

POTENCIAL FOTOSENSIBILIZANTE DE EXTRATOS DE PLANTAS DO
AGRESTE NA TÉCNICA DE TERAPIA FOTODINÂMICA

Potencial fotossensibilizante de plantas na PDT

Andrezza Mayara Venâncio Cadengue

Aluna de graduação em Odontologia do Centro Universitário Tabosa de Almeida – ASCES/UNITA

Bárbara de Oliveira Siqueira

Aluna de graduação em Odontologia do Centro Universitário Tabosa de Almeida – ASCES/UNITA

Vanda Sanderana Macêdo Carneiro

Professora Assistente I do curso de Odontologia do Centro Universitário Tabosa de Almeida – ASCES/UNITA

Patrícia Lins Azevedo do Nascimento

Professora Assistente III do curso de Odontologia do Centro Universitário Tabosa de Almeida – ASCES/UNITA

Autor correspondente:

Patrícia Lins Azevedo do Nascimento

E-mail: patricianascimento@asc.es.edu.br

Telefone: +55 87 9962828909

Resumo

Objetivo: Avaliar *in vitro* a ação dos extratos de *Myracrodruon urundeuva*, *Stryphnodendron adstringens* e *Sideroxylon obtusifolium* como fotossensibilizantes da terapia fotodinâmica (PDT). **Dados:** A perspectiva de compostos fotossensíveis extraídos de plantas, reforçada pela aplicação de laser de diodo, tem sido alvo de intensa investigação científica, constituindo uma importante fonte de novos produtos biologicamente ativos. **Métodos:** A atividade antimicrobiana frente à cepa de *Staphylococcus aureus* foi avaliada a partir de um planejamento fatorial 2^3 , contendo três variáveis independentes: tempo de pré-irradiação, concentração do fotossensibilizante e tempo de irradiação, em dois níveis experimentais e quatro pontos centrais, totalizando 12 ensaios; a variável dependente foi a atividade antimicrobiana. A fonte de luz utilizada foi o laser vermelho InGaAlP em um comprimento de onda de 660 nm e fluência de 9 J/cm², potência de 100mW. A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada em placas de 96 poços e após a aplicação do laser vermelho, o conteúdo dos poços foi semeado em placas de Petri contendo Agar Müeller Hinton e as placas incubadas em estufa microbiológica a 37 °C por 24 horas. Decorrido esse período, houve observação do crescimento de unidades formadoras de colônias. **Resultados:** Houve potencial de inibição bacteriana quando o tempo de pré-irradiação foi de 5 minutos, concentração de 100 µg/mL e tempo de irradiação de 60 segundos utilizando os extratos *Myracrodruon urundeuva*, *Stryphnodendron adstringens*, exceto quando foi submetido o extrato de *Sideroxylon obtusifolium* como fotossensibilizante. **Conclusão:** Dois dos extratos de plantas testados apresentaram atividade como fotossensibilizante dentro das condições avaliadas.

Palavras-chaves: Terapia fotodinâmica, extratos vegetais, agentes fotossensibilizantes.

Abstract

Objective: To evaluate *in vitro* the extracts of *Myracrodruon urundeuva*, *Stryphnodendron adstringens* and *Sideroxylon obtusifolium* as photosensitizers of photodynamic therapy (PDT). **Data:** The perspective of photosensitive compounds extracted from plants, reinforced by the application of diode laser, has been the subject of intense scientific investigation, constituting an important source of new biologically active products. **Methods:** The antimicrobial activity against the *Staphylococcus aureus* strain was evaluated from a factorial design 2^3 , containing three independent variables: pre-irradiation time, photosensitizing concentration and irradiation time, at two experimental levels and four central points, totalizing 12 trials; the dependent variable was antimicrobial activity. The light source used was the red InGaAlP laser at a wavelength of 660 nm and fluency of 9 J / cm², power of 100mW. The evaluation of the antimicrobial activity was performed in 96-well plates and after application of the red laser, the contents of the wells were seeded in Petri dishes containing Müller Hinton Agar and the plates incubated in a microbiological oven at 37 ° C for 24 hours. After this period, there was observation of the growth of colony forming units. **Results:** There was a potential for bacterial inhibition when the pre-irradiation time was 5 minutes, concentration of 100 µg/mL and irradiation time of 60 seconds using the extracts *Myracrodruon urundeuva*, *Stryphnodendron adstringens*, except when the extract of *Sideroxylon obtusifolium* as a photosensitizer. **Conclusion:** Two of the plant extracts tested showed activity as a photosensitizer within the conditions evaluated.

