



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO MULTIDISCIPLINAR EM SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MULTICÊNTRICO  
EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS – SBFIS



CAROLINE VIEIRA GONÇALVES

**ILUMINANDO NOVAS FRONTEIRAS: EXPLORANDO O  
POTENCIAL FOTOSSENSIBILIZADOR DE ESPÉCIES DE *Passiflora*  
NO CONTROLE DE INFECÇÕES POR *Staphylococcus aureus*  
RESISTENTE À METICILINA EM CAMUNDONGOS SENESCENTES**

Vitória da Conquista, Bahia

2025

**CAROLINE VIEIRA GONÇALVES**

**ILUMINANDO NOVAS FRONTEIRAS: EXPLORANDO O  
POTENCIAL FOTOSSENSIBILIZADOR DE ESPÉCIES DE *Passiflora*  
NO CONTROLE DE INFECÇÕES POR *Staphylococcus aureus*  
RESISTENTE À METICILINA EM CAMUNDONGOS SENESCENTES**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas/Sociedade Brasileira de Fisiologia, Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção de título de Doutora em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof.<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Robson Amaro Augusto da Silva  
Universidade Federal da Bahia - UFBA

Coorientador: Prof.<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Juliano Geraldo Amaral  
Universidade Federal da Bahia - UFBA

**Vitória da Conquista, Bahia**

**2025**

Biblioteca Universitária Campus Anísio Teixeira – SIBI/UFBA

G635

Gonçalves, Caroline Vieira.

Iluminando novas fronteiras: explorando o potencial fotossensibilizador de espécies de passiflora no controle de infecções por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina em camundongos senescentes/ Caroline Vieira Gonçalves. -- Vitória da Conquista, BA: UFBA, 2025.

220 f. ; il.

Orientador: Prof. Dr. Robson Amaro Augusto da Silva.

Coorientador: Prof. Dr. Juliano Geraldo Amaral.

Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas/Sociedade Brasileira de Fisiologia) - Universidade Federal da Bahia, Instituto Multidisciplinar em Saúde, 2025.

1. *Passiflora*. 2. *Staphylococcus aureus*. 3. Envelhecimento. 4. Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana. I. Universidade Federal da Bahia, Instituto Multidisciplinar em Saúde. II. Silva, Robson Amaro Augusto da. III. Amaral, Juliano Geraldo. IV. Título.

CDU: 582.681.41:579.86(043.2)

**CAROLINE VIEIRA GONÇALVES**

**“ILUMINANDO NOVAS FRONTEIRAS: EXPLORANDO O  
POTENCIAL FOTOSSENSIBILIZADOR DE ESPÉCIES DE *Passiflora*  
NO CONTROLE DE INFECÇÕES POR *Staphylococcus aureus*  
RESISTENTE À METICILINA EM CAMUDONGOS SENESCENTES”**

Esta dissertação foi julgada adequada à obtenção do grau de doutora em Ciências Fisiológicas e aprovada em sua forma final pelo Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal da Bahia.

Vitória da Conquista – BA, 15 de julho de 2025.

Documento assinado digitalmente  
 ROBSON AMARO AUGUSTO DA SILVA  
Data: 23/07/2025 17:02:21-0300  
Verifique em <https://validar.itd.gov.br>

---

Prof. Dr. Robson Amaro Augusto da Silva (Orientador)  
Universidade Federal da Bahia - UFBA/IMS

Documento assinado digitalmente  
 JULIANO GERALDO AMARAL  
Data: 04/08/2025 10:34:01-0300  
Verifique em <https://validar.itd.gov.br>

---

Prof. Dr. Juliano Geraldo Amaral (Coorientador)  
Universidade Federal da Bahia - UFBA/IMS

Documento assinado digitalmente  
 REGIANE YATSUDA  
Data: 05/08/2025 20:45:01-0300  
Verifique em <https://validar.itd.gov.br>

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Regiane Yatsuda (Examinadora Interna)  
Universidade Federal da Bahia - UFBA/IMS

Documento assinado digitalmente  
 GUILHERME BARRETO CAMPOS  
Data: 23/07/2025 17:08:12-0300  
Verifique em <https://validar.itd.gov.br>

---

Prof. Dr. Guilherme Barreto Campos (Examinador Interno)  
Universidade Federal da Bahia - UFBA/IMS

GABRIEL AZEVEDO DE   
BRITO  
DAMASCENO:05191298  
497

Assinado de forma digital por  
GABRIEL AZEVEDO DE BRITO  
DAMASCENO:05191298497  
Dados: 2025.08.05 14:49:50  
-03'00'

---

Prof. Dr. Gabriel Azevedo de Brito Damasceno (Examinador Externo)  
Universidade Federal da Bahia - UFBA/IMS

Documento assinado digitalmente  
 VINÍCIUS CUNHA GONZALEZ  
Data: 23/07/2025 18:27:09-0300  
Verifique em <https://validar.itd.gov.br>

---

Prof. Dr. Vinícius Cunha Gonzalez (Examinador Externo)  
Universidade Federal da Bahia - UFBA/IMS

Aos meus pais e  
aos animais utilizados nesta pesquisa.

## AGRADECIMENTOS

Permito-me uma licença científica (nada poética e convencional) para expressar meus sinceros agradecimentos. Afinal acredito que esta seja a parte mais importante de um trabalho e, por que não dizer, da vida.

Pois a gente não trilha um caminho sozinho. As gratas surpresas em forma de pessoas que surgem no percurso tornam cada passo menos cansativo, menos angustiante, mais bonito e, no final, fazem tudo valer a pena. Foram tantos os dias em que cheguei em casa cansada, triste, mas grata por ter recebido a ajuda de alguém.

Apesar de se ter dias em que a pesquisa parece um emaranhado intransponível. Em um desses momentos, voltando para casa aflita (depois de tudo dar errado), eis que, inesperadamente, toca Raul: "Tente outra vez, basta ser sincero e desejar profundo". E foi feito recado me mostrando que a pesquisa reside neste esforço contínuo de tentar outra vez, quantas vezes for preciso ou possível (prazos). Com esse desejo profundo que cheguei até aqui. Como diria Gilberto Gil, "o melhor lugar do mundo é aqui e agora". Sou extremamente grata por este agora.

Minha profunda e infinita gratidão, primeiramente, a Deus, por me conduzir e guiar a cada passo. Ele bem sabe as inúmeras vezes em que, mesmo em meio à aflição, me ofereceu acalento, reerguendo-me e dando forças para prosseguir. É impossível descrever as incontáveis vezes em que Ele me sustentou, mesmo quando eu questionava e reclamava o porquê das coisas (não à toa quis ser cientista).

Meu mais sincero agradecimento à minha mãe, e aqui, novamente, as palavras se mostram insuficientes. Obrigada por ser meu maior exemplo de compreensão, escuta e amizade, a personificação do amor enraizado no divino. Obrigada por ser minha rede de apoio incondicional e por conhecer, mais do que ninguém, as dores e os desafios da minha caminhada.

Ao meu pai (*in memoriam*), que desde quando eu era um toquinho de gente (ainda menor do que sou agora), ao ver-me riscar as paredes de casa com hidrocor para estudar, em vez de me repreender, incentivava-me a rabiscar ainda mais. Cá estou eu, Pai, riscando e desenhando meu próprio caminho.

À minha irmã Lorena, por me apoiar em cada etapa, por escutar meus anseios, por me aconselhar e por sempre acreditar em mim. Sua presença foi e é um porto-seguro em minha vida.

Aos meus avós. Em especial à minha avó Edésia (*in memoriam*), a pessoa mais carinhosa e amorosa que conheci, cujos cafunés ainda hoje preenchem meu coração nostálgico de alegria. Ao meu avô Anatahel (*in memoriam*), pelos cafezinhos da tarde e pela convivência diária.

À minha amiga-irmã Lara, pelos anos de amizade (parei de contar depois que o doutorado prejudicou minha memória) que se desdobram em apoio, suporte e partilhas de amor. E claro, de muita parceria (de uma vida, para toda vida).

Ao Vitor e toda a sua família. Obrigada por compartilhar o mesmo neurônio que eu, um compilado de divertidamente desparafusados e desajustados que só a gente entende. Obrigada por tornar meus dias mais leves e por me incentivar, seja qual for a loucura da vez. Por se fazer presente no meu dia a dia, mesmo com a distância.

Ao Tio Espedito, um grande amigo e uma das pessoas mais inteligentes que conheço. Um excelente professor de História e Filosofia. Muito obrigada por todo o apoio, por cada palavra que me abraçou a alma e por ter tido a honra de ser sua aluna.

Ao meu orientador, Robson. Sou extremamente grata pela oportunidade que me foi dada, ainda no início da minha graduação. Eu sentia que aquela porta se abria para um universo ainda desconhecido, mas repleto de mistério e beleza. E, realmente, assim foi. Obrigada pelos exatos dez anos. Foram muitas fases vividas. Com choro e retetê que só quem é professor e/ou pesquisador realmente entende. Mas também muitas alegrias, risadas sinceras e incontáveis aprendizados. Obrigada pela paciência (gigante), pela amizade construída ao longo desse período e por ser um exímio profissional.

