N., ZENG, R., LIU, Y., & LI, M. Effect of 5-Aminolevulinic Acid Photodynamic Therapy on *Aspergillus fumigatus* Biofilms in Vitro. **Current Microbiology**, v. 80, n. 10, p. 1-11, 2023.

EDUARDO, C. D. P., BELLO-SILVA, M. S., RAMALHO, K. M., LEE, E. M. R., & ARANHA, A. C. C. A terapia fotodinâmica como benefício complementar na clínica odontológica. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, v. 69, n. 3, p. 226-235, 2015.

EGGIMANN, Philippe; GARBINO, Jorge; PITTET, Didier. Management of candidiasis Management of *Candida* species infections in critically ill patients. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 3, n. 12, p. 772-785, 2003.

ENACHE-ANGOULVANT, Adela; HENNEQUIN, Christophe. Invasive *Saccharomyces* infection: a comprehensive review. **Clinical Infectious Diseases**, v. 41, n. 11, p. 1559-1568, 2005.

ENGELMANN, F. M., MAYER, I., GABRIELLI, D. S., TOMA, H. E., KOWALTOWSKI, A. J., ARAKI, K., & BAPTISTA, M. S. Interaction of cationic meso-porphyrins with liposomes, mitochondria and erythrocytes. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**, v. 39, p. 175-185, 2007.

FANNING, Saranna; MITCHELL, Aaron P. Fungal biofilms. **PLoS pathogens**, v. 8, n. 4, p. e1002585, 2012.

L. R. FERREIRA, A. M. DEANA, M. E. S. SANTI, R. G. LOPES, A. S. SOUZA, S. K. BUSSADORI & R. A. PRATES. Investigação da Concentração Mínima Inibitória do Verde Malaquita em *Candida albicans*. In: XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, 2014, Uberlândia. XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica. Rio de Janeiro: **SBEB**, p. 1018-1021. 2014.

FRANCISCO, Camila Guedes. Avaliação da eficácia de agentes antifúngicos e do tratamento fotodinâmico antimicrobiano em conídios, micélios e biofilmes de *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus flavus*. 2020.

FREITAS, Lírian Silva de Figueiredo. Efeito antimicrobiano de múltiplas sessões de terapia fotodinâmica sobre biofilmes de *Candida* spp. formados in vitro. 2015.

FRIEDBERG, J. S., SKEMA, C., BAUM, E. D., BURDICK, J., VINOGRADOV, S. A., WILSON, D. F., ... & NACHAMKIN, I. In vitro effects of photodynamic therapy on *Aspergillus fumigatus*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 48, n. 1, p. 105-107, 2001.

GAD, F., ZAHRA, T., HASAN, T., & HAMBLIN, M. R. Effects of growth phase and extracellular slime on photodynamic inactivation of gram-positive pathogenic bacteria. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, n. 6, p. 2173-2178, 2004.

GARCÊS, Bruno Pereira. Estudo da fotoinativação de *Saccharomyces cerevisiae* utilizando lipossomas e proteínas de *Moringa oleifera* como sistemas de entrega de fotossensibilizadores sintéticos e naturais. 2014.

GHAZAEI, Ciamak. Molecular insights into pathogenesis and infection with *Aspergillus fumigatus*. **The Malaysian journal of medical sciences: MJMS**, v. 24, n. 1, p. 10, 2017.

GIROLDO, L. M., FELIPE, M. P., DE OLIVEIRA, M. A., MUNIN, E., ALVES, L. P., & COSTA, M. S. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT) with methylene blue increases membrane permeability in *Candida albicans*. **Lasers in medical science**, v. 24, p. 109-112, 2009.

BARBOSA, C. M., ALENCAR, D. J. P., BORGES, F. D. S. S., CAVALCANTE, F. P., BRILHANTE, F. D. F., PORTELA, J. G., ... & SOUZA, G. R. L. Inativação Fotodinâmica: aspectos fotofísicos e aplicações no combate a microrganismos. 2021.

GONZALES, Fernanda Pereira. **Triagem, identificação e determinação de parâmetros funcionais de fotossensibilizadores com ação antifúngica**. 2007. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

GUARNER, Jeannette. Human immunodeficiency virus and fungal infections. In: **Seminars in Diagnostic Pathology**. WB Saunders, 2017. p. 325-331.