Keywords: Photodynamic therapy, plant extracts, photosensitizing agents.

Introdução

A terapia fotodinâmica (PDT) surgiu como uma opção terapêutica para o tratamento de doenças infecciosas. Esta terapia consiste na ativação de um corante fotossensibilizante com luz de um comprimento de onda apropriado¹. As demandas da PDT apresentam três elementos básicos: fotossensibilizadores responsáveis para a sensibilidade do tecido doente, fonte de luz causando mobilização de fotossensibilizadores e oxigênio dissolvido em tecido sendo tratados. Pode-se dizer que a PDT depende da interação entre esses componentes².

Na Odontologia, a grande maioria das patologias está relacionada a bactérias, fungos e vírus; e a PDT apresenta-se promissora com diversas aplicações e inúmeras vantagens, dentre elas o custo, a ausência de efeitos colaterais e a impossibilidade de resistência adquirida por bactérias. Utilizada, também, como coadjuvante de antibióticos na eliminação de bactérias periopatogênicas. Em termos gerais, representa uma alternativa antibacteriana, antifúngica e antiviral para os micro-organismos resistentes aos fármacos³.

Os fotossensibilizantes (FS) utilizados na PDT devem apresentar comportamento biológico estável, ter caráter minimamente tóxico para tecidos do organismo, ser fotoquimicamente ativos, seletividade pela célula-alvo, ser administrado de forma local, tópica, ou no interior da cavidade e, depois de um tempo ideal, ser irradiado com luz em dose e comprimento de onda adequados⁴.

Os conhecimentos tradicionais sobre plantas medicinais são importantes para diversos domínios científicos e tecnológicos, pois é um alvo de grande

potencial na medicina tradicional. *Stryphnodendron adstringens*, popularmente conhecida como Barbatimão, é uma planta medicinal cujas cascas de caule são utilizadas popularmente na forma de decocção ou infusão, para tratamento de leucorréia, diarreia e como agente anti-inflamatório⁵. *Sideroxylon obtusifolium* conhecida como “quixabeira”, é utilizada na medicina popular nordestina no Brasil⁶. Sua biodiversidade exuberante e inexplorada está ameaçada de extinção, principalmente pela extração de sua casca. É relatado ter antioxidante, hipoglicêmica e antimicrobiana como suas propriedades⁷.

A aroeira *Myracrodruon urundeuva* é conhecida como uma espécie arbórea muito disseminada. No Brasil é encontrada na Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio de Janeiro, Rio grande do Norte, Sergipe, São Paulo, Tocantis e Mato grosso do Sul. É considera a madeira mais resistente do Brasil e mais potente em pesquisas com fitoquímicos⁸.

Baseado nas atividades de extratos de plantas encontradas na literatura, este trabalho objetiva avaliar *in vitro* a ação dos extratos de *Myracrodruom urundeuva*, *Stryphnodendron adstringens* e *Sideroxylon obtusifolium* como fotossensibilizantes da terapia fotodinâmica (PDT).

Materiais e Métodos

Caracterização do estudo: Experimental laboratorial.

Micro-organismos

Utilizou-se uma cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). O micro-organismo foi reativado em meio de cultura com caldo TSB (caldo triptona de soja) e mantido em estufa microbiológica por 24 horas a 37 °C. Estoques dessa cultura foram mantidos congelados em criotubos a -20 °C para reutilização.