Ao meu coorientador Juliano. Sua generosidade em me ajudar com as dúvidas mais simples e a excelente parceria foram cruciais para a realização deste trabalho. Muito obrigada por todo o suporte e por toda calma para lidar com os percalços.

Ao Professor Gabriel, que, literalmente, segurou minhas mãos e me conduziu tal como uma criança aprendendo a andar nesse mundo das emulsões. Minha gratidão é imensa, Professor.

Ao Laboratório 106. A todos que passaram pelo projeto e aos que atualmente fazem parte dele: aprendi e continuo aprendendo muito com cada um de vocês. Vocês são uma parte fundamental da minha formação. Agradeço, igualmente, aos amigos que conquistei nesse processo. A todos da pós-graduação, um agradecimento especial, principalmente a: Paulinho, Caio, Igor, Lício, Israel, Érico e Nathália.

Em particular, à Poly, que me ofereceu suporte e foi um ombro amigo em tantos obstáculos acadêmicos. Minha gratidão se estende também a todos os alunos de Iniciação Científica, especialmente a: Amandinha, Duda, Caio, Samara, Luana e Elisa. Para todos do projeto que viveram o fatídico dia do experimento que começou 7 horas da manhã e terminou 00 horas (parando só para surtar, e que deu errado só para constar).

Ao Laboratório 109. À Paulie, por ser mais doida que eu e topar qualquer experimento, por toda ajuda e companheirismo. Sua amizade foi um presente que a parceria 106-109 me trouxe. Às Peruas: Mica, Jay e Bela. À Catarina e à Clara, por toda ajuda e por cada dúvida sanada.

À comunidade acadêmica da UFBA, gosto sempre de dizer que vocês são os responsáveis por manter a universidade pulsante de vida e excelência: porteiros, técnicos e pessoal da limpeza. Um agradecimento especial à Mila, Will, Edna, Seu Paulo, Seu Carlos, Seu Gil, Lina, Janeide, Lucimara, Denisar, Robson e Flávio.

Aos Professores. A todos os professores que passaram pela minha vida: vocês são como uma centelha de luz, plantando conhecimento dentro de nossos corações.

A todos do Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas (PPGMCF), em especial aos colegas e professores. Em particular, sou grata à Professora Telma, por ter sido a pessoa que, ainda nos tempos da graduação, me apresentou e encantou com o universo da Fisiologia.

A todos os membros da banca examinadora deste trabalho, por aceitarem o convite em contribuir e estar presente neste momento tão importante da minha vida acadêmica.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pela concessão da bolsa imprescindível para a realização deste trabalho.

Aos centros espíritas Caminho de Luz e Saul Quadros e a todos os trabalhadores das casas. Gratidão por todas as vezes que se dedicaram à caridade e foram instrumentos do divino, por cada prece destinada, por todo o aprendizado e acolhimento.

Aos animais desta pesquisa, e sua contribuição para a ciência.

“A arte de Deus é tudo  
É o acontecer do mundo, é o bater do coração  
A mão de Deus é quem me leva  
Já rezei a sua reza  
Pra chegar aonde quis”

(Geraldo Azevedo)

## RESUMO

GONÇALVES, Caroline Vieira. **Iluminando novas fronteiras: explorando o potencial fotossensibilizador de espécies de *Passiflora* no controle de infecções por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) em camundongos senescentes.** Qualificação de Doutorado – Instituto Multidisciplinar em Saúde, Universidade Federal da Bahia, Vitória da Conquista, 2025.

**INTRODUÇÃO:** A Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (TFDa) tornou-se uma alternativa potencial para o tratamento de infecções cutâneas bacterianas multirresistentes, como as causadas por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), que apresentam alto risco em indivíduos longevos. Essa abordagem baseia-se na utilização de um agente químico denominado fotossensibilizador (FS), considerado um dos principais componentes da TFDa. **OBJETIVO:** O presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade fotossensibilizadora de extratos do gênero *Passiflora*, incorporados ou não em uma emulsão, no controle de infecção por MRSA *in vitro* e *in vivo* em um modelo de senescência. **METODOLOGIA:** A metodologia desta pesquisa compreendeu etapas *in vitro* e *in vivo*, além da formulação e caracterização de uma emulsão para uso tópico. Inicialmente, nos ensaios *in vitro*, determinou-se o espectro de absorção de luz dos extratos de *Passiflora* e a dose efetiva para sua fotoativação. Adicionalmente, avaliou-se a citotoxicidade desses extratos em células eucarióticas e investigou-se a localização intracelular da fração butanólica (FB) de *P. cincinnata* em MRSA. Posteriormente, no estudo *in vivo*, animais senescentes infectados intradermicamente na orelha com MRSA foram aleatoriamente distribuídos em três grupos experimentais: Controle (recebendo apenas o veículo); Tratado com a fração butanólica (FB) de *P. cincinnata* não fotoativada e; Tratado com FB de *P. cincinnata* fotoativada (TFDa). Ao longo do estudo *in vivo*, mensuraram-se os níveis de citocinas nos linfonodos retromaxilares, o peso corporal dos animais, a carga bacteriana no local da infecção e o grau de inflamação do tecido da orelha. Finalmente, para a formulação tópica desenvolvida, conduziu-se um teste preliminar de estabilidade, seguido pela sua caracterização físico-química. **RESULTADOS:** Os extratos de *Passiflora* foram considerados não citotóxicos para a cultura de células HUVEC (*Human Umbilical Vein Endothelial Cells*). Os extratos de *P. edulis* e *P. alata* apresentaram capacidade fotossensibilizadora na concentração de 1000 µg/mL. Já a fração butanólica de *P. cincinnata* exibiu atividade fotossensibilizadora significativa na concentração de 100

$\mu\text{g/mL}$ . Enquanto que o extrato bruto (EB) demonstrou possuir essa atividade em concentrações menores que FB, em 5-50  $\mu\text{g/mL}$ . Já a isoorientina, composto majoritário, presente em FB de *P. cincinnata*, não demonstrou uma redução tão significativa quanto EB e FB de *P. cincinnata*. Animais tratados com FB de *P. cincinnata* apresentaram melhor controle da carga bacteriana, menor infiltração de leucócitos e menor perda de peso ao longo do processo infeccioso por MRSA. Além disso, o grupo TFD apresentou um padrão mais distinto de correlações e influência de citocinas, com um maior número de citocinas exibindo correlações negativas, por exemplo, tanto entre as citocinas pró-inflamatórias quanto com a citocina anti-inflamatória IL-10. A análise de dendrogramas e a Análise de Componentes Principais mostraram que os níveis de leucócitos na orelha são importantes para o decurso da infecção entre os grupos, tendo diferenças em relação aos animais tratados ou não. A análise do potencial Zeta de MRSA revelou que a fração butanólica de *P. cincinnata* não altera significativamente o potencial de membrana bacteriano. Na formulação desenvolvida, uma emulsão compatível com o sistema óleo em água, as variações de significância estatística não demonstraram alterações que comprometessem a formulação. Os valores dos índices de fluidez indicaram comportamento de um fluido pseudoplástico. Além disso, a emulsão teve um comportamento tixotrópico, uma característica típica de fluidos não newtonianos. **CONCLUSÃO:** Os resultados são promissores, dada a compreensão limitada da TFDa em animais senescentes e destacando *P. cincinnata* como um potencial fotossensibilizador contra MRSA. Esta pesquisa estabelece as bases para o desenvolvimento de estratégias de TFDa direcionadas usando espécies de *Passiflora* e enfatiza a necessidade de explorar novos fotossensibilizadores derivados de plantas pouco pesquisadas. Além disso, a padronização de uma formulação para aplicação tópica, demonstrando estabilidade em temperatura ambiente e propriedades reológicas adequadas, abre caminho para o desenvolvimento de uma nova abordagem terapêutica para infecções cutâneas por MRSA, especialmente em indivíduos longevos.

**Palavras-chave:** Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (TFDa); *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA); *Passiflora*; Maracujá; Longevos; Senescência.

## ABSCTRACT

GONÇALVES, Caroline Vieira. **Illuminating new frontiers: exploring the photosensitizing potential of *Passiflora* species in the control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections in senescent mice.** Doctoral Qualification – Multidisciplinary Institute in Health, Federal University of Bahia, Vitória da Conquista, 2025.

**INTRODUCTION:** Antimicrobial Photodynamic Therapy (aPDT) has emerged as a potential alternative for the treatment of multidrug-resistant bacterial skin infections, such as those caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), which pose a high risk in elderly individuals. This approach is based on the use of a chemical agent known as a photosensitizer (PS), considered one of the main components of aPDT.