GUARRO, Josep. Taxonomía y biología de los hongos causantes de infección en humanos. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 30, n. 1, p. 33-39, 2012.

GULLO, Antonino. Invasive fungal infections: the challenge continues. **Drugs**, v. 69, p. 65-73, 2009.

HAMBLIN, Michael R. Potentiation of antimicrobial photodynamic inactivation by inorganic salts. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 15, n. 11, p. 1059-1069, 2017.

HAMBLIN, Michael R.; JORI, Giulio (Ed.). **Photodynamic inactivation of microbial pathogens: medical and environmental applications**. Royal Society of Chemistry, 2015.

HAY, R. J., REID, S., TALWAT, E., & MACNAMARA, K. Immune responses of patients with tinea imbricata. **British Journal of Dermatology**, v. 108, n. 5, p. 581-586, 1983.

HONG, S. B., KIM, D. H., PARK, I. C., CHOI, Y. J., SHIN, H. D., & SAMSON, R. Re-identification of *Aspergillus fumigatus* sensu lato based on a new concept of species delimitation. **The Journal of Microbiology**, v. 48, p. 607-615, 2010.

HSIEH, Y. H., ZHANG, J. H., CHUANG, W. C., YU, K. H., HUANG, X. B., LEE, Y. C., & LEE, C. I. An in vitro study on the effect of combined treatment with photodynamic and chemical therapies on *Candida albicans*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 2, p. 337, 2018.

HUDSON, Robert; SAVOIE, Huguette; BOYLE, Ross W. Lipophilic cationic porphyrins as photodynamic sensitizers - Synthesis and structure-activity relationships. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 2, n. 3, p. 193-196, 2005.

JENNINGS, M. B., WEINBERG, J. M., KOESTENBLATT, E. K., & LESZCZYNSKI, C. Study of clinically suspected onychomycosis in a podiatric population. **Journal of the American Podiatric Medical Association**, v. 92, n. 6, p. 327-330, 2002.

JENSEN, J., MUNOZ, P., GUINEA, J., RODRÍGUEZ-CRÉIXEMS, M., PELÁEZ, T., & BOUZA, E. Mixed fungemia: incidence, risk factors, and mortality in a general hospital. **Clinical Infectious Diseases**, v. 44, n. 12, p. e109-e114, 2007.

JORI, G., FABRIS, C., SONCIN, M., FERRO, S., COPPELLOTTI, O., DEI, D., ... & RONCUCCI, G. Photodynamic therapy in the treatment of microbial infections: basic principles and perspective applications. **Lasers in Surgery and Medicine: The Official Journal of the American Society for Laser Medicine and Surgery**, v. 38, n. 5, p. 468-481, 2006.

JORI, Giulio; BROWN, Stanley B. Photosensitized inactivation of microorganisms. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 3, n. 5, p. 403-405, 2004.

JUNQUEIRA, H. C., SEVERINO, D., DIAS, L. G., GUGLIOTTI, M. S., & BAPTISTA, M. S. Modulation of methylene blue photochemical properties based on adsorption at aqueous micelle interfaces. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 4, n. 11, p. 2320-2328, 2002.

KATO, I. T., PRATES, R. A., SABINO, C. P., FUCHS, B. B., TEGOS, G. P., MYLONAKIS, E., ... & RIBEIRO, M. S. Antimicrobial photodynamic inactivation inhibits *Candida albicans* virulence factors and reduces in vivo pathogenicity. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 57, n. 1, p. 445-451, 2013.

KIBBLER, C. C., SEATON, S., BARNES, R. A., GRANSDEN, W. R., HOLLIMAN, R. E., JOHNSON, E. M., ... & WILSON, J. A. Management and outcome of bloodstream infections due to *Candida* species in England and Wales. **Journal of Hospital Infection**, v. 54, n. 1, p. 18-24, 2003.

KOCHEVAR, I. E., LAMBERT, C. R., LYNCH, M. C., & TEDESCO, A. C. Comparison of photosensitized plasma membrane damage caused by singlet oxygen and free radicals. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1280, n. 2, p. 223-230, 1996.