Plantas e formulação das soluções fotossensibilizantes

Foram utilizados extratos etanólicos de folhas de *Myracrodruon urundeuva*, da casca *Stryphnodendron adstringens* e casca de *Sideroxylon obtusifolium* fornecidos pela Profa. Dra. Rosângela Alves Falcão (UPE/Campus Garanhuns) para a elaboração das soluções fotossensibilizantes. Os extratos foram solubilizados em etanol PA e as diluições preparadas com água destilada esterilizada.

Terapia fotodinâmica antimicrobiana

A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada em placas de 96 poços, contendo 90 µL de caldo Müeller Hinton, 10 µL do inóculo padronizado em 1 a 2 x 10⁸ UFC/mL e 100 µL do extrato da planta testado como fotossensibilizante.

Avaliação dos fatores que atuam na ação antimicrobiana da terapia fotodinâmica através do planejamento fatorial 2³

Com a finalidade de detectar as condições mais favoráveis para a ação antimicrobiana na terapia fotodinâmica, foi empregado um planejamento fatorial 2³, contendo três variáveis independentes nomeadamente: tempo de pré-irradiação, concentração fotossensibilizante e tempo de irradiação, em dois níveis experimentais e quatro pontos centrais, totalizando 12 ensaios, a variável dependente será a atividade antimicrobiana (Tabela 1).

Os níveis experimentais do estudo foram distribuídos conforme a Tabela 2 apresentada com valores codificados.

Avaliação da terapia

Após a aplicação do laser vermelho, o conteúdo dos poços foi semeado em placas de Petri contendo Agar Müeller Hinton com auxílio de *swabs*

esterilizados e as placas foram incubadas em estufa microbiológica a 37 °C por 24 horas. Decorrido esse período, houve a observação de crescimento de unidades formadoras de colônias nas placas semeadas.

Fonte de luz

A fonte de luz foi utilizada o laser de diodo de InGaAlP, Flash Lase I (DMC Equipamentos do Brasil Ltda, São Carlos, SP- Brasil), no modo contínuo, 660 nm de comprimento de onda central, 100 mW de potência de saída, sistema de entrega através de fibra óptica com 0,028 cm² de área de secção transversal. A irradiação foi realizada com o laser em contato com a tampa da placa de acrílico. Os detalhes dos parâmetros utilizados para a irradiação de acordo com as variáveis, estão descritos na Tabela 3.

Resultados

Os ensaios foram realizados usando extratos etanólicos de *Myracrodruon urundeuva*, *Stryphnodendron adstringens* e *Sideroxylon obtusifolium* para a elaboração das soluções fotossensibilizantes e observou-se que as cepas de *Staphylococcus aureus* foram sensíveis a terapia fotodinâmica, exceto quando foi utilizado o extrato de *Sideroxylon obtusifolium* como fotossensibilizante. Entretanto, o maior potencial de inibição bacteriana foi obtido quando o tempo de pré- irradiação foi de 5 minutos, concentração de 100 µg/mL e tempo de irradiação de 60 segundos. O grupo controle formado pelos ensaios 9 a 12, apresentaram resultados semelhantes entre si conforme esperado e maior crescimento bacteriano em comparação aos demais ensaios, conforme observado na Tabela 4.

Discussão

Os três principais elementos da PDT são o fotossensibilizante, a luz visível e o oxigênio. Estes elementos, quando combinados, produzem espécies oxidantes potentes.⁹ Nos últimos anos, muitos estudos demonstraram que os fitoquímicos exercem a sua atividade antibacteriana através de diferentes mecanismos de ação, tais como danos na membrana bacteriana e supressão de fatores de virulência, incluindo inibição da atividade de enzimas e toxinas e formação de biofilmes bacterianos.¹⁰ Baseado nestas considerações, o presente estudo avaliou o potencial fotossensibilizante de três extratos de plantas na técnica da PDT, frente *Staphylococcus aureus*.

A avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos brutos etanólicos de plantas descritas no neste estudo corrobora com a tendência atual de se desenvolver e testar medicamentos produzidos a partir de plantas.^{11,12} Inclusive, o elevado percentual inibitório encontrado nos resultados deste estudo, está em concordância com a atividade antimicrobiana encontrada por outros autores.^{10,13,14}

Dessa forma, a utilização de plantas medicinais surge como uma alternativa promissora na terapia fotodinâmica, visto que sua ação antimicrobiana é potencializada mediante a aplicação do laser vermelho. Ou seja, a PDT age de forma notavelmente mais rápida contra micro-organismos do que contra antimicrobianos isolados.^{2,15}

Segundo Dai e colaboradores^{16a} a PDT proporciona vantagens significativas em relação às terapêuticas antimicrobianas existentes. O motivo pelo qual existe resistência bacteriana a drogas antimicrobianas convencionais

é seu único sítio e modo de ação. Assim, após determinada exposição, a maioria dos micro-organismos começa a desenvolver mecanismos de resistência para um único ponto de ataque. Entretanto os fotossensibilizadores agem via produção de oxigênio singleto ou espécies reativas de oxigênio, os quais não apresentam uma especificidade de ação celular. Devido a essa inespecificidade de ação, o micro-organismo não é capaz de desenvolver resistência.

A *Myracrodruon urundeuva*, um dos extratos utilizados no presente estudo, alcançou um potencial inibitório considerável, apesar do resultado obtido ser inferior a 50% de inibição. Apresentaram-se com a maior inibição bacteriana os ensaios submetidos ao tempo de pré-irradiação de 5 minutos, concentração de 100 µg/mL e tempo de Irradiação de 60 segundos. Sua reputação antimicrobiana aqui exposta está em concordância com outros estudos, que demonstraram que os extratos hidro-alcoólicos de casca de tronco de *Myracrodruon urundeuva* exercem atividade anti-inflamatória em vários modelos experimentais de inflamação. Também foram relatadas atividades antioxidantes, antibacteriana, antifúngicas e analgésicas.^{13,17}

Stryphnodendron adstringens destacou-se nesta pesquisa devido ao seu potencial inibitório apresentado ser superior aos demais. Ambas as concentrações, 100 µg/mL e 10 µg/mL, não apresentaram divergências de resultados entre si. Tiveram inibições análogas. Entretanto, o efeito inibitório com o tempo de pré-irradiação de 5 minutos e o tempo de irradiação de 60s segundos foi superior. Este resultado está em conformidade com pesquisas que demonstram várias de suas atividades, tais como anti-inflamatória, antisséptica e antibacteriana.^{14,18,19} De acordo com Souza et al.²⁰ o efeito

antimicrobiano do extrato *S. adstringens* pode ser atribuído ao alto teor de tanino, que é capaz para inibir a adesão bacteriana e enzimas.

Em contrapartida, o presente estudo constatou o potencial inativo do fotossensibilizante *Sideroxylon obtusifolium* frente à cepa de *S. Aureus*. Não foi observado divergências nos resultados, todos os ensaios submetidos ao mesmo, tiveram grande crescimento bacteriano. Apresentando concordância com Eller et al.²¹ que avaliou a atividade antimicrobiana interativa, *in vitro*, de alguns extratos. Dentre eles o da quixaba (*Sideroxylon obtusifolium*) frente à cepa de *S. Aureus*. Concluindo que o extrato acima citado não apresentou atividade antimicrobiana frente às cepas em estudo. Em estudo semelhante Costa et al.,²² avaliou alguns extratos de plantas e a *Sideroxylon obtusifolium* apresentou o menor potencial inibitório comparando com as demais. Apesar desses autores acima não terem submetido o estudo a PDT, o extrato *Sideroxylon obtusifolium* se mostra falho em perspectiva antibacteriana. Visto que o laser apenas potencializa a atividade antimicrobiana já existente do fotossensibilizante.