**OBJECTIVE:** This study aimed to evaluate the photosensitizing activity of *Passiflora* genus extracts, both incorporated and not incorporated into an emulsion, for controlling MRSA infection *in vitro* and *in vivo* using a senescence model. **METHODOLOGY:** The research methodology comprised *in vitro* and *in vivo* stages, in addition to the formulation and characterization of a topical emulsion. Initially, in the *in vitro* assays, the light absorption spectrum of *Passiflora* extracts and the effective dose for their photoactivation were determined. Additionally, the cytotoxicity of these extracts on eukaryotic cells was evaluated, and the intracellular localization of the butanolic fraction (BF) of *P. cincinnata* in MRSA was investigated. Subsequently, in the *in vivo* study, senescent animals intradermically infected in the ear with MRSA were randomly distributed into three experimental groups: Control (receiving only the vehicle); Treated with non-photoactivated *P. cincinnata* butanolic fraction (BF); and Treated with photoactivated *P. cincinnata* BF (APDT). Throughout the *in vivo* study, cytokine levels in retromaxillary lymph nodes, animal body weight, bacterial load at the infection site, and the degree of ear tissue inflammation were measured. Finally, for the developed topical formulation, a preliminary stability test was conducted, followed by its physicochemical characterization.

**RESULTS:** *Passiflora* extracts were considered non-cytotoxic to HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial Cells) cell cultures. *P. edulis* and *P. alata* extracts showed photosensitizing capacity at a concentration of 1000 µg/mL. The butanolic fraction of *P. cincinnata* exhibited significant photosensitizing activity at a concentration of 100 µg/mL. Meanwhile, the crude extract (CE) demonstrated this

activity at concentrations lower than BF, at 5-50 µg/mL. Isoorientin, the major compound present in *P. cincinnata* BF, did not show as significant a reduction as *P. cincinnata* CE and BF. Animals treated with *P. cincinnata* BF showed better control of bacterial load, less leukocyte infiltration, and less weight loss throughout the MRSA infection process. Furthermore, the APDT group showed a more distinct pattern of cytokine correlations and influence, with a greater number of cytokines exhibiting negative correlations, for example, both among pro-inflammatory cytokines and with the anti-inflammatory cytokine IL-10. Dendrogram analysis and Principal Component Analysis showed that leukocyte levels in the ear are important for the course of infection among the groups, with differences regarding treated or untreated animals. Zeta potential analysis of MRSA revealed that the butanolic fraction of *P. cincinnata* does not significantly alter the bacterial membrane potential. In the developed formulation, an oil-in-water emulsion compatible system, statistically significant variations did not show changes that would compromise the formulation. The fluidity index values indicated pseudoplastic fluid behavior. Additionally, the emulsion showed thixotropic behavior, a typical characteristic of non-Newtonian fluids. **CONCLUSION:** The results are promising, given the limited understanding of APDT in senescent animals, and highlight *P. cincinnata* as a potential photosensitizer against MRSA. This research lays the foundation for developing targeted APDT strategies using *Passiflora* species and emphasizes the need to explore new photosensitizers derived from underexplored plants. Furthermore, the standardization of a topical formulation, demonstrating stability at room temperature and suitable rheological properties, paves the way for the development of a new therapeutic approach for MRSA skin infections, especially in elderly individuals.

**Keywords:** Antimicrobial Photodynamic Therapy (aPDT); Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA); *Passiflora*; Passion fruit; Long-lived; Senescence.

## LISTA DE ABREVIATURAS

Abs	Absorbância
BHI	<i>Brain-heart infusion</i>
CD	<i>Cluster of differentiation</i>
CDs	Células dendríticas
CLIs	Células Linfoïdes Inatas
CLs	Células de Langerhans
DAMP	<i>Damage-associated molecular patterns</i>
EB	Extrato bruto
ELISA	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i>
EROs	Espécies Reativas de oxigênio
Fc	Fragmento cristalizável
FS	Fotossensibilizador
FS <sub>es</sub>	Fotossensibilizador no estado singlete
FS <sub>et</sub>	Fotossensibilizador no estado tripleto
FB	Fração butanólica
HBD-3	<i>Human β-defensin 3</i>
HUVEC	<i>Human Umbilical Vein Endothelial Cells</i>
IFN-α	Interferon alfa
IFN-γ	Interferon gamma
IL-8	Interleucina 8
IL-10	Interleucina 10
IL-17A	Interleucina 17A
IL-1β	Interleucina 1 beta
J/cm <sup>2</sup>	Joules por centímetro quadrado.
LED	Diodos emissores de luz
LT <sub>h</sub>	Linfócito T <i>helper/auxiliares</i>
L/Treg	Linfócito T regulatório

mm	Milímetro
$\text{m}^2$	Metro quadrado
$\text{mm}^2$	Milímetro quadrado
Mg	Miligrama
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i>
mL	Militro
MRSA	<i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i>
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-di-fenil brometo de tetrazolina
$\text{mW}/\text{cm}^2$	milliwatts por centímetro quadrado
NADPH	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
NET	<i>Neutrophil Extracellular Traps</i>
NK	<i>Natural Killer</i>
PAMPs	<i>Pathogen-associated Molecular Patterns</i>
PBP	<i>Penicillin Binding Proteins</i>
PD-1	<i>Programmed Death 1</i>
Pg	Picograma
PRRs	<i>Pattern Recognition Receptors</i>
PVL	<i>Panton-Valentine Leukocidin</i>
PSM- $\alpha$	<i>Phenol-Soluble Modulin-alpha</i>
TFD	Terapia fotodinâmica
TFDa	Terapia fotodinâmica antimicrobiana
TLR	<i>Toll-Like Receptor</i>
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral-alfa
$T_{\text{rm}}$	Células T de memória residentes
TSST-1	<i>Toxic shock syndrome toxin 1</i>
UFC	Unidades formadoras de colônias
UV	Ultravioleta

## LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
<	Menor
=	Igual
$\leq$	Menor ou igual
$\geq$	Maior ou igual
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
$\gamma$	Gamma
$\delta$	Delta

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Estrutura celular e fatores patogênicos de *Staphylococcus aureus*.** *S. aureus* tem uma estrutura de parede celular complexa composta de uma camada espessa de peptidoglicano e cápsula de polissacarídeo. Além disso, *S. aureus* possui um arsenal elaborado de fatores de virulência estruturais e secretados envolvidos na produção de toxinas, aderência e invasão do tecido hospedeiro e evasão imunológica (KONG; JOHNSON; JABRA-RIZK, 2016). Imagem adaptada de KONG; JOHNSON; JABRA-RIZK (2016), autoria própria ..... 7
- Figura 2. Modelo para a indução de *mecA* por MecR1-MecI-MecR2.** Na presença de um antibiótico  $\beta$ -lactâmico, MecR1 é ativado e rapidamente induz a expressão de *mecA* e *mecR1-mecI-mecR2*. A atividade antirrepressora de MecR2 é essencial para sustentar a indução de *mecA*, uma vez que promove a inativação de MecI por clivagem proteolítica. Na ausência de  $\beta$ -lactâmicos, MecR1 não é ativado e um estado estável é estabelecido com dímeros MecI estáveis ligados ao promotor *mecA* e cópias residuais de MecR1 na membrana celular (ARÊDE *et al.*, 2012). Imagem adaptada de ARÊDE *et al.*, 2012, autoria própria ..... 17
- Figura 3. Desenho esquemático dos mecanismos de ação da Terapia Fotodinâmica.** O fotossensibilizador (FS), quando submetido à luz, absorve energia e passa do seu estado básico (FS) para o seu estado *singlete* ( $FS_{es}$ ). Posteriormente, parte da energia é irradiada sob forma de fluorescência. Assim, o fotossensibilizador passa do seu estado *singlete* ( $FS_{es}$ ) para o estado tripleto ( $FS_{et}$ ). Neste estado o FS pode reagir com biomoléculas e oxigênio, formando Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) e Oxigênio tripleto ( $^1O_2$ ), altamente reativo. Imagem criada no BioRender. Adaptado de CALIXTO *et al.*, 2016 ..... 20
- Figura 4. Desenho esquemático dos tipos de emulsão.** A emulsão consiste em dois líquidos imiscíveis, construídos em uma fase dispersa e uma fase dispersante, que podem ser categorizados num sistema de óleo em água (O/A) e água em óleo (A/O) (MAWAZI *et al.*, 2022). Imagem: autoria própria ..... 26
- Figura 5. Modelo animal de infecção intradérmica por MRSA.** O modelo animal de infecção intradérmica oferece a oportunidade de estudar processos fisiológicos

resultantes de um procedimento infeccioso. Neste modelo, a carga bacteriana é determinada por espectrofotometria. Colônias do microrganismo são suspensas em solução salina estéril. Uma absorbância de 0,135 a 660 nm (nanômetros) é necessária para atingir a quantidade de  $10^8$  UFC (unidades formadoras de colônia) de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA). A infecção intradérmica é realizada nas orelhas dos animais (ALMEIDA *et al.*, 2017; DOS SANTOS *et al.*, 2020). Imagem criada no BioRender, autoria própria ..... 27

**Figura 6. Etapas da coleta, preparação do material vegetal e partição do extrato bruto das folhas de *P. cincinnata*.** Após seleção macroscópica (2), folhas de *P. cincinnata* foram secas em estufa (3) e trituradas (4). A maceração ocorreu em etanol por 48 horas (5), precedido de banho de ultrassom de 15 minutos (6). O extrato resultante foi filtrado (7) e armazenado (8) para posterior rotaevaporação. Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria ..... 31