KURTZMAN, C. P. **Discussion of Teleomorphic and Anamorphic Ascomycetous Yeasts and Yeast-like Taxa**. In: KURTZMAN, C. P.; FELL, J. W.; BOEKHOUT, T. *The Yeasts a Taxonomic Study*. 5<sup>th</sup> ed. Elsevier, v. 2, p. 293-307, 2011.

KURTZMAN, C. P.; FELL, J. W.; BOEKHOUT, T. The Yeasts a Taxonomic Study. 5<sup>a</sup> ed. Elsevier, v. 2, p. 733–746, 2011.

LAIA, César AT; COSTA, Sílvia MB; FERREIRA, LF Vieira. Electron-transfer mechanism of the triplet state quenching of aluminium tetrasulfonated phthalocyanine by cytochrome c. **Biophysical Chemistry**, v. 122, n. 2, p. 143-155, 2006.

LI, Wen-Tyng. Nanotechnology-based strategies to enhance the efficacy of photodynamic therapy for cancers. **Current Drug Metabolism**, v. 10, n. 8, p. 851-860, 2009.

LITTLE, James W.; MILLER, Craig; RHODUS, Nelson L. **Dental management of the medically compromised patient-E-book**. Elsevier Health Sciences, 2017.

LIU, T., XU, X., LENG, W., XUE, Y., DONG, J., & JIN, Q. Analysis of gene expression changes in *Trichophyton rubrum* after skin interaction. **Journal of Medical microbiology**, v. 63, n. Pt 5, p. 642, 2014.

LÓ, S. M., BARREIRA, S. M., GONÇALVES, A. G., & TOMÉ, J. P. “Foto-antibióticos”-a luz na fotoinativação de micro-organismos. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 1, p. 390-402, 2015.

LUI, Harvey; ANDERSON, R. Rox. Photodynamic therapy in dermatology: shedding a different light on skin disease. **Archives of dermatology**, v. 128, n. 12, p. 1631-1636, 1992.

LYON, J. P., MOREIRA, L. M., DE MORAES, P. C. G., DOS SANTOS, F. V., & DE RESENDE, M. A. Photodynamic therapy for pathogenic fungi. **Mycoses**, v. 54, n. 5, p. e265-e271, 2011.

MA, W., ZHANG, M., CUI, Z., WANG, X., NIU, X., ZHU, Y., ... & LIU, C. Aloe-emodin-mediated antimicrobial photodynamic therapy against dermatophytosis caused by *Trichophyton rubrum*. **Microbial Biotechnology**, v. 15, n. 2, p. 499-512, 2022.

MACHADO, Antonio Eduardo da Hora. Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas. **Química Nova**, v. 23, p. 237-243, 2000.

MACHADO, Karoline de Oliveira. Avaliação da terapia fotodinâmica antimicrobiana utilizando fotossensibilizador azul de taylor em *Candida albicans*: estudo in vitro. 2022.

MANOEL, Cecília Amparo; PAOLILLO, Fernanda Rossi; MENEZES, Priscila Fernanda Campos. Conceitos fundamentais e práticos da fotoestética. **São Carlos: Compacta**, 2014.

MESQUITA-ROCHA, Sabrina. *Aspergillus fumigatus*: aspectos gerais e importância na medicina contemporânea. **Journal of the Health Sciences Institute**, v. 37, n. 2, p. 169-173.2019, 2019.

MONOD, M., CAPOCCIA, S., LÉCHENNE, B., ZAUGG, C., HOLDOM, M., & JOUSSON, O. Secreted proteases from pathogenic fungi. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 292, n. 5-6, p. 405-419, 2002.

MULU, A., KASSU, A., ANAGAW, B., MOGES, B., GELAW, A., ALEMAYEHU, M., ... & ISOGAI, E. Frequent detection of 'azole' resistant *Candida* species among late presenting AIDS patients in northwest Ethiopia. **BMC Infectious Diseases**, v. 13, n. 1, p. 1-10, 2013.

MUNOZ, P., BOUZA, E., CUENCA-ESTRELLA, M., EIROS, J. M., PÉREZ, M. J., SÁNCHEZ-SOMOLINOS, M., ... & PELÁEZ, T. *Saccharomyces cerevisiae* fungemia: an emerging infectious disease. **Clinical Infectious diseases**, v. 40, n. 11, p. 1625-1634, 2005.

MURRAY, David. **Microbiologia Médica 7ª edição**. Elsevier Brasil, 2013.