Em *S. obtusifolium*, todos os fitoquímicos pesquisados foram encontrados. Em cada 100 g do fruto, havia 58 mg de antocianinas, 56 mg de flavonóis e aproximadamente 47 µg / g de beta-caroteno.²³

A cepa em estudo, *Staphylococcus aureus*, é uma bactéria gram-positiva, e um dos patógenos mais frequentemente identificados em associação com infecções, particularmente adquirida em hospitais, dos quais numerosos subtipos são identificados como resistentes à metilina.²⁴ Frente a isso, novas perspectivas no desenvolvimento de terapias para controlar este patógeno são discutidas atualmente e apesar da crescente ocorrência de

resistência aos antibióticos relatos susceptíveis à fotoinativação são encontrados^{9,25}

Em estudo semelhante a este, Ferraz et al.²⁶ obteve redução microbiana eficaz de cerca de 98% de *Staphylococcus aureus* utilizando a quimioluminescência como fonte de luz e o tempo de iluminação variou de 60 a 240 minutos. Apesar do fotossensibilizante ser distinto deste estudo, pode-se enfatizar o tempo de iluminação utilizado. Conseguiu-se o mesmo sucesso da terapia, inibição do *S. aureus*, com tempos de irradiação bastante inferiores, variando de 20 a 60 segundos, submetendo o teste ao laser vermelho em um comprimento de onda de 660 nm e fluência de 9 J/cm², potência de 100mW. Dessa forma a utilização de laser como fonte de luz em PDT, ainda se torna a opção mais viável.

Bartolomeu et al.²⁷ com o objetivo de avaliar o efeito da PDT sobre os fatores de virulência de *S. aureus* e avaliar o potencial desenvolvimento de resistência dessa bactéria alcançou o resultado esperado. As bactérias sobreviventes não desenvolveram resistência e a PDT, contrariamente aos antibióticos tradicionais, inibiu a expressão de fatores de virulência.

Assim como Kossakowska et al.²⁸ teve como um dos objetivos investigar a virulência da cepa de *S. aureus* como também a resistência à meticilina. Os dados obtidos permitiram demonstrar a eliminação da resistência a fotoinativação de *S. aureus* e que ambas as cepas, altamente virulentas e pouco virulentas, poderiam ser facilmente erradicadas com o uso de PDT.

Conclusão

Dois dos extratos de plantas testados como fotossensibilizantes na técnica da terapia fotodinâmica, demonstraram ser ativos sob as condições

testadas. O uso desta terapia pode se tornar uma forte alternativa promissora aos antibióticos para controlar micro-organismos patogênicos. Novos ensaios com outros extratos de plantas, outras variáveis e testes de toxicidade deverão ser realizados para uma futura indicação destes extratos como fotossensibilizantes na técnica da PDT.

Agradecimentos

Ao Centro Universitário Tabosa de Almeida –ASCES/UNITA, à FACEPE e à Universidade de Pernambuco, *Campus Garanhuns*.

Declaração de Divulgação de Autor

Não existem interesses financeiros concorrentes.

REFERÊNCIAS

1. Miyabe M, Junqueira JC, Costa AC, Jorge AO, Ribeiro MS, Feist IS. Effect of photodynamic therapy on clinical isolates of *Staphylococcus spp.* Braz Oral Res 2011;25:230-4.
2. Oniszczyk A, Kulesza KAW, Oniszczyk T, Kasprzak K. The potential of photodynamic therapy (PDT) – Experimental investigations and clinical use. Biomed & Pharmacotherapy 2016;83:9122-929.
3. Mohammed AJ, Saliem SS. Photodynamic Therapy and Periodontology. J Bagh Cool Dentistry 2016;228: 69-72.
4. Hamblin MR, Hasan T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? Photochem Photobiol Sci 2004;3:436-50.

5. Lima JCS, Martins DTO, Souza PT. Experimental Evaluation of Stem Bark of *Stryphonodendron adstringens* (Mart.) Coville for Antiinflammatory Activity. Phytotherapy Research 2016;12:218-220.
6. Aquino PEA, Magalhães T R, Nicolau L AD, Leal LKAM, Aquino NC, Santos SM. The anti-inflammatory effects of N-methyl-(2S, 4R)-trans-4-hydroxy-L-proline from *Syderoxylon obtusifolium* are related to its inhibition of TNF-alpha and inflammatory enzymes. *Phymed* 2016; 24:14-23.
7. Pereira JV, Freires IA, Castilho AR, Cunha MG, Alves HS, Rosalen PL. Antifungal potencial of *Sideroxulon obtusifolium* and *Syzygium comuni* and their mode of action against *Cadida Albicans*, Pharmaceutical biology 2016;54:2312-2319.
8. Canuto DSO, Silva AM, Freitas MLM, Sebbenn AM, Moraes MLT. Genetic Variability in *Mycrodruon urundeuva* (alemão) Engl. Progeny Test. Scient Res Pub 2016; 7:1-10.
9. DENIS, TGS et al. Antimicrobial photoinactivation as an evolving and emerging discovery strategy against infectious disease. Virulence 2011; 2: 509-520.
10. Barbieri R, Coppo E, Marchese A, et al. Phytochemicals for human disease: An update on plant-derived compounds antibacterial activity. Microbiol Res 2016;196: 44–68.
11. Cartaxo SL, Souza MMA, Albuquerque UP. Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. J Ethnopharmacol 2010;131:326–342.
12. Dutra RC, Campos MM, Santos ARS, Calixto JB. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. Pharmacol Res 2016;11:24–29.

13. Botelho MA, Rao VS, Carvalho CBM. *Lippia sidoides* and *Myracrodruon urundeuva* gel prevents alveolar bone resorption in experimental periodontitis in rats. J Ethnopharmacol 2007; 113: 471–478.
14. Costa MA, Ishida K, Kaplum V, et al . Safety evaluation of proanthocyanidin polymer-rich fraction obtained from stem bark of *Stryphnodendron adstringens* (BARBATIMÃO) for use as a pharmacological agent. Reg Toxicol Pharmacol 2010; 58:330–335.
15. Saraiva ME, Ulisses AVRA, Ribeiro DA, et al. Plant species as a therapeutic resource in areas of the savanna in the state of Pernambuco, Northeast Brazil. Journal of Ethnopharmacology 2015; 171:141–153.
16. Dai T, Tegos GP, Zhiyentayev T, Mylonakis E, Hamblin MR. Photodynamic Therapy for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection in a Mouse Skin Abrasion Model. Lasers Surg Med 2010;42: 38.
17. Napoleão TH, Gomes FS , Lima TA, et al. Termiticidal activity of lectins from *Myracrodruon urundeuva* against *Nasutitermes corniger* and its mechanisms. International Biodeterioration & Biodegradation 2011; 65:52-59.
18. Albuquerque UP, Monteiro JM, Ramos MA, Amorim ELC. Medicinal and magic plants from a public market in northeastern Brazil. J Ethnopharmacol 2007;110: 76–91.
19. Agra MF, Silva KN, Basílio IJLD, Freitas PF, Filho JMB. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. Braz J Pharma 2008;18:472-508.
20. Souza NC, Gomes MN, Maciel RRG. Evaluation of the Antimicrobial Activity of *Stryphnodendron barbatiman* against *Citrobacter freundii*. Mat Sci Applic 2013; 4:780-785.

21. Eller SCWS, Feitosa YA, Arruda TA, Antunes RMP, Catão R MR. Avaliação antimicrobiana de extratos vegetais e possível interação farmacológica *in vitro*. Rev Ciênc Farm Básica Apl 2015; 36:131-136.
22. Costa EMMB, Barbosa AS, Arruda TA. Estudo *in vitro* da ação antimicrobiana de extratos de plantas contra *Enterococcus faecalis*. Bras Patol Med Lab 2010; 46:175-180.
23. Nascimento VT, Moura NP, Vasconcelos MAS, Maciel MIS, Albuquerque UP. Chemical characterization of native wild plants of dry seasonal forests of the semi-arid region of northeastern Brazil. Food Research International 2011; 44: 2112–2119.
24. Filho ALNF, Carneiro VSM, Souza EA, Santos RL, Catão MHCV, Medeiros ACD. In Vitro Evaluation of Antimicrobial Photodynamic Therapy Associated with Hydroalcoholic Extracts of *Schinopsis brasiliensis* Engl.: New Therapeutic Perspectives. Photomed Laser Surg 2015;33:240–245.
25. Ruela HS, Leal ICR, Almeida MRA, Santos KRN, Wessjohann LA, Kuster RM. Antibacterial and antioxidant activities and acute toxicity of *Bumelia sartorum*, a Brazilian medicinal plant. Braz J Pharma 2011;21:86-91
26. FERRAZ, R C, Fontana CR, Ribeiro AP, et al. Chemiluminescence as a PDT light source for microbial control. J Photochem Photobiol 2011;103:87-92.
27. Bartolomeu M , Rocha S, Cunha A, Neves MGPMS, Faustino MAF, Almeida A. Effect of Photodynamic Therapy on the Virulence Factors of *Staphylococcus aureus*. Front. Microbiol 2016;7:267.
28. Kossakowska M, Nakonieczna J, Kawiak A, Kurlenda J, Bielawski KP, Grinholc M. Discovering the mechanisms of strain-dependent response of *Staphylococcus aureus* to photoinactivation: Oxidative stress tolerance,

endogenous porphyrin level and strain's virulence. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy 2013;10:348-355.

TABELAS

Tabela 1. Matriz experimental do planejamento fatorial 2^3 , empregado no estudo da influência de diferentes fatores na ação antimicrobiana da terapia fotodinâmica.

Variáveis independentes	Níveis		
	-1	0	1
Tempo de pré-irradiação (minutos)	0,0	2,5	5,0
Concentração Fotossensibilizante (mg/mL)	0,1	0,055	0,01
Tempo de Irradiação (segundos)	20	40	60

Tabela 2. Valores codificados do planejamento fatorial 2^3 empregado no estudo da ação antimicrobiana da terapia fotodinâmica para cada planta testada.

Ensaio	Tempo de pré-irradiação (minutos)	Concentração Fotossensibilizante	Tempo de Irradiação (Segundos)
1	-	-	-
2	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	-
5	-	-	+
6	+	-	+
7	-	+	+
8	+	+	+
9	0	0	0
10	0	0	0
11	0	0	0
12	0	0	0

(-) = nível -1; (0) = nível 0; (+) = nível 1

Tabela 3. Parâmetros de irradiação conforme as variáveis.

Variáveis	-1	0	1
Parâmetros			
Irradiância	3,5 W/cm ²	3,5 W/cm ²	3,5 W/cm ²
Fluência	70 J/cm ²	140 J/cm ²	210 J/cm ²
Tempo da sessão	20 segundos	40 segundos	60 segundos
Frequência do tratamento	Única irradiação em cada poço	Única irradiação em cada poço	Única irradiação em cada poço
Dose cumulativa administrada	70 J/cm ²	140 J/cm ²	210 J/cm ²

Tabela 4. Comportamento dos ensaios com extratos de plantas utilizados como fotossensibilizantes na técnica da PDT frente *S. aureus*.

Ensaio	Extratos de plantas (fotossensibilizantes)		
	<i>Myracrodruon urundeuva</i>	<i>Stryphnodendron adstringens</i>	<i>Sideroxylon obtusifolium</i>
1	-	-	-
2	-	+	-
3	-	-	-
4	-	+	-
5	+	+	-
6	+	+	-
7	-	+	-
8	+	+	-
9	-	-	-
10	-	-	-
11	-	-	-
12	-	-	-

(+) houve inibição; (-) não houve inibição