**Figura 7. Rotaevaporação do extrato bruto de *P. cincinnata*.** Concentração do extrato em evaporador rotativo (9), seguida de secagem em estufa para remoção completa do etanol residual (10). Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria ..... 32

**Figura 8. Partição do extrato bruto em hexano.** O processo de fracionamento do extrato bruto (10g) iniciou-se com pesagem (1), seguida de suspensão em hexano (500 mL) (2) e homogeneização por ultrassom de 40 a 60 minutos (3). Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria ..... 32

**Figura 9. Partição do extrato bruto em metanol.** Após filtração da partição com hexano (4), o precipitado foi ressuspenso em metanol:água (7:3) (5) e colocado em um funil de separação (6). H<sub>2</sub>O= água; MeOH= metanol; MeOH:H<sub>2</sub>O= metanol:água. Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria ..... 33

**Figura 10. Partição do extrato bruto em metanol, diclorometano e acetato de etila.** Após adição da fase metanol:água no funil (3), a partição com diclorometano foi realizada (4). A fase diclorometano foi coletada, e a fase metanol:água foi diluída com água (400 mL) (5) e particionada com acetato de etila (3x250 mL) (6). H<sub>2</sub>O= água; MeOH=

metanol; MeOH:H<sub>2</sub>O= metanol:água; AcOEt= acetato de etila Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria ..... 33

**Figura 11. Partição do extrato bruto em butanol.** O processo de extração incluiu a adição de água (200 mL) (11) à fase metanol:água, seguida de partição com n-butanol (4x250 mL) (12). A fase n-butanol foi concentrada sob pressão reduzida (13). H<sub>2</sub>O= água; MeOH= metanol; MeOH:H<sub>2</sub>O= metanol:água; BuOH= n=butanol. Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria ..... 34

**Figura 12. Ensaio de citotoxicidade em HUVEC.** Avaliação da citotoxicidade de extratos de *P. edulis*, *P. alata* e *P. cincinnata* (extrato bruto e fração butanólica) em HUVEC: células cultivadas em RPMI (1), plaqueadas ( $3 \times 10^4$ /poço) (2), tratadas com diferentes concentrações dos extratos e incubadas com MTT (3). A formação de formazan foi quantificada por espectrofotometria. As células metabolicamente ativas reduzem o sal de tetrazólio MTT, de cor amarela, em formazan, um produto insolúvel de cor púrpura. Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria ..... 35

**Figura 13. Desenho esquemático dos grupos tratamento *in vitro*.** O experimento foi realizado em placas de 24 poços (n= 6 poços/grupo). Cada poço continha salina, MRSA (1), extratos (a depender do grupo) (2). Os poços foram irradiados por luz LED azul por 20 minutos (4), no caso dos grupos tratamento e controle MRSA + luz. Após isso 10 µLde cada poço foi plaqueado em placas contendo meio BHI, incubadas a 37°C por 18-24 horas – para posterior contagem da quantidade de colônias bacterianas (5). Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria ..... 37

**Figura 14. Teste do potencial Zeta.** Incubação de MRSA com o fotossensibilizador (neste caso, fração butanólica de *P. cincinnata*) (1), centrifugação (2), suspensão e análise no Zetasizer (3). Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria ..... 38

**Figura 15. Figura 15. Esquema experimental do modelo murino de infecção cutânea por MRSA.** Os animais foram submetidos à infecção intradérmica seguida de pesagem. Após 24 horas, foi realizado o tratamento fotodinâmico antimicrobiano, com nova pesagem em intervalos de 24 horas. Ao final do experimento, os animais foram pesados

e submetidos à eutanásia. Símbolos indicam aplicação da injeção (seringa), tratamento (gota + luz) e etapas de pesagem. Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria ..... 39

**Figura 16. Fluxograma do processamento de amostras para microscopia óptica.** Macroscopia e Emblocamento (1), Microtoma (2), Coloração (3) e Microscopia (4). Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria ..... 40

**Figura 17. Representação esquemática das etapas de um ELISA sanduíche, utilizando kits comerciais (Invitrogen - ThermoFisher).** Imobilização do anticorpo de captura (1), Ligação do antígeno (citocina) (2), Adição do anticorpo primário (3), Adição do anticorpo secundário conjugado com enzima, seguida da adição do substrato para detecção (4). Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria ..... 40

**Figura 18. Etapas do preparo da formulação.** Aquecimento da Fase A (aquosa) a 80°C (1), Aquecimento da Fase B (oleosa) a 77 °C (2), Adição da Fase B à Fase A sob agitação (3), Adição da Fase C (ativos) à mistura A+B sob agitação (4). Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria ..... 41

**Figura 19. Fluxograma do estudo de estabilidade da formulação.** Preparo da formulação, caracterização inicial (24 horas), armazenamento em diferentes temperaturas (4 °C, 25 °C e 40 °C) e análises de estabilidade em diferentes tempos (30, 60 e 90 dias). Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria ..... 42

**Figura 20. Espectro de absorção UV-Vis de espécies de *Passiflora* na faixa de 200-800 nm.** Linha azul: extratos de *Passiflora*. Linha preta: Diluente (água destilada). Varredura de *P. edulis* (A). *P. alata* (B). Varredura de FB purificada de *P. cincinnata* (C). Faixas de comprimento de onda da radiação eletromagnética (D) ..... 44

**Figura 21. Espectros de absorção da fração butanólica purificada de *P. cincinnata* em diferentes tempos de fotoativação (0, 60, 120, 180, 240 segundos, respectivamente).** Espectros de absorção da fração butanólica de *P. cincinnata* sem estar

fotoativada (**A**). Espectros de absorção da fração butanólica de *P. cincinnata* no tempo 1, imediatamente após fotoativação (**B**). Espectros de absorção da fração butanólica de *P. cincinnata* no tempo 2, 60 segundos após fotoativação (**C**). Espectros de absorção da fração butanólica de *P. cincinnata* no tempo 2, 120 segundos após fotoativação (**D**). Espectros de absorção da fração butanólica de *P. cincinnata* no tempo 2, 180 segundos após fotoativação (**E**). Espectros de absorção da fração butanólica de *P. cincinnata* no tempo 2, 240 segundos após fotoativação (**F**). Comparação dos espectros de absorção da fração butanólica de *P. cincinnata* em todos os tempos de fotoativação avaliados (**G**). Variação da absorbância nos comprimentos de onda de 269 nm e 334 nm em função do tempo de fotoativação (**H**) ..... 46

**Figura 22. Avaliação da citotoxicidade de extratos de espécies de *P. edulis*, *P. alata* e *P. cincinnata* (extrato bruto e fração butanólica) em cultura de células HUVEC por ensaio de MTT.** As células HUVEC foram semeadas a  $3 \times 10^4$  por poço em microplacas de 96 poços. Após o tratamento, as células foram incubadas com MTT para avaliar a viabilidade celular. O extrato de *P. edulis* (**A**). O extrato de *P. alata* (**B**). O extrato bruto de *P. cincinnata* (**C**). A fração butanólica purificada de *P. cincinnata* (**D**) ..... 48

**Figura 23. Experimento *in vitro* para avaliar a atividade fotossensibilizadora de extratos de *Passiflora*.** A atividade fotossensibilizadora de *P. edulis* (**A**). A atividade fotossensibilizadora de *P. alata* (**B**). Atividade fotossensibilizadora do extrato bruto (EB) *P. cincinnata* (**C**). Atividade fotossensibilizadora da fração butanólica (FB) *P. cincinnata* (**D**). Atividade fotossensibilizadora da isoorientina (**E**). O valor de *p* foi considerado significativo quando representado por asteriscos, onde \* *p* < 0,05; \*\* *p* < 0,01; \*\*\* *p* < 0,001 ..... 50

**Figura 24. Placas de cultura de MRSA com extratos bruto (EB) e fração butanólica (FB) de *P. cincinnata*.** Atividade fotossensibilizadora do extrato bruto (EB) *P. cincinnata* (**A**). Atividade fotossensibilizadora da fração butanólica (FB) *P. cincinnata* (**B**) ..... 51

**Figura 25. Avaliação da localização da fração butanólica de *P. cincinnata* em MRSA.** Potencial zeta de MRSA sem e com FS fotoativado (**A**). Diagrama esquemático para ilustrar a internalização do FS. Uma vez internalizado, e na presença de luz, o FS pode desencadear sua atividade fotodinâmica contra MRSA. Isso ocorre por meio de reações

fotoquímicas dos Tipos I e II, as quais resultam em danos bacterianos (**B**). ns: não significativo ..... 52

**Figura 26. Carga bacteriana e o influxo de células leucocitárias na orelha.** A carga bacteriana do macerado da orelha (**A**). Contagem total de todas as células leucocitárias presentes no infiltrado (**B**). O número de leucócitos polimorfonucleares (**C**). O número de leucócitos mononucleares (**D**). Fotomicrografias representativas dos infiltrados tiradas na objetiva 40X representando os grupos Veículo, *P. cincinnata* e TFDa (**E**). O valor de *p* foi considerado significativo quando representado por asteriscos, onde \* *p* < 0,05; \*\* *p* <0,01; \*\*\* *p* <0,001 ..... 54

**Figura 27. Peso do animal após infecção intradérmica e tratamento.** Percentual de perda de peso de cada animal, considerando seu peso inicial (**A**). A área sob a curva do percentual (AUC) de perda de peso para cada animal, referente ao gráfico A (**B**). O valor de *p* foi considerado significativo quando representado por asteriscos, onde \* *p* < 0,05 ..... 55

**Figura 28. Ensaio de citocinas nos linfonodos drenantes da orelha.** Os linfonodos foram macerados em 1mL de soro fisiológico estéril e centrifugados. Amostras de sobrenadantes linfonodais foram usadas para medir citocinas (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-12p70, IL-17A, IL-10) por ELISA. TNF- $\alpha$  (**A**). IL-1 $\beta$  (**B**). IL-12p70 (**C**). IL-17A (**D**). IL-10 (**E**). Correlações de citocinas do grupo de veículos (**F**). Correlações de citocinas do grupo *P. cincinnata* (**G**). Correlações de citocinas do grupo TFDa (**H**). Redes bayesianas de citocinas do grupo veículo (**I**). Redes bayesianas de citocinas do grupo *P. cincinnata* (**J**). Redes bayesianas (bnlearn versões 4.5 e bnviewer 0.1.4) foram usadas para construir/apresentar as relações probabilísticas entre os marcadores inflamatórios em cada grupo. Nas redes, as setas indicam causalidade, e todas têm o grau de força de inferência de uma variável relacionada à outra. A seta cinza tem um limiar igual ou >0,6 e menor ou igual a 0,8. A seta preta tem um limiar >0,8 e menor ou igual a 1. Citocinas que não interagiram na rede bayesiana com um nível de limiar >0,6. O Corrplot versão 0.84 foi usado para correlação. As correlações positivas foram indicadas em azul e as negativas em vermelho. Tons de cores mais escuros indicam valores r mais altos. Os valores de *p* (*p*) foram indicados com base nos testes de correlação de classificação de Spearman ou Pearson (\**p* < 0,05; \*\**p* < 0,01) ..... 57

<b>Figura 29. Dendrogramas mostrando a similaridade entre os grupos experimentais Veículo, <i>P. cincinnata</i> e TFDa.</b> Agrupamento baseado em todas as variáveis (A). Agrupamento baseado na variável Polimorfonucleares (B). Agrupamento baseado na variável Mononucleares (C). A escala de cores indica a intensidade das variáveis, variando de azul (menor intensidade) a vermelho (maior intensidade) .....	59
<b>Figura 30. Análise de Componentes Principais (PCA) dos grupos experimentais Veículo, <i>P. cincinnata</i> e TFDa.</b> Gráfico de dispersão mostrando a distribuição dos grupos nos dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) (A). Gráfico de barras mostrando a variância explicada por cada um dos quatro primeiros componentes principais (PC1, PC2, PC3 e PC4) (B) .....	62
<b>Figura 31. Análise de Componentes Principais (PCA) dos grupos experimentais (Veículo, <i>P. cincinnata</i> e TFDa) e variáveis analisadas.</b> Biplot mostrando a relação entre as variáveis originais e os dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) (A). Gráfico de dispersão mostrando a distribuição dos grupos nos dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) (B) .....	65
<b>Figura 32. Emulsão após o processo de centrifugação.</b> A imagem é composta por duas fotos que mostram os resultados do teste de centrifugação realizado em na emulsão (A e B) .....	66
<b>Figura 33. Estabilidade da viscosidade ao longo de 30 dias em diferentes temperaturas (<math>4 \pm 2^\circ\text{C}</math>, <math>25 \pm 2^\circ\text{C}</math> e <math>40 \pm 2^\circ\text{C}</math>).</b> Reograma da formulação após 24 horas (A). Reograma da formulação após 30 dias armazenada a $4 \pm 2^\circ\text{C}$ (B). Reograma da formulação após 30 dias armazenada a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ (C). Reograma da formulação após 30 dias armazenada a $40 \pm 2^\circ\text{C}$ (D). Reograma da formulação após 30 dias armazenada a $4 \pm 2^\circ\text{C}$ , $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e $40 \pm 2^\circ\text{C}$ (E). Área sob a curva do reograma da formulação após 30 dias armazenada a $4 \pm 2^\circ\text{C}$ , $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e $40 \pm 2^\circ\text{C}$ (F). Viscosidade mínima aparente da formulação após 24 horas e 30 dias, armazenadas a $4 \pm 2^\circ\text{C}$ , $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e $40 \pm 2^\circ\text{C}$ (G). O valor de $p$ foi considerado significativo quando representado por asteriscos, onde * $p < 0,05$ ; ** $p < 0,01$ ; *** $p < 0,001$ e ns: não significativo .....	69
<b>Figura 34. Estabilidade da tensão de cisalhamento ao longo de 30 dias em diferentes temperaturas (<math>4 \pm 2^\circ\text{C}</math>, <math>25 \pm 2^\circ\text{C}</math> e <math>40 \pm 2^\circ\text{C}</math>).</b> Reograma da formulação após 24 horas	

(A). Reograma da formulação após 30 dias armazenada a  $4 \pm 2$  °C (B). Reograma da formulação após 30 dias armazenada a  $25 \pm 2$  °C (C). Reograma da formulação após 30 dias armazenada a  $40 \pm 2$  °C (D). Reograma da formulação após 30 dias armazenada a  $4 \pm 2$  °C,  $25 \pm 2$  °C e  $40 \pm 2$  °C (E). Área sob a curva do reograma da formulação após 30 dias armazenada a  $4 \pm 2$  °C,  $25 \pm 2$  °C e  $40 \pm 2$  °C (F). Tensão de cisalhamento máxima aparente da formulação após 24 horas e 30 dias, armazenadas a  $4 \pm 2$  °C,  $25 \pm 2$  °C e  $40 \pm 2$  °C (G). O valor de  $p$  foi considerado significativo quando representado por asteriscos, onde \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  e ns: não significativo ..... 72

**Figura 35. Variação do pH da formulação ao longo de 90 dias em diferentes temperaturas de armazenamento ( $4 \pm 2$  °C,  $25 \pm 2$  °C e  $40 \pm 2$  °C).** pH da formulação após 30 dias armazenada a  $4 \pm 2$  °C (A). pH da formulação após 30 dias armazenada a  $25 \pm 2$  °C (B). pH da formulação após 30 dias armazenada a  $40 \pm 2$  °C (C). pH da formulação, considerando todas a média das temperaturas,  $4 \pm 2$  °C,  $25 \pm 2$  °C e  $40 \pm 2$  °C (D). O valor de  $p$  foi considerado significativo quando representado por asteriscos, onde \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  e ns: não significativo ..... 75

**Figura 36. Variação da condutividade da formulação ao longo de 90 dias em diferentes temperaturas de armazenamento ( $4 \pm 2$  °C,  $25 \pm 2$  °C e  $40 \pm 2$  °C).** Condutividade da formulação após 30 dias armazenada a  $4 \pm 2$  °C (A). Condutividade da formulação após 30 dias armazenada a  $25 \pm 2$  °C (B). Condutividade da formulação após 30 dias armazenada a  $40 \pm 2$  °C (C). Condutividade da formulação, considerando todas a média das temperaturas,  $4 \pm 2$  °C,  $25 \pm 2$  °C e  $40 \pm 2$  °C (D). O valor de  $p$  foi considerado significativo quando representado por asteriscos, onde \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  e ns: não significativo ..... 77

**Figura 37. Representação esquemática da resposta local na infecção intradérmica por MRSA em modelo murino.** A imagem compara a resposta local na orelha infectada de um modelo murino, em dois grupos distintos: um controle (tratado com veículo) e outro tratado com *P. cincinnata*. A representação esquemática destaca a composição celular infiltrada no local da infecção e sugere diferenças qualitativas e quantitativas na resposta inflamatória entre os grupos. O grupo controle (Veículo) exibe um infiltrado inflamatório intenso, caracterizado pela presença de células dendríticas, linfócitos, neutrófilos e macrófagos na área da infecção. O grupo tratado com *P. cincinnata* demonstra uma redução no infiltrado inflamatório. A presença de neutrófilos, células de

primeira linha na defesa contra infecções bacterianas, indica uma resposta inflamatória aguda em andamento. Macrófagos, com sua capacidade de fagocitose e apresentação de抗ígenos, também contribuem para a resposta imune local. A presença de linfócitos sugere o início de uma resposta imune adaptativa, enquanto as células dendríticas atuam na captura e apresentação de抗ígenos aos linfócitos nos linfonodos regionais, como o linfonodo retromaxilar mostrado em outra parte da figura. Imagem elaborada na plataforma BioRender, autoria própria ..... 85

**Figura 38. Análise da resposta sistêmica nos linfonodos retromaxilares no modelo de infecção intradérmica por MRSA.** A imagem revela *insights* importantes sobre a resposta imunológica sistêmica em um modelo experimental de infecção por MRSA, tratado com *P. cincinnata* e terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDa). A investigação concentra-se na dinâmica de citocinas nos linfonodos retromaxilares, um local chave para a orquestração da resposta imune regional e sistêmica. As correlações entre citocinas nos diferentes grupos experimentais (Veículo, *P. cincinnata* e TFDa) indicam a quantidade de associações negativas e positivas, bem como as mais significativas para cada grupo. A ilustração central demonstra a interação entre uma célula dendrítica, citocinas e uma célula T naïve no linfonodo. A análise das redes bayesianas das citocinas, apresentada na parte inferior direita, mostra a intensidade das interações entre elas para cada grupo experimental. A intensidade dessas interações é comparada entre os grupos, e as associações mais fortes para cada grupo são destacadas. Imagem elaborada na plataforma BioRender, autoria própria ..... 88

**Figura 39. Representação esquemática de uma emulsão dos principais resultados obtidos da emulsão.** Emulsão do tipo óleo em água com pH ideal, comportamento pseudoplástico e tixotrópico, sem alterações macroscópicas e potencial para tradução clínica. Imagem elaborado com recursos da Plataforma Smart Servier, autoria própria ..... 94

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Porcentagem e peso dos constituintes testados .....	41
<b>Tabela 2:</b> Índices de fluxo e consistência da emulsão inicial e após 30 dias .....	67

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>4</b>
2.1. MORTALIDADE GLOBAL ASSOCIADA A PATÓGENOS BACTERIANOS .....	4
2.2. <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> .....	5
2.2.1. <i>Epidemiologia</i> .....	5
2.2.2. <i>Características gerais: Morfologia, estrutura, fatores de virulência e patogenicidade</i> .....	6
2.3. INFECÇÕES ESTAFILOCÓCICAS, IMUNOSSENESCÊNCIA E PELE.....	8
2.3.1. <i>Pele: Estrutura, função e mudanças ao longo do tempo</i> .....	8
2.3.2. <i>Infecções estafilocócicas na pele e imunossenescência</i> .....	10
2.3.3. <i>A importância dos neutrófilos contra S. aureus e como sua atividade é comprometida em indivíduos longevos</i> .....	13
2.3.4. <i>O papel das citocinas na resposta imune à infecção por S. aureus na pele de indivíduos mais velhos</i> .....	15
2.3.5. <i>Staphylococcus aureus resistentes à meticilina (MRSA)</i> .....	16
2.3.6. <i>Mecanismo de resistência de MRSA</i> .....	16
2.3.7. <i>Antibióticos para tratamento de MRSA: Desafios e interesse internacional por novos tratamentos</i> .....	18
2.4. TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA (TFDA).....	19
2.4.1. <i>Conceito</i> .....	19
2.4.2. <i>Mecanismos de ação</i> .....	19
2.4.3. <i>Fontes de luz</i> .....	21
2.4.4. <i>Fotossensibilizadores</i> .....	22
2.5. EXTRATOS DE <i>PASSIFLORA</i> COMO FOTOSSENSIBILIZADORES: PROPRIEDADES FITOQUÍMICAS E FARMACOLÓGICAS .....	23
2.5.1. <i>Passiflora</i> .....	23
2.5.2. <i>Passiflora edulis</i> .....	24
2.5.3. <i>Passiflora alata</i> .....	24
2.5.4. <i>Passiflora cincinnata Mast.</i> .....	24
2.6. DESAFIOS DA TFDA <i>IN VIVO</i> .....	25

2.7. FORMULAÇÕES: EMULSÃO COMO SISTEMA DE ENTREGA DE SUBSTÂNCIAS FOTOSSENSÍVEIS PARA USO TÓPICO NA PELE.....	25
2.8. MODELO ANIMAL DE INFECÇÃO INTRADÉRMICA .....	27
<b>3. JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>29</b>
<b>4. OBJETIVOS .....</b>	<b>30</b>
4.1. OBJETIVO GERAL .....	30
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	30
4.2.1. <i>Testes in vitro</i> .....	30
4.2.2. <i>Testes in vivo</i> .....	30
4.2.3. <i>Formulação</i> .....	30
<b>5. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>31</b>
7.1. OBTENÇÃO DOS EXTRATOS .....	31
7.1.1. <i>P. edulis e P. alata</i> .....	31
7.1.2. <i>P. cincinnata</i> .....	31
7.1.2.1. <i>Coleta e preparação do material vegetal</i> .....	31
7.1.2.2. <i>Partição do extrato bruto de P. cincinnata</i> .....	32
7.2. ESPECTRO DE ABSORÇÃO UV-VIS DA FRAÇÃO BUTANÓLICA PURIFICADA DE <i>P. CINCINNATA</i> E DOS EXTRATOS DE <i>P. EDULIS, P. ALATA</i> NA FAIXA DE 200-800 NM....	34
7.3. ESPECTRO DE ABSORÇÃO UV-VIS DA FRAÇÃO BUTANÓLICA PURIFICADA DE <i>P. CINCINNATA</i> FOTOATIVADA.....	34
7.4. ENSAIO DE CITOTOXICIDADE DE ESPÉCIES DE <i>PASSIFLORA</i> POR MTT EM HUVEC	35
7.5. DETERMINAÇÃO DA CARGA BACTERIANA .....	36
7.6. DESENHO EXPERIMENTAL DA TFDA <i>IN VITRO</i> .....	36
7.7. TESTE DO POTENCIAL ZETA .....	37
7.8. ANIMAIS .....	38
7.8.1. <i>Desenho experimental da TFDa in vivo</i> .....	38
7.8.2. <i>Pesagem dos animais</i> .....	39
7.8.3. <i>Carga bacteriana da orelha</i> .....	39
7.8.4. <i>Histopatologia</i> .....	39
7.9. CONCENTRAÇÃO DE CITOCINAS .....	40
7.10. OBTENÇÃO DA EMULSÃO .....	41

7.10.1. <i>Estudo de estabilidade</i> .....	42
7.10.1. <i>Teste de estabilidade - centrifugação</i> .....	42
7.10.2. <i>Perfil reológico</i> .....	43
7.10.3. <i>pH</i> .....	43
7.10.4. <i>Condutividade elétrica</i> .....	43
7.11. ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	43
<b>6. RESULTADOS.....</b>	<b>45</b>
6.1. ESPECTRO DE ABSORÇÃO UV-VIS DE <i>PASSIFLORA</i> : IDENTIFICAÇÃO DE COMPRIMENTOS DE ONDA RELEVANTES PARA FOTOATIVAÇÃO .....	45
6.2. FOTOATIVAÇÃO INDUZ ALTERAÇÕES NA ABSORÇÃO DA FRAÇÃO BUTANÓLICA DE <i>P. CINCINNATA</i> .....	46
6.3. OS EXTRATOS DE <i>PASSIFLORA</i> NÃO SÃO CITOTÓXICOS EM CULTURA DE HUVEC .....	49
6.4. ESPÉCIES DE <i>PASSIFLORA</i> TESTADAS TÊM CAPACIDADE FOTOSENSIBILIZADORA CONTRA MRSA .....	50
6.5. PROVÁVEL INTERNALIZAÇÃO DOS CONSTITUINTES DA FRAÇÃO BUTANÓLICA DE <i>P. CINCINNATA</i> EM MRSA .....	53
6.6. OS ANIMAIS DO GRUPO VEÍCULO APRESENTARAM MAIOR INFILTRADO DE CÉLULAS LEUCOCITÁRIAS E MAIOR CARGA BACTERIANA .....	54
6.7. ANIMAIS TRATADOS COM <i>P. CINCINNATA</i> APRESENTARAM MENOR VARIAÇÃO DE PESO .....	56
6.8. AS CITOCINAS INTERAGIRAM DE FORMA DIFERENTE ENTRE SI NO LINFONODO DRENANTE .....	57
6.9. ANIMAIS TRATADOS COM <i>P. CINCINNATA</i> SE AGRUPAM POR SIMILARIDADE .....	59
6.10. REDUÇÃO DE DIMENSIONALIDADE E AGRUPAMENTO POR COMPONENTES PRINCIPAIS DEMONSTRAM SIMILARIDADE E DISTINÇÕES ENTRE OS ANIMAIS .....	62
6.11. PCA REVELA INFLUÊNCIA DAS VARIÁVEIS E DISTINÇÃO DO GRUPO VEÍCULO .....	64
6.12. AUSÊNCIA DE INSTABILIDADE MEDIADA PELA GRAVIDADE NA EMULSÃO DESENVOLVIDA .....	67

6.13. EMULSÃO APRESENTA COMPORTAMENTO DE UM FLUIDO PSEUDOPLÁSTICO E TIXOTRÓPICO E VISCOSIDADE SOFRE VARIAÇÃO NA TEMPERATURA DE 40 °C .....	68
6.14. IMPACTO DA TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO NA TENSÃO DE CISALHAMENTO DA AMOSTRA: ESTABILIDADE EM 4 °C E 25 °C E AUMENTO SIGNIFICATIVO A 40 °C .....	72
6.15. PH DA EMULSÃO MANTÉM-SE ESTÁVEL DURANTE O ARMAZENAMENTO, COM LEVE VARIAÇÃO A 40 °C .....	75
6.16. ESTABILIDADE DA CONDUTIVIDADE ELÉTRICA DA EMULSÃO A 25 °C E PEQUENAS VARIAÇÕES EM 4 °C E 40 °C DURANTE 90 DIAS DE ARMAZENAMENTO.....	77
<b>7. DISCUSSÃO .....</b>	<b>79</b>
<b>8. CONCLUSÃO.....</b>	<b>96</b>
<b>9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>97</b>
<b>10. PUBLICAÇÕES DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO .....</b>	<b>137</b>
10.1. LIVROS PUBLICADOS: .....	137
10.2. DEPÓSITOS DE PATENTES:.....	137
10.3. ARTIGOS COMPLETOS PUBLICADOS EM PERIÓDICOS:.....	138
<b>ANEXO 1.....</b>	<b>141</b>
<b>ANEXO 2.....</b>	<b>143</b>
<b>ANEXO 3 .....</b>	<b>146</b>
<b>ANEXO 4 .....</b>	<b>157</b>
<b>ANEXO 5 .....</b>	<b>158</b>
<b>ANEXO 6 .....</b>	<b>159</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Indivíduos longevos constituem a população com maior suscetibilidade a infecções e, consequentemente, apresentam pior prognóstico para doenças infecciosas. (FALCONE; TISEO, 2023). Isso inclui o alto risco de infecções de pele e tecidos moles devido a vários fatores, como múltiplas comorbidades e condições de pele que os predispõem a desenvolver essas infecções. Tais condições são, geralmente, causadas por *Staphylococcus aureus* - incluindo cepas de *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA) (MARIO VENDITTI *et al.*, 2003; NELOSKA *et al.*, 2016). *S. aureus* é um patógeno que causa desde infecções de pele e tecidos moles até doenças graves invasivas, como sepse e endocardite (CHEUNG; BAE; OTTO, 2021).

Apesar de ser um dos primeiros microrganismos a ser controlado com a descoberta dos antibióticos, tornou-se uma das espécies mais importantes no contexto de infecções hospitalares e comunitárias devido à sua capacidade de adaptação e resistência, como é o caso de MRSA (NANDHINI *et al.*, 2022; TURNER *et al.*, 2019). Paralelamente à dificuldade de medicamentos eficazes contra MRSA, há uma preocupação significativa com o controle de infecções em indivíduos imunossenescentes (BLEVE *et al.*, 2022; HASANPOUR *et al.*, 2023). Nesse sentido, a Organização Mundial da Saúde (OMS) identificou MRSA como uma alta prioridade para o desenvolvimento de novas terapias (WHO, 2024).

Novos antimicrobianos surgiram após a descoberta das sulfonamidas e penicilinas no início do século XX, marcando o início da era de ouro da conquista de novas classes, que atingiu o pico em meados da década de 1950 (MANCUSO *et al.*, 2021; UDDIN *et al.*, 2021). No entanto, desde então, houve um declínio gradual na descoberta e desenvolvimento de novos antibióticos, o que não acompanhou o surgimento de novas cepas resistentes (SELVARAJAN *et al.*, 2022). Esse fator se soma ao seu uso indiscriminado, culminando na atual crise de resistência antimicrobiana (HUTCHINGS; TRUMAN; WILKINSON, 2019). Além disso, a maioria das pequenas moléculas atualmente em desenvolvimento clínico ou recentemente aprovadas são modificações de estruturas químicas existentes (VESTERGAARD; FREES; INGMER, 2019).

À luz dessas questões, a Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (TFDa) tornou-se uma alternativa potencial para o tratamento de infecções bacterianas multirresistentes (WONG *et al.*, 2018). Na pele, foi relatado que a TFDa reduz as colônias de MRSA

(ALMEIDA *et al.*, 2017; DOS SANTOS *et al.*, 2019a, 2019b, 2020; MUNIZ *et al.*, 2021). No entanto, nenhum estudo é voltado para essa análise em um modelo murino de senescência associado a infecção intradérmica. O desenvolvimento deste modelo é importante, uma vez que o modelo murino de infecção por MRSA em camundongos senescentes captura o achado clínico característico de que indivíduos longevos são mais suscetíveis a doença invasiva após infecção cutânea, o que pode resultar da função de barreira grosseiramente permeável e diminuição da imunidade inata nesses animais (TSENG *et al.*, 2012). Além disso, combinado com TFDa, pode fornecer a orientação necessária para a compreensão das terapias voltadas para a imunossenescência (GONÇALVES *et al.*, 2024; HUANG *et al.*, 2024; WALDMANN *et al.*, 2020).

A TFDa emprega uma combinação de fotossensibilizadores com uma fonte de luz específica, capaz de gerar moléculas que agem seletivamente (CORREIA *et al.*, 2021). Portanto, um dos principais componentes da TFD é o agente químico chamado fotossensibilizador (FS) (ALLISON *et al.*, 2004). Para que seja eficaz, a escolha dos FS é crucial. Nesse sentido, o estudo de novos compostos é de fundamental importância para a descoberta de novos candidatos a FS que possam ser adequados para o controle de infecções causadas por bactérias resistentes aos antibióticos (ABRAHAMSE; HAMBLIN, 2016; GARLAND *et al.*, 2009; POLAT; KANG, 2021). Pesquisas recentes revelaram que determinados compostos derivados de plantas e própolis, particularmente aqueles com elevado teor de flavonoides, possuem atividade fotodinâmica antimicrobiana (DOS SANTOS *et al.*, 2019a; RIBEIRO *et al.*, 2023, 2024).

Estudos fitoquímicos de *Passiflora* demonstraram a presença de vários compostos químicos, como alcalóides, saponinas e ácidos cianogênicos, sendo os mais frequentemente relatados: flavonóides C-glicosídeos (COSTA *et al.*, 2016; GADIOLI *et al.*, 2017). É o caso de algumas espécies de *Passiflora*, como *P. edulis*, *P. alata* e *P. cincinnata*, sem descrição atual quanto à sua atividade antimicrobiana e capacidade fotossensibilizadora (AMARAL *et al.*, 2020; BARBOSA SANTOS *et al.*, 2021; BRAGASOUTO *et al.*, 2024; SILVA *et al.*, 2024). Dentre essas espécies, *Passiflora cincinnata* é a menos relatada na literatura, mas possui flavonoides em seus compostos majoritários (LEAL *et al.*, 2020). Trata-se de uma espécie nativa da Caatinga (bioma exclusivo do Brasil) com ampla distribuição geográfica, e pouco se sabe sobre seus compostos bioativos (DE LAVOR *et al.*, 2018).

A entrega de FS representa um desafio significativo na TFD, uma vez que muitos compostos exibem instabilidade intrínseca e penetração limitada em tecidos ou células-alvo, o que pode comprometer a eficácia do tratamento (MURAGE *et al.*, 2024; YOUNG *et al.*, 2021; YU *et al.*, 2022). Nesse contexto, as emulsões podem ser ótimas alternativas para entrega de FS na pele (PORTUGAL *et al.*, 2021). A sua administração tópica pode ter vantagens sobre outros métodos por várias razões, a mais importante é a entrega direta e a segmentação do medicamento na área afetada (ZHAO *et al.*, 2024). Em muitas formulações, como produtos para cuidados com a pele, são amplamente utilizadas para entrega de substâncias específicas, pois pode resultar em uma absorção mais rápida (SAHOO *et al.*, 2019). Além disso, geralmente, aumentam a biodisponibilidade de fármacos/bioativos solubilizados (THAKUR *et al.*, 2023).

A classificação desses sistemas baseia-se no tamanho das gotículas da fase dispersa, distinguindo emulsões/macroemulsões (100 nm e 100 µm), nanoemulsões (1 a 100 nm) e microemulsões (100 a 400 nm) (SOUTO *et al.*, 2022). Dentre essas, a macroemulsão apresenta potencial interessante para o uso tópico da TFDa, pois tendem a permanecer na superfície cutânea, formando um filme oclusivo que reduz a perda transepidermica de água, promovendo hidratação e melhorando a função de barreira. Para ativos de ação superficial, com ação antimicrobiana, a liberação prolongada na camada córnea otimiza a eficácia local e minimiza a absorção sistêmica (KLANG *et al.*, 2011; NAZRIN *et al.*, 2023).

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade fotossensibilizadora de extratos do gênero *Passiflora*, incorporados ou não em uma emulsão, no controle de infecção por MRSA *in vitro* e *in vivo* em animais senescentes.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Mortalidade global associada a patógenos bacterianos

Reducir a carga de morte devido a infecção é uma prioridade urgente de saúde pública, pois as infecções continuam sendo uma das principais causas de morte no mundo (LUCERO-PRISNO *et al.*, 2023). No ano de 2019, aproximadamente 7,7 milhões das 13,7 milhões de mortes estimadas por infecção foram causadas por 33 tipos de bactérias. Esse número alarmante corresponde a 13,6% da mortalidade global e a mais da metade das mortes por sepse. Para gerar estimativas de mortalidade por infecção em 2019, abrangendo todas as idades e sexos em 204 países e territórios, os autores utilizaram 343 milhões de registros individuais e isolados de patógenos. A análise foi realizada com base em dados e métodos dos estudos do *Global Burden of Disease* (GBD) 2019 e do *Global Research on Antimicrobial Resistance* (GRAM) (IKUTA *et al.*, 2022), permitindo estimar as mortes associadas a cada patógeno e o tipo de infecção responsável.

Os estudos do GBD são reconhecidos por sua capacidade de mapear mudanças dinâmicas ao longo do tempo. No entanto, o trabalho pioneiro dos Colaboradores da Resistência Antimicrobiana do GBD 2019 (IKUTA *et al.*, 2022) concentrou-se no ano de 2019, dada a escassez de estudos recentes. Essa limitação temporal dificulta a identificação de tendências na mortalidade por patógenos e síndromes específicas. Para trabalhos futuros, sugere-se a análise de um período mais extenso e a aplicação da dinâmica de sistemas a cada patógeno bacteriano e síndrome infecciosa. Uma revisão sistemática da literatura também revelou que 58% das doenças infecciosas em humanos são exacerbadas por riscos climáticos, como variações de temperatura e disponibilidade de água e alimentos (GONA; MORE, 2022).

Os principais patógenos responsáveis apresentaram reações dependentes do clima, causando um aumento em sua difusão e até mesmo resistência ao tratamento (BLOOM; CADARETTE, 2019; LUCERO-PRISNO *et al.*, 2023). Por exemplo, quedas bruscas de temperatura foram associadas a um aumento na incidência de pneumonia e ao aumento da morbidade em climas frios e úmidos (GONA; MORE, 2022). E, ainda, de acordo com o GBD 2019, cinco patógenos bacterianos específicos - *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Escherichia coli* (*E. coli*), *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*), *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) e *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) - foram responsáveis por 54,2% de todas as mortes bacterianas. Entre eles, o *S. aureus* foi o patógeno mais letal, causando 1,1 milhão de mortes globalmente. Além disso, outros

quatro patógenos contribuíram significativamente para a mortalidade, com mais de 500.000 mortes cada: *E. coli* (950.000), *S. pneumoniae* (829.000), *K. pneumoniae* (790.000) e *P. aeruginosa* (559.000) (IKUTA *et al.*, 2022).

Ao analisar a mortalidade causada por esses microrganismos, é imprescindível considerar a resistência microbiana, que representa um dos maiores desafios à saúde humana em escala mundial (LESSA; SIEVERT, 2023). Os seis principais patógenos responsáveis por mortes associadas à resistência foram: *E. coli*, seguidos por *S. aureus* (sendo a bactéria gram-positiva mais associada), *K. pneumoniae*, *S. pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* e *P. aeruginosa*. Uma combinação patógeno-fármaco, *S. aureus* resistente à meticilina, causou mais de 100.000 mortes atribuíveis à resistência antimicrobiana em 2019 (MURRAY *et al.*, 2022).

## **2.2. *Staphylococcus aureus***

### **2.2.1. Epidemiologia**

A bactéria *S. aureus* coloniza principalmente a pele e as mucosas humanas, seus principais reservatórios, comumente encontrados na epiderme, narinas, axilas e regiões inguinais (RASHEED; HUSSEIN, 2021). Estima-se que até metade dos adultos sejam portadores de *S. aureus*, com cerca de 15% da população carregando a bactéria persistentemente nas narinas anteriores (SALEEM ALSHAMMARI *et al.*, 2017a). Isso faz com que, em seres humanos, mais de 80% das doenças de *S. aureus* adquiridas em hospitais sejam infecções endógenas causadas por cepas transportadas no nariz dos pacientes (RASHEED; HUSSEIN, 2021).

Entretanto, a epidemiologia de *S. aureus* passou por uma revolução conceitual nas últimas décadas. Esse fenômeno deveu-se, em parte, a mudanças importantes no comportamento epidemiológico desta bactéria, mas também a uma reavaliação de conceitos antigos em vista de novos conhecimentos advindos das pesquisas clínica e experimental. Assim, dois fatores-chave sustentam a perspectiva contemporânea de *S. aureus*, a virulência e a resistência antimicrobiana. Estudos simultâneos desses fatores são necessários, especialmente no Brasil, onde os dados são limitados (ROMERO; DE SOUZA DA CUNHA, 2021).

Existem poucos estudos sobre infecção por *S. aureus* em países tropicais que definam a epidemiologia da doença, a natureza das manifestações clínicas, o resultado e os padrões de resistência aos medicamentos (MURRAY *et al.*, 2022). Apesar disso, *S. aureus* ocupa a primeira posição em mortalidades devido a sua resistência aos antibióticos

e a bacteremia por *S. aureus* contribui para o maior número de fatalidades devido a infecções da corrente sanguínea (IKUTA *et al.*, 2022).

### **2.2.2. Características gerais: Morfologia, estrutura, fatores de virulência e patogenicidade**

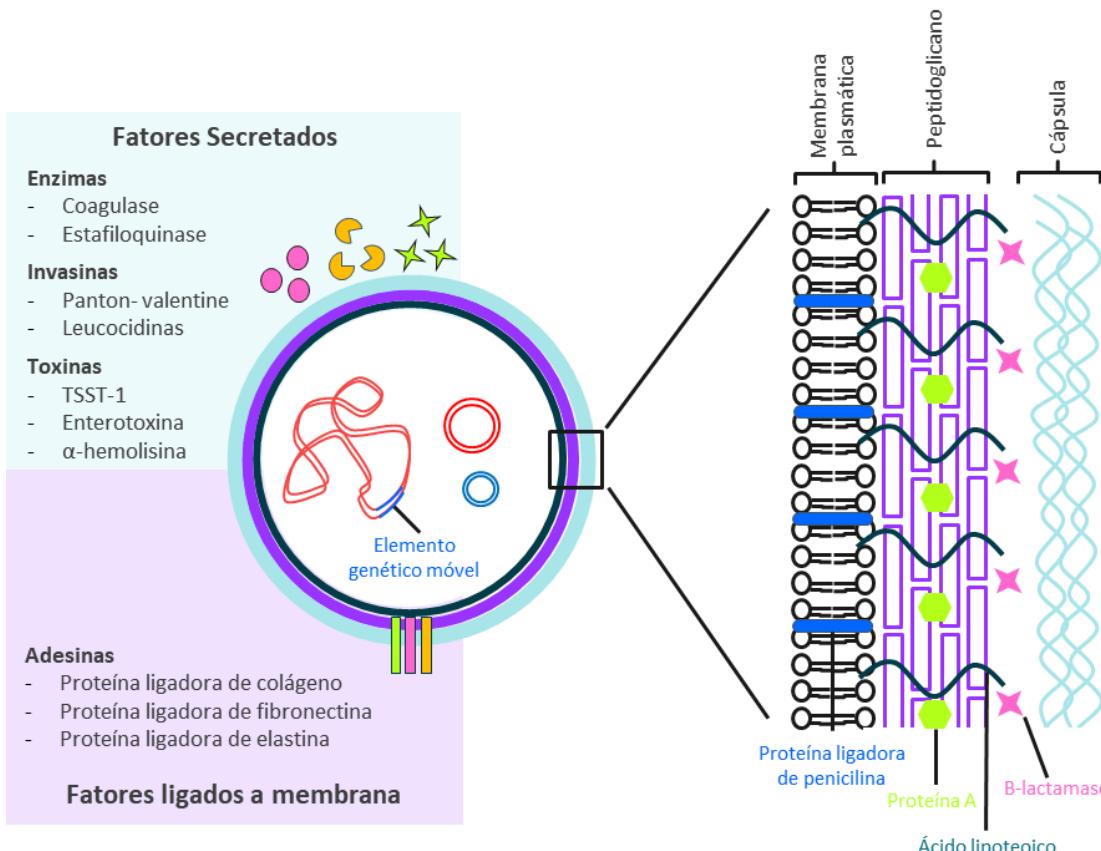
*S. aureus* é uma bactéria Gram-positiva (cor roxa pela coloração de Gram) que tem formato de cocos e tende a se organizar em grupos que são descritos como "semelhantes a uvas" (LAKHUNDI; ZHANG, 2018). Se encontra aos pares, sozinhas ou em tétrades. Em meios de cultura, esses organismos podem crescer em até 10% de NaCl, e as colônias são frequentemente douradas ou amarelas (*aureus* significa dourado ou amarelo). Em placas comuns, *S. aureus* pode formar colônias espessas, brilhantes e redondas com 1~2 mm de diâmetro; em placas de ágar sangue, há um anel hemolítico transparente ao redor de cada unidade formadora de colônia de *S. aureus*. Esses organismos podem crescer aerobicamente ou anaerobicamente (facultativo), em temperaturas entre 18 °C e 40 °C (HOU *et al.*, 2023), sendo que as condições ótimas de crescimento são 37 °C e pH 7,4 (GUO *et al.*, 2020).

A parede celular é uma membrana lipídica única, composta por 50% de peptidoglicano, 40% de ácido de membrana lipídica e 10% de proteínas de superfície, exoproteínas e proteínas autolíticas, conforme elucidado na **Figura 1** (OLIVEIRA; BORGES; SIMÕES, 2018). *S. