

# POTENCIAL FOTODINÂMICO DE FOTOSSENSIBILIZADORES XATENOS SOBRE UMA CEPA PADRÃO DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

**CORRADI, Fernanda Frizo<sup>1</sup>**

Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino – FAE.

[fer.frizo@gmail.com](mailto:fer.frizo@gmail.com)

**CARVALHO, Gabriel Aparecido<sup>2</sup>**

Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino – FAE.

[carvallhovgs@gmail.com](mailto:carvallhovgs@gmail.com)

**MARINI, Danyelle Cristine<sup>3</sup>**

Faculdades Integradas Maria Imaculada - FIMI

Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino – FAE.

[danymarini@gmail.com](mailto:danymarini@gmail.com)



## RESUMO

O controle microbiano tem se mostrando um obstáculo cada vez mais difícil de ser controlado, tornando-o um foco de pesquisa constante. Os pesquisadores buscam novos métodos alternativos garantindo tratamento sem o uso de antimicrobiano ou associando-os, já que o mesmo está sendo utilizado de forma negligenciada, causando um aumento na resistência dos microrganismos dificultando mais ainda a escolha de um tratamento. O microrganismo em estudo foi a *Pseudomonas aeruginosa*, bactéria Gram-negativa, de alta virulência, encontrada na comunidade e em ambiente hospitalar, com controle dificultado devido sua alta capacidade de resistência antibiótica, favorecida pelo uso incorreto de antibioticoterapias. Essa pesquisa visionou apresentar um método alternativo ao seu tratamento através do uso de corantes xatenos e um fotossensibilizador de maneira que sensibilizasse a bactéria. A TFD (Terapia Fotodinâmica) consiste no uso de um corante associado a irradiação de uma luz sobre o microrganismo, promove interação corante-luz-bactéria, de forma que o mesmo possa ser inibido ou tenha sua capacidade de proliferação reduzida. Foram utilizados dois tipos de corantes xateno (Eritrosina B e Rosa de Bengala), dois extratos de plantas da baixada maranhense (*Punica granatum* e *Terminalia cattapa*) e uma

<sup>1</sup> Medicina na instituição Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino – FAE.

<sup>2</sup> Graduando em farmácia pelo Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino – FAE.

<sup>3</sup> Graduada em Farmácia e Habilitação em Farmacêutico pela Universidade Metodista de Piracicaba, mestrado em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho e doutora em Educação pela Universidade Metodista de Piracicaba. Docente da Faculdades Integradas Maria Imaculada e Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino – FAE.

fonte de luz LED que foi irradiada durante 40 segundos. As combinações entre corante, extratos das plantas e iluminação foram organizados em 7 grupos. Os dois grupos com maior sucesso apresentavam combinações com o corante Rosa-bengala e na presença de luz, seu potencial bactericida era fortalecido. No grupo em que houve utilização do extrato *Punica granatum* sozinho, houve proliferação bacteriana na ausência da fonte de luz; na sua presença, a redução das colônias não foi estatisticamente relevante. A TFD apresenta-se como um novo recurso, atuando de modo independente da antibioticoterapia, evitando e, concomitantemente, reduzindo a resistência bacteriana. Dessa forma, ela surge como uma alternativa viável no tratamento de pacientes com “pé diabético”, tendo em vista sua possível aplicação com diversos tipos de fotossensibilizadores ou até mesmo em combinação com drogas tradicionais, além da utilização de diversas fontes de luz com comprimentos de onda diferentes para o tratamento de infecções em epitélio e mucosas

**Palavras-chave:** Terapia Fotodinâmica. *Pseudomonas aeruginosa*. Pé-diabético. Xantenos.

## 1 INTRODUÇÃO

O rápido surgimento de bactérias resistentes está ocorrendo em todo o mundo, colocando em risco a eficácia dos antibióticos, que transformaram a medicina e salvaram milhões de vidas. A crise de resistência aos antibióticos foi atribuída ao uso excessivo e indevido desses medicamentos, bem como à falta de desenvolvimento de novos pela indústria farmacêutica devido aos incentivos econômicos reduzidos e requisitos regulamentares desafiadores (GOULD; BAL, 2013; WRIGHT, 2014). Dentro da definição estabelecida para o uso incorreto encontra-se a prescrição indevidas e/ou incorretas, as quais expõem os pacientes a possíveis complicações da antibiótico terapia. As concentrações subinibitórias e subterapêuticas de antibióticos podem promover o desenvolvimento de resistência aos antibióticos, apoiando alterações genéticas (VISWANATHAN, 2014). Foi demonstrado que baixos níveis de antibióticos contribuem para a diversificação de cepas em organismos como *Pseudomonas aeruginosa*, enquanto que as concentrações subinibitórias de piperacilina e/ou tazobactam mostraram induzir amplas alterações proteômicas em *Bacteroides fragilis* (READ, WOODS, 2014; VISWANATHAN, 2014).

A *Pseudomonas aeruginosa* é uma causa comum de infecções associadas a cuidados de saúde, incluindo pneumonia e infecções da corrente sanguínea (sepsis bacteriana), do trato urinário e do sítio cirúrgico. Mais de 6.000 (13%) das 51.000 infecções por *P. aeruginosa*

associadas a cuidados de saúde que ocorrem nos EUA a cada ano são de cepas multirresistentes (MDR). Aproximadamente 400 mortes por ano são atribuídas a essas infecções. Algumas destas cepas são resistentes a quase todos os antibióticos, incluindo aminoglicosídeos, cefalosporinas, fluoroquinolonas e carbapenêmicos (WRIGHT, 2014). A Terapia Fotodinâmica (PDT, do inglês *Photodynamic Therapy*) é uma técnica que utiliza uma fonte de luz de baixa frequência e um corante, também denominado agente fotossensibilizante (FS), para a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), entre as quais se destaca o oxigênio singlete ( $^1O_2$ ). O  $^1O_2$  é altamente eletrofílico e pode oxidar diretamente ligações duplas em moléculas biológicas e macromoléculas, desempenhando assim um papel importante na citotoxicidade por causar dano e morte celular (HAMBLIN, HASAN, 2004).

A PDT tem se mostrado uma terapia antibacteriana alternativa. Sendo efetiva contra vírus, fungos e bactérias, pode ser utilizada em infecções locais e de pouca profundidade com microbiota conhecida. Diferentemente da PDT utilizada no tratamento do câncer, a PDT pode ser feita por aplicação local do FS na área infectada por aplicação tópica, instilação, injeção intersticial ou aerossol (HAMBLIN; HASAN; 2004).

Os FS xantenos apresentam uma característica importante de não se ligam à membrana celular e localizam-se no citoplasma. Alguns exemplos de xantenos são Rosa de Bengala, Eosina Y, Fluoresceína e Eritrosina B. Rosa de Bengala tem sido usado em oftalmologia como um corante para diagnóstico de várias doenças externas ao olho. Como um FS, ele pode matar vírus, bactérias e protozoários, além de induzir efeitos fotodinâmicos *in vitro* em eritrócitos, cardiomiócitos e células epiteliais do pigmento da retina (WOOD, 2006).

O presente estudo tem como objetivo investigar o potencial fotodinâmico da combinação de fotossensibilizadores xantenos irradiados por um fotopolimerizador de alta potência sobre suspensão planctônica e biofilmes de *Pseudomonas aeruginosa*.

## 2 MÉTODOS

### 2.1 Bactéria Referência

A cepa padrão de *Pseudomonas aeruginosa* (American Type Culture Collection ATCC 27853) que foi utilizada neste estudo, um tipo de cepa referência para estudo e desenvolvimento de pesquisa. O microrganismo foi reativado em meio de cultura BHI (*Brain Heart Infusion*) Merck, Damstadt, Germany) numa concentração final de glicose (ISOFAR, Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil) a 1% em atmosfera de microaerofilia a 37°C por

18-24 horas. Após o crescimento, a suspensão foi centrifugada (Fanem, São Paulo, Brasil) a 3000 RPM por 5 minutos. Após retirado da centrifuga e observada formação do *pellet* a suspensão foi lavada 2 vezes com solução salina de tampão fosfato (PBS) estéril para descarte do sobrenadante (Laborclin, Pinhais, Paraná, Brasil). Em seguida, o material resultante teve sua turbidez ajustada com auxílio do espectrofotômetro até atingir absorvância similar a uma suspensão para solução estoque de  $2 \times 10^6$  UFC/ml no comprimento de onda similar a 540 nm.

## 2.2 Fotossensibilizadores (FS)

Os extratos de *Punica granatum* e *Terminalia cattapa* em concentrações de 100 mg/ml e os corantes Eritrosina na concentração de 2,1µM e Rosa de Bengala 2,1µM (Sigma Aldrich, St Louis, MI, EUA), foram dissolvidos em 100mL de PBS (Laborclin, Pinhais, Paraná, Brasil) e em seguida foi realizado um teste de diluição para identificar as concentrações que teriam atividade contra a *Pseudomonas aeruginosa*.

## 2.3 Fonte de Luz

A fonte de luz (L) utilizada foi um fotopolimerizador a base de LED (3M ESPE, Sumaré, São Paulo, Brasil) de alta potência de comprimento de onda de 440-480 nm, densidade de energia de 96 J/cm<sup>2</sup>, densidade de potência (radiância) de 1200 mW/cm<sup>2</sup>, potência de 600 mW de forma pulsada por 40 segundos. A distância de irradiação estabelecida de 5 milímetros foi alcançada com auxílio do paquímetro (Digimess, São Paulo, Brasil) para que as amostras não sofressem alteração de temperatura e, como consequência, mortalidade por aquecimento.

## 2.4 Aplicação da Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana

As bactérias foram reativadas em meio BHI ágar 24 horas antes do processo de padronização. Após crescidas, cerca de 5 colônias foram tocadas com auxílio de uma alça estéril e inoculadas em um tubo com 5 ml de salina previamente esterilizada.

O tubo contendo o novo inóculo foi agitado no vórtex por 15 segundos e posteriormente 1 ml deste foi colocado dentro de uma cubeta e analisado no espectrofotômetro ,em um comprimento de onda de 625 nm, um inóculo com densidade óptica 0,08 a 0,1 (0,5 McFarland) correspondente a 1 a  $2 \times 10^8$  Unidades formadoras de colônia (UFC)

Os corantes utilizados foram o Rosa de Bengala 2,1 uM e Eritrosina B 2,1 uM diluídos em PBS em 10 ml, e homogeneizados por 10 segundos dentro de um falcon de 14 ml protegidos da luz. Os extratos *Punica granatum* e *Terminalia cattapa* estavam a 100 mg/ml.

Foram realizadas nas seguintes combinações, que foram divididas em grupos como mostra a Tabela 1:

**Tabela 1** - Divisão dos grupos de tratamento.

	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7
<i>Combinações</i>	RB/TC	EB/TC	RB/EB/TC	RB	PG	RB/PG	Controle
<i>Volume de cada comrante (uL)</i>	50	50	50	100	100	50	-
<i>Volume do Inóculo (uL)</i>	100	100	50	100	100	100	100
<i>Com luz/ sem</i>	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-

**Fonte:** Autores,2020.

*Lengenda:* RB: Rosa de Bengala; TC: Terminalia cattapa; PG: Punica granatum ; +: Com luz ; -: Sem luz

Em tampas de microtubos, foram pipetadas as combinações; um pedaço de papel alumínio foi colocado por um minuto acima dessas soluções onde foi ocorrendo um processo de pré-irradiação, então eram irradiadas por 40 segundos (96J/cm<sup>2</sup>) no modo de luz contínua pela fonte de luz, o qual denominava-se controle positivo, e um o controle negativo, no qual não ocorria radiação.

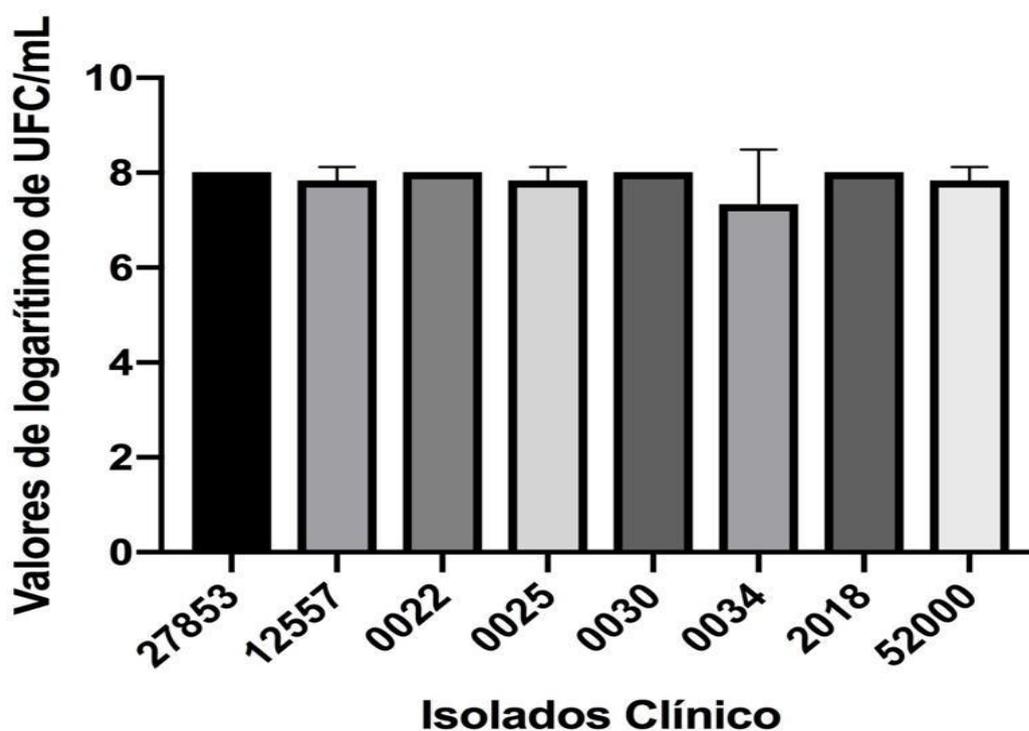
Para a diluição seriada, foram colocados 1000 ul de PBS dentro de 4 microtubos e 100 ul das combinações separadamente, no primeiro (1-2x10<sup>8</sup>) e retirados 100 ul em cada uma das diluições seguintes.

Após as diluições serem feitas, ocorria o plaqueamento de cada uma das diluições, em meio BHI ágar ou Ágar sangue, colocava-se 3 gotas de 0,5 ul. As placas foram incubadas por 24 horas a 37° C e lidas no dia seguinte, onde se realizava a contagem das colônias caso houvesse crescimento.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com o estudo realizado em três ocasiões distintas, foi realizado inicialmente um teste para verificar se a fonte de luz poderia ser um fator que interferiria no crescimento microbiano. Dessa forma, o grupo controle foi composto pelos diferentes isolados clínicos, submetidos ao protocolo de irradiação com luz LED. De acordo com a Figura 1, podemos observar que a irradiação realizada não apresentou efeito antimicrobiano em todas as situações testadas.

Figura 1 - Tratamento com Luz



Fonte: Autores, 2020.

Na tabela 2, os valores médios de todos os grupos testados com a presença ou ausência de luz estão expressos. O grupo controle apresentou os maiores valores de logaritmo de UFC/mL sendo estatisticamente diferente dos demais grupos. Dessa forma, podemos observar que somente a luz não funciona como tratamento, no entanto a associação da luz com os outros fatores (extratos/corantes) apresenta resultados estatisticamente significantes. Como por exemplo no grupo G4, onde foi feita a combinação do extrato de T. catappa e o corante Rosa de Bengala, foi obtido um efeito de morte onde o próprio corante e o extrato na ausência de luz apresentaram efeito antimicrobiano, no entanto quando na presença de luz, houve uma redução de mais de 3 Log, sendo essa redução considerada clinicamente significativa. O

achado confirmam com os estudos de Tessaroli (2010), a ação da luz associada a corantes tem a capacidade de diminuir ou eliminar completamente microrganismos. Assim, a TFD utilizando o LED mostra-se uma alternativa viável, devido às facilidades que essa fonte de luz oferece quando comparada com a luz laser, além do uso *in vitro* mostrando-se eficaz contra colônias bacterianas e fúngicas (PELOI et al., 2008; DOVIGO et al., 2009; COSTA et al., 2011; DOVIGO et. al., 2011; AMORIM et al., 2012; ROLIM et al., 2012; ANDRADE et al., 2013) sem causar danos aos fibroblastos e às células humanas (SOARES et al., 2009; REZUSTA et. al., 2012;). Além disso, os diversos grupos também puderam ser observados de acordo com as medianas apresentadas por cada um deles, como demonstrado na Tabela 2.

**Tabela 2** - Valores médios de UFC/mL de todos os grupos testados com a presença ou ausência de luz.

	G1		G2		G3		G4		G5		G6		CONTROLE
	RB		PG		RB/PG		RB/TC		EB/TC		RB/EB/TC		
	TFD-	TFD+	TFD-	TFD+	TFD-	TFD+	TFD-	TFD+	TFD-	TFD+	TFD-	TFD+	
27853	7.643	0.000	7.748	7.778	7.079	7.580	8.000	8.000	7.580	7.329	8.000	8.000	8.000
12557	7.938	7.580	7.710	7.743	7.732	7.663	0.000	0.000	7.630	7.743	0.000	0.000	8.000
0.022	7.255	0.000	7.768	0.000	7.602	0.000	6.426	0.000	8.000	7.447	7.166	0.000	8.000
0.025	7.531	7.748	7.841	7.820	7.716	8.041	6.477	0.000	7.271	7.602	7.146	0.000	8.000
0.030	7.368	7.523	7.738	7.778	7.079	7.380	6.716	6.125	7.738	7.907	7.079	7.380	8.000
0.034	7.301	7.301	8.301	7.732	7.255	6.669	8.000	7.815	7.811	7.732	7.255	6.669	8.000
2018	8.301	0.000	8.301	7.788	7.727	7.531	6.705	8.000	7.616	7.580	8.000	0.000	8.000
52000	7.580	7.623	8.301	0.000	7.881	7.681	8.000	0.000	7.693	7.656	8.000	0.000	8.000
MEDIANA	7,57(7,53) <sup>ab</sup>	4,11(7,44) <sup>c</sup>	7,84(7,82) <sup>ab</sup>	5,82(7,73) <sup>ab</sup>	7,50(7,63) <sup>ab</sup>	6,56(7,50) <sup>ab</sup>	6,78(7,70) <sup>ab</sup>	3,25(0,00) <sup>cd</sup>	7,66(7,64) <sup>ab</sup>	7,62(7,61) <sup>ab</sup>	6,57(7,25) <sup>ab</sup>	2,75(0,00) <sup>f</sup>	8,00(8,00) <sup>A</sup>

Fonte: Autores, 2020.

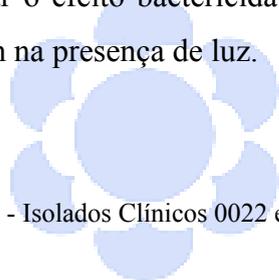
O grupo controle foi utilizado como base no presente estudo, em semelhança aos valores desse grupo, o G2, não apresentou valor estatístico significativo, levando em consideração aos outros tratamentos da mesma forma o grupo 3, onde todos possuem *Punica granatum*. Estudos com essa planta revelam uma atividade antimicrobiana mais relevante em bactérias Gram-positivas, como relatado por argenta e colaboradores. (2002) sobre o extrato da casca de *P. granatum* inibindo bactérias como *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus casei*

Já a comparação entre os grupos 4 e 6 é possível observar que o tratamento efetivamente teve sucesso comparado aos outros tratamentos realizados. G4 apresenta uma combinação RB+TC com mediana de 3,25 UFC/ml e G6 apresenta combinação RB+EB+TC

com mediana de 2,75 UFC/ml, ambas quando TFD +, sendo os dois grupos com as maiores reduções de Log, logo, maior efeito antimicrobiano e estatisticamente significativo em relação ao grupo controle. Ademais, em G6, cinco das sete amostras (12557, 0022, 0025, 2018 e 52000) apresentaram inativação completa da população bacteriana quando TFD + e em G4, quatro das sete amostras tiveram o mesmo comportamento (12557, 0022, 0025 e 52000).

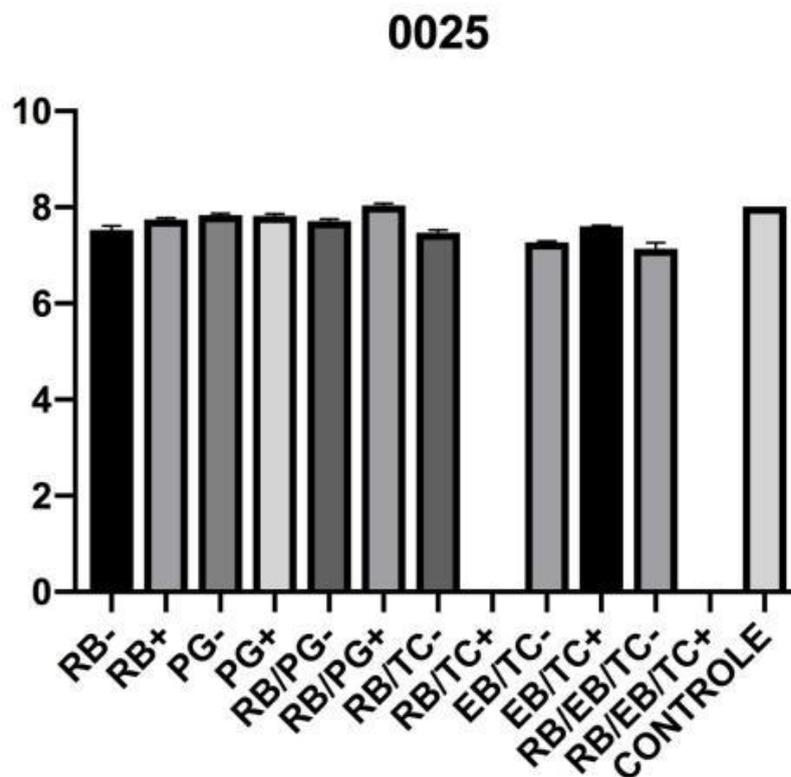
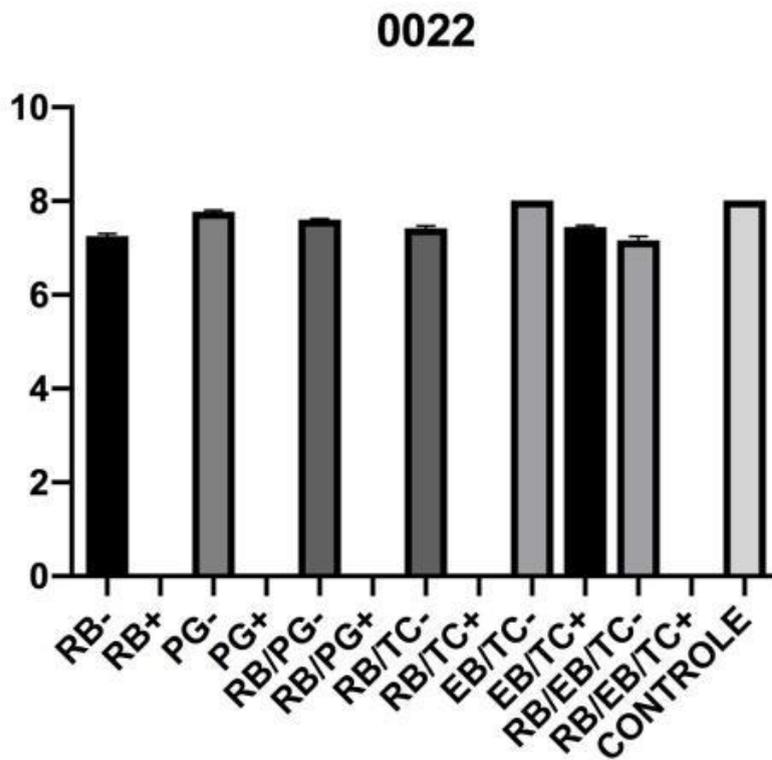
Com relação a análise comparativa entre 3 isolados clínicos e seu perfil nos diversos tratamentos realizados, foi possível observar que a combinação RB+ não apresentou crescimento em relação ao isolado 0022 se comparado a RB- do mesmo, na qual o crescimento bacteriano foi bastante evidente na ausência de luz, sendo o mesmo padrão mantido em relação a RB+TC e na combinação RB+EB+TC deste isolado, evidenciando assim o sucesso nas diversas terapias aplicadas na presença da luz LED atuando como potencializadora do efeito bactericida (Figura 2).

A Figura 2 também relata outros dois isolados clínicos, a exemplo da amostra 0025 na qual o grau de resistência apresentou-se maior, se comparada a 0022, porém é importante salientar o efeito bactericida proveniente do uso das combinações RB+ TC e RB+ EB+ TC também na presença de luz.



IMACULADA  
FACULDADES MARIA IMACULADA

**Figura 2** - Isolados Clínicos 0022 e 0025.



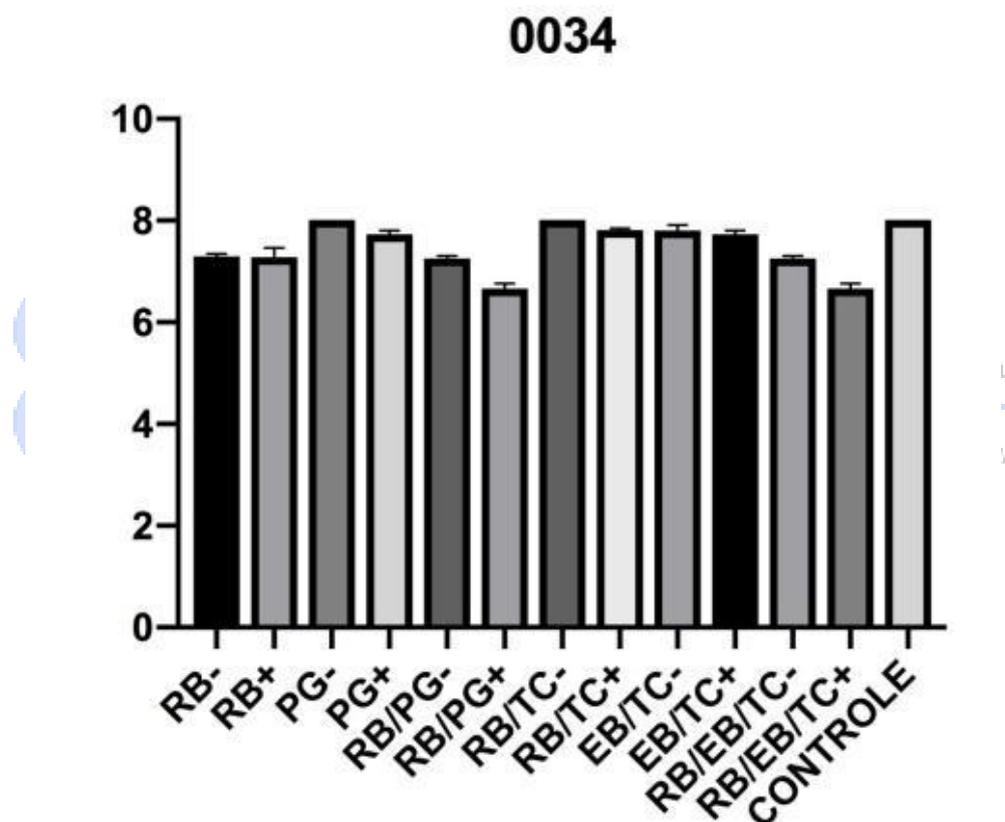
DA  
ACULADA

Fonte: Autores,2020.

Em contraste com os outros dois isolados citados, a amostra 0034 (Figura 3) não apresentou um sucesso muito expressivo das combinações de corantes e extratos com ou sem

luz, diminuindo apenas de forma sutil o crescimento bacteriano quando em uso do fotossensibilizador. Tal fato é consolidado ao analisar os estudos de Lacerda et al. (2005) e Silveira (2006), afirmando que a resistência bacteriana a antimicrobianos e agentes quimioterápicos traz à tona limitações terapêuticas que possivelmente estão associadas a escolha da droga utilizada no tratamento de pacientes com pé diabético, especialmente pelo uso empírico com drogas de largo espectro antes dos resultados da cultura estarem disponíveis, levando assim a resistência bacteriana.

Figura 3 - Isolado Clínico 0034.



Fonte: Autores, 2020

## 4 CONCLUSÃO

Com base nos resultados finais obtidos é possível inferir que a utilização do corante xanteno Rosa de Bengala, bem como da Eritrosina B, juntamente com os extratos das plantas *Punica granatum* e *Terminalia cattapa* foram capazes de diminuir o crescimento de isolados de *Pseudomonas aeruginosa*, e em alguns casos até mesmo com potencial bactericida, mostrando maior atividade de ambos quando houve a presença da Terapia fotodinâmica, no entanto o fotossensibilizador mais efetivo foi rosa bengala, com maior capacidade bactericida, como apresentado em G4 e G6.

Ainda há necessidade de estudos adicionais para verificar a aplicação da terapia fotodinâmica, bem como as combinações de fotossensibilizadores neste apresentado, em relação a segurança de sua aplicação em lesões causadas por *P. aeruginosa* em contato direto com o paciente, bem qual sua capacidade e extensão de penetração na derme.

A fototerapia dinâmica apresenta-se como um potencial adjuvante à antibioticoterapia para maximizar a desinfecção de lesões diabéticas infectadas por *P. aeruginosa*.



IMACULADA  
FACULDADES MARIA IMACULADA

## REFERÊNCIAS.

AMORIM, J.C.F.; ALVES, O.A.; SOUSA, G.R.; PIANCASTELLI, A.C.C.; SOARES, B.M.; FERREIRA, M.V.L.; SILVEIRA, L.B.; PINOTTI, M. **Phototoxic action of light emitting diode in the in vitro viability of trichophyton rubrum**. Anais Brasileiros de Dermatologia, v.87, n.2, p.250-255, 2012.

ANDRADE, M.C.; RIBEIRO, A.P.D.; DOVIGO, L.N.; BRUNETTI, I.G.; GIAMPAOLO, E.T.; BAGNATO, V.S.; PAVARINA, A.C. **Effect os different préirradiation times on curcumin-mediated photodynamic therapy against planktonic cultures and biofilms of candida spp**. Archives of Oral Biology, v.1, n.58, p.200-210, 2013.

ARGENTA, J. A. et al. **Efeito do extrato de romã (Punica granatum) sobre bactérias cariogênicas: estudo in vitro e in vivo**. Arquivos em Odontologia, v. 48, n. 4, p. 218-226, 2012.

BEOVIC, B. **The issue of antimicrobial resistance in human medicine**. International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v. 112, n. 3, p. 280-287. 2006.

BRASILEIRO, J. L. et al. **Pé diabético: aspectos clínicos**. Jornal vascular brasileiro, v. 4, n. 1, 2005.

Centers for Disease Control and Prevention, Office of Infectious Disease. Antibiotic resistance threats in the United States, 2013. April 2013. Available at: <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013>. Accessed 18 de agosto de 2020.

COSTA, A.C.B.P. et al. **Susceptibility of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* to erythrosine- and LED-mediated photodynamic therapy**. Archives of Oral Biology, v. 56, n.1, p.1299-1305, 2011.

DA COSTA, Anderson Luiz Pena; SILVA JUNIOR, Antonio Carlos Souza. **Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura**. Estação Científica (UNIFAP), [S.l.], v. 7, n. 2, p. 45-57, ago. 2017. ISSN 2179-1902. Disponível em: <<https://periodicos.unifap.br/index.php/estacao/article/view/2555>>. Acesso em: 21 ago. 2020. doi:<http://dx.doi.org/10.18468/estcien.2017v7n2.p45-57>.

DAI, Tianhong;; HUANG, Ying-Ying;; HAMBLIN, Michael R. **Photodynamic therapy for localized infections--state of the art**. Photodiagnosis Photodyn Ther, v. 6, n. 3-4, p. 170-188, 2009.. 2009;6(3-4):170-188. doi:10.1016/j.pdpdt.2009.10.008

DENIS, T. G. St. et al. **All you need is light: Antimicrobial photoinactivation as an evolving and emerging discovery strategy against infectious disease**. Landes Bioscience, Boston, p.509-520, nov. 2011.

GOULD, Ian M; BAL, Abhijit M. **New antibiotic agents in the pipeline and how they can help overcome microbial resistance**. Virulence, [S. l.], v. 4, n. 2, p. 185-191, 15 fev. 2013.GOULD, IM; BAL, AM. **New antibiotic agents in the pipeline and how they can overcome microbial resistance**. Virulence 2013;4(2):185-191.

HAMBLIN, Michael R;; HASAN, Tayyaba. **Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease?**. Photochem Photobiol Sci. v. 3, n. 5, p. 436-450. 2004. 2004;3(5):436-450. doi:10.1039/b311900a

ISHIYAMA, K;; NAKAMURA, K;; KANNO, T;; NIWANO, Y. **Bactericidal Action of Photodynamic Antimicrobial Chemotherapy (PACT) with Photosensitizers Used as Plaque-Disclosing Agents against Experimental Biofilm**. Biocontrol Sci, v. 21, n.3, p. 187-191, 2016.. 2016;21(3):187-191. doi:10.4265/bio.21.187

MAISCH, T;; BOSL, C;; SZEIMIES, RM;; LEHN, N;; ABELS, C. **Photodynamic effects of novel XF porphyrin derivatives on prokaryotic and eukaryotic cells**. Antimicrob Agents Chemother, v. 49, n. 1, p. 1542-1552, 2005.. 2005;49(4):1542-1552. doi:10.1128/AAC.49.4.1542-1552.2005

NAGATA, Juliana Yuri;; HIOKA, Noboru;; KIMURA, Elza, et al. **Antibacterial photodynamic therapy for dental caries: evaluation of the photosensitizers used and light source properties**. Photodiagnosis Photodyn Ther, v. 9, n. 2, p. 122-131, 2012.. 2012;9(2):122-131. doi:10.1016/j.pdpdt.2011.11.006

PANG, Zheng; RAUDONIS, Renee; GLICK, Bernard .R; LIN, Tong-Jun; CHENG, Zhenyu. **Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies**. Biotechnology Advances, v.37, n.1, p. 177-192,. 2018. Doi: 10.1016/j.biotechadv.2018.11.013

PELOI, L.S.; SOARES, R.R.S.; BIONDO, C.E.G.; SOUZA, V.R.; HIOKA, N.; KIMURA, E. **Photodynamic effect of light-emitting diode light on cell growth inhibition induced by methylene blue.** Journal of Biosciences, v.33, n.2, p.231- 237, 2008.

PERUSSI, Janice Rodrigues. **Inativação fotodinâmica de microrganismos.** Quím. Nova, São Paulo. , v. 30, n. 4, p. 988-994, Aug. 2007 . Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422007000400039&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000400039&lng=en&nrm=iso)>. Access on 21 Aug. 2020. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000400039>.

READ [Andrew FAF](#), WOODS Robert J.RJ. **Antibiotic resistance management.** Evol Med Public Health, v. 2014, n. 1, p. 147. 2014. 2014;2014(1):147

REZUSTA, A. et al. **In vitro fungicidal photodynamic effect of hypericin on Candida species.** Photochemistry and photobiology, v. 88, n. 3, p. 613-619, 2012.

ROLIM, J.P.M.L. et. al. **The antimicrobial activity of photodynamic therapy against Streptococcus mutans using different photosensitizers.** Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, v.1, n.106, p.40-46, 2012

SOARES, B.M.; SILVA, D.L.; SOUSA, G.R.; AMORIM, J.C.F.; RESENDE, M.A.; PINOTTI, M.; CISALPINO, P.S. **In vitro photodynamic inactivation of Candida spp. Growth and adhesion to buccal epithelial cells.** Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, v.1, n.94, p.65-70, 2009.

SOUKOS NS, GOODSON JM. **Photodynamic therapy in the control of oral biofilms.** Periodontol 2000, v. 55, n. 1, p. 143-166, 2011.. 2011;55(1):143-166. doi:10.1111/j.1600-0757.2010.00346.x

TESSAROLI, V. **Ação Da Terapia Fotodinâmica Sobre Biofilme Dentário Humano,** Universidade de São Paulo Faculdade de Odontologia de Bauru, p 14, 2010.

VISWANATHAN, VK. **Off-label abuse of antibiotics by bacteria.** Gut Microbes. V. 5, n. 1, p. 3-4, 2014. 2014;5(1):3-4.

WOOD S, METCALF D, DEVINE D, ROBINSON C. **Erythrosine is a potential photosensitizer for the photodynamic therapy of oral plaque biofilms.** J Antimicrob Chemother, v. 57, n. 4, p. 680-684, 2006. 1Wood, S.; Metcalf, D.; Devine, D.; Robinson, C.; *J. Antimicrob. Chemother.* **2006**, 57, 680.

WRIGHT, Gerard DG. **Something new: revisiting natural products in antibiotic drug discovery.** Can J Microbiol, v.60, n.3, p. 147-154. 2014. 2014;60(3):147-154.