MURRAY, P. et. al. Classificação, estrutura e replicação dos fungos. In: MURRAY, Patrick et al. **Microbiologia médica**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier. Cap. 65. p. 605-609. 2018.

MURRAY, Patrick R.; ROSENTHAL, Ken; PFALLER, Michael A. **Microbiologia Médica**. Elsevier Health Sciences, 2017.

NAKSURIYA, O., OKONOJI, S., SCHIFFELERS, R. M., & HENNINK, W. E. Curcumin nanoformulations: a review of pharmaceutical properties and preclinical studies and clinical data related to cancer treatment. **Biomaterials**, v. 35, n. 10, p. 3365-3383, 2014.

NASCIMENTO, Camila Prado Cruz. Redução bacteriana via terapia fotodinâmica. 2013.

NENOFF, P., KRÜGER, C., GINTER-HANSELMAYER, G., & TIETZ, H. J. Mycology—an update. Part 1: Dermatomycoses: causative agents, epidemiology and pathogenesis. **JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft**, v. 12, n. 3, p. 188-210, 2014.

NÉRI, Julia dos Santos Vianna. Terapia Fotodinâmica como Adjuvante na Desinfecção do Sistema de Canais Radiculares: Uma Revisão De Literatura. **Revista Brasileira de Saúde Funcional**, v. 10, n. 2, 2022.

PARENTE-ROCHA, J. A., BAILÃO, A. M., AMARAL, A. C., TABORDA, C. P., PACCEZ, J. D., BORGES, C. L., & PEREIRA, M. Antifungal resistance, metabolic routes as drug targets, and new antifungal agents: an overview about endemic dimorphic fungi. **Mediators of Inflammation**, v. 2017.

PASSOS, C. M., XS, S. L., MIRANDA, A. T. B., LEMOS, J. Á., OLIVEIRA JÚNIOR, J. G., & SILVA, M. R. R. Epidemiology and etiology of dermatophytosis in Goiania, GO, Brazil. **Rev Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 35, p. 19-22, 2002.

PLAETZER, K., KRAMMER, B., BERLANDA, J., BERR, F., & KIESSLICH, T. Photophysics and photochemistry of photodynamic therapy: fundamental aspects. **Lasers In Medical Science**, v. 24, p. 259-268, 2009.

PEREIRA, C. A., ROMEIRO, R. L., COSTA, A. C. B. P., MACHADO, A. K. S., JUNQUEIRA, J. C., & JORGE, A. O. C. Susceptibility of *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, and *Streptococcus mutans* biofilms to photodynamic inactivation: an in vitro study. **Lasers in medical science**, v. 26, p. 341-348, 2011.

PERUSSI, Janice Rodrigues. Inativação fotodinâmica de microrganismos. **Química Nova**, v. 30, p. 988-994, 2007.

PFALLER, Michael A.; DIEKEMA, DJ1797637. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. **Clinical microbiology reviews**, v. 20, n. 1, p. 133-163, 2007.

PIRES, L., BOSCO, S. D. M. G., BAPTISTA, M. S., & KURACHI, C. Photodynamic therapy in *Pythium insidiosum*—an in vitro study of the correlation of sensitizer localization and cell death. **PLoS One**, v. 9, n. 1, p. e85431, 2014.

PRATES, Renato Araújo. **Avaliação dos efeitos da terapia fotodinâmica antimicrobiana sobre leveduras patogênicas**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2010.

QUEIROGA, A. S., TRAJANO, V. N., LIMA, E. O., FERREIRA, A. F. M., & LIMEIRA JR, F. A. In vitro photodynamic inactivation of *Candida* spp. by different doses of low power laser light. **Photodiagnosis and photodynamic therapy**, v. 8, n. 4, p. 332-336, 2011.

QUEIROGA, Bruna Honorio. Fotoinativação de *Candida albicans* utilizando azul de metileno como fotossensibilizador. 2015.

RAJESH, S., KOSHI, E., PHILIP, K., & MOHAN, A. Antimicrobial photodynamic therapy: An overview. **Journal of Indian Society of Periodontology**, v. 15, n. 4, p. 323-227, 2012.

RAMOS, R. R., KOZUSNY-ANDREANI, D. I., FERNANDES, A. U., & BAPTISTA, M. D. S. Photodynamic action of protoporphyrin IX derivatives on *Trichophyton rubrum*. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 91, p. 135-140, 2016.

REX, John H.; RINALDI, M. G.; PFALLER, M. A. Resistance of *Candida* species to fluconazole. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 39, n. 1, p. 1-8, 1995.

RIBEIRO, J. N., FLORES, A. V., MESQUITA, R. C., NICOLA, J. H., & NICOLA, E. M. D. Terapia Fotodinâmica: uma luz na luta contra o câncer. *Physicae*, v. 5, n. 1, p. 1-10, 2005.

RICHARDSON, Malcolm; LASS-FLÖRL, C. Changing epidemiology of systemic fungal infections. **Clinical microbiology and infection**, v. 14, p. 5-24, 2008.

RIMACHI HIDALGO, Karem Janeth. Eficácia da terapia fotodinâmica antimicrobiana associada a nistatina no tratamento de candidose oral em camundongos infectados com *Candida albicans* resistente a fluconazol. 2018.

ROCHA, Claudio; REYNOLDS, Nathanael D.; SIMONS, Mark P. Resistencia emergente a los antibióticos: una amenaza global y un problema crítico en el cuidado de la salud. **Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública**, v. 32, p. 139-145, 2015.

- RODRIGUES, Andréia da Cruz. **Utilização de Derivados de Produtos Naturais Porfirinóides na Inativação de Microrganismos usando Terapia Fotodinâmica**. 2022. Dissertação de Mestrado.
- RYSKOVA, Lenka; BUCHTA, Vladimir; SLEZAK, Radovan. Photodynamic antimicrobial therapy. **Central European journal of biology**, v. 5, p. 400-406, 2010.
- SAMSON, R. A., HONG, S., PETERSON, S. W., FRISVAD, J. C., & VARGA, J. Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section *Fumigati* and its teleomorph *Neosartorya*. **Studies in Mycology**, v. 59, n. 1, p. 147-203, 2007.
- SANTOS, Thiago Vieira Soares dos. **Terapia Fotodinâmica: uma revisão dos conceitos gerais e dos avanços de novos sistemas carreadores desenvolvidos com base na nanotecnologia**. 2020.
- SCHADEN, Eva; KOZEK-LANGENECKER, Sibylle A. Direct thrombin inhibitors: pharmacology and application in intensive care medicine. **Intensive care medicine**, v. 36, p. 1127-1137, 2010.
- SEEBACHER, Claus; BOUCHARA, Jean-Philippe; MIGNON, Bernard. Updates on the epidemiology of dermatophyte infections. **Mycopathologia**, v. 166, p. 335-352, 2008.
- SENA, Rosa Maria Machado de. **Efeitos da Terapia Fotodinâmica mediada por laser de emissão vermelha e azul de metileno em vaginite induzida por *Candida albicans***. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2013.
- SHISHODIA, Sonia Kumari; TIWARI, Shraddha; SHANKAR, Jata. Resistance mechanism and proteins in *Aspergillus* species against antifungal agents. **Mycology**, v. 10, n. 3, p. 151-165, 2019.
- SICARD, D.; LEGRAS, J-L. **Bread, Beer and Wine**: Yeast domestication in the *Saccharomyces* sensu stricto complex. *C. R. Biologies*, n. 334, p. 229–236, 2011.
- SILVA, F. H. A. D., PAÇO, F. R., REIS, E., & AMARAL, V. Infecção por *Saccharomyces cerevisiae*: uma infecção atípica em UTI. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 23, p. 108-111, 2011.
- SILVA, Fúlvio Vieira da. *Saccharomyces cerevisiae*: como modelo celular eucariótico. 2019.
- SILVA, Ludymila Rosa Batista. Inativação fotodinâmica de *Saccharomyces cerevisiae* utilizando rosa de bengala adsorvido em quitosana. 2018.
- SILVA, Tamires de Oliveira. Papel da glicose na inativação de *Candida albicans* na terapia fotodinâmica antimicrobiana. 2020.
- SOUSA, A. S., PRATES, R. A., ONOFRE, M. E. S., LOPES, R. G., BUSSADORI, S. K., FERREIRA, L. R., & DEANA, A. M. Efeito da Terapia Fotodinâmica com Fotossensibilizador Verde Malaquita em *Candida albicans*. 2014.

SOUZA, Linton Wallis Figueiredo; SOUZA, Simone Vilas Trancoso; BOTELHO, Ana Cristina de Carvalho. Distal and lateral toenail onychomycosis caused by *Trichophyton rubrum*: treatment with photodynamic therapy based on methylene blue dye. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 89, p. 184-186, 2014.

SOUZA, R. C., JUNQUEIRA, J. C., ROSSONI, R. D., PEREIRA, C. A., MUNIN, E., & JORGE, A. O. Comparison of the photodynamic fungicidal efficacy of methylene blue, toluidine blue, malachite green and low-power laser irradiation alone against *Candida albicans*. **Lasers in medical science**, v. 25, p. 385-389, 2010.

SQUEO, R. F., BEER, R., SILVERS, D., WEITZMAN, I., & GROSSMAN, M. Invasive *Trichophyton rubrum* resembling blastomycosis infection in the immunocompromised host. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 39, n. 2, p. 379-380, 1998.

ST. DENIS, T. G., DAI, T., IZIKSON, L., ASTRAKAS, C., ANDERSON, R. R., HAMBLIN, M. R., & TEGOS, G. P. All you need is light: antimicrobial photoinactivation as an evolving and emerging discovery strategy against infectious disease. **Virulence**, v. 2, n. 6, p. 509-520, 2011.

STELL, A. J.; DOBSON, J. M.; LANGMACK, K. Photodynamic therapy of feline superficial squamous cell carcinoma using topical 5-aminolaevulinic acid. **Journal of Small Animal Practice**, v. 42, n. 4, p. 164-169, 2001.

STEVENS, David A. Clinical aspergillosis for basic scientists. **Medical Mycology**, v. 47, n. sup1, p. S1-S4, 2009.

STRAKHOVSKAYA, M. G., ZHUKHOVITSKII, V. G., MIRONOV, A. F., SEREGIN, A. M., STRANADKO, E. F., & RUBIN, A. B. Fungicidal activity of khlorin photosensitizers. In: **Doklady Biochemistry and Biophysics**. Kluwer Academic Publishers-Plenum Publishers, 2002. p. 155-158.

STRAKHOVSKAYA, M. G., BELENIKINA, N. S., IVANOVA, E. V., CHEMERIS, Y. K., & STRANADKO, E. F. The photodynamic inactivation of the yeast *Candida guilliermondii* in the presence of photodithazine. **Microbiology**, v. 71, p. 298-301, 2002.

SUEOKA, K., CHIKAMA, T., PERTIWI, Y. D., KO, J. A., KIUCHI, Y., SAKAGUCHI, T., & OBANA, A. Antifungal efficacy of photodynamic therapy with TONS 504 for pathogenic filamentous fungi. **Lasers in Medical Science**, v. 34, p. 743-747, 2019.

SUNDARARAJAN, P., DEY, A., SMITH, A., DOSS, A. G., RAJAPPAN, M., & NATARAJAN, S. Studies of anticancer and antipyretic activity of *Bidens pilosa* whole plant. **African Health Sciences**, v. 6, n. 1, p. 27-30, 2006.

SUZUKI, I., INADA, N. M., MARANGONI, V., CORRÊA, T., ZUCOLOTTO, V., & BAGNATO, V. S. Síntese de nanopartículas de PLGA contendo curcuminóides para otimização da inativação fotodinâmica de microrganismos. **Livro de Resumos**, 2015.

SUZUKI, Isabella Luiz. **Viabilização da curcumina natural nanoencapsulada para inativação fotodinâmica**. 2016. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

TARDIVO, J. P., DEL GIGLIO, A., DE OLIVEIRA, C. S., GABRIELLI, D. S., JUNQUEIRA, H. C., TADA, D. B., ... & BAPTISTA, M. S. Methylene blue in photodynamic therapy: From basic mechanisms to clinical applications. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 2, n. 3, p. 175-191, 2005.

TAVARES, W. **Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Antiinfeciosos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2001.

TEICHERT, M. C., JONES, J. W., USACHEVA, M. N., & BIEL, M. A. Treatment of oral candidiasis with methylene blue-mediated photodynamic therapy in an immunodeficient murine model. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 93, n. 2, p. 155-160, 2002.

TEODORO, PAULO DE SOUZA; FERNANDES, HUGO VICTOR DOS SANTOS. O uso da terapia fotodinâmica como método alternativo de tratamento da candidíase oral. **Revista Arquivos Científicos (IMMES)**, v. 3, n. 1, p. 14-23, 2020.

TOLEDO, Amanda Grosselli. Infecções fúngicas em pacientes internados com COVID-19: uma revisão de literatura. 2022.

TRAN-DIEN, A., LE HELLO, S., BOUCHIER, C., & WEILL, F. X. Early transmissible ampicillin resistance in zoonotic *Salmonella enterica* serotype Typhimurium in the late 1950s: a retrospective, whole-genome sequencing study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, n. 2, p. 207-214, 2018.

VALKOV, ANTON; ZINIGRAD, MICHAEL; NISNEVITCH, MARINA. Photodynamic Eradication of *Trichophyton rubrum* and *Candida albicans*. **Pathogens**, v. 10, n. 3, p. 263, 2021.

VAN DE VEERDONK, F. L., GRESNIGT, M. S., ROMANI, L., NETEA, M. G., & LATGÉ, J. P. *Aspergillus fumigatus* morphology and dynamic host interactions. **Nature Reviews Microbiology**, v. 15, n. 11, p. 661-674, 2017.

VAUGHAN-MARTINI, ANN; MARTINI, ALESSANDRO. *Saccharomyces meyen ex reess* (1870). In: **The yeasts**. Elsevier, p. 733-746. 2011.

VERWEIJ, P. E., ZHANG, J., DEBETS, A. J., MEIS, J. F., VAN DE VEERDONK, F. L., SCHOUSTRA, S. E., ... & MELCHERS, W. J. In-host adaptation and acquired triazole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a dilemma for clinical management. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 11, p. e251-e260, 2016.

VIEIRA, ANA JÚLIA HOFFMANN; SANTOS, J. I. Mecanismos de resistência de *Candida albicans* aos antifúngicos anfotericina B, fluconazol e caspofungina. **Rbac**, v. 49, n. 3, p. 235-9, 2017.

VICTORIA CASTELLI, MARIA; GABRIEL DERITA, MARCOS; NOELI LOPEZ, SILVIA. Novel antifungal agents: a patent review (2013-present). **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 27, n. 4, p. 415-426, 2017.

VOLLET FILHO, JOSÉ DIRCEU; INADA, NATALIA MAYUMI. Fundamentos da ação fotodinâmica. **Controle microbiológico com ação fotodinâmica**, 2017.

WAINWRIGHT, MARK; GRICE, NICOLA J.; PYE, LYNNETTE EC. Phenothiazine photosensitizers: part 2. 3, 7-Bis (arylamino) phenothiazines. **Dyes and pigments**, v. 42, n. 1, p. 45-51, 1999.

WAINWRIGHT, M., PHOENIX, D. A., GASKELL, M., & MARSHALL, B. Photobactericidal activity of methylene blue derivatives against vancomycin-resistant *Enterococcus* spp. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 44, n. 6, p. 823-825, 1999.

WAINWRIGHT, Mark. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). **The Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 42, n. 1, p. 13-28, 1998.

WALSH, T. J., VIVIANI, M. A., ARATHOON, E., CHIOU, C., GHANNOUM, M., GROLL, A. H., & ODDS, F. C. New targets and delivery systems for antifungal therapy. **Sabouraudia**, v. 38, n. Supplement\_1, p. 335-347, 2000.

WHITE, T.C., MARR, K.A., BOWDEN, R.A. Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance. *Clin Microbiol Ver*, v.11, p.382, 1998.

WOODFOLK, J. A.; PLATTS-MILLS, T. A. E. The immune response to dermatophytes. **Research in immunology**, v. 149, n. 4-5, p. 436-445, 1998.

ZAMBOM, Carolina Reis. Desenvolvimento e caracterização de lipossomas com diferentes composições lipídicas contendo o peptídeo antifúngico. 2018.

ZHANG, Q. Z., ZHAO, K. Q., WU, Y., LI, X. H., YANG, C., GUO, L. M., ... & ZHENG, C. Q. 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy and its strain-dependent combined effect with antibiotics on *Staphylococcus aureus* biofilm. **PloS one**, v. 12, n. 3, p. e0174627, 2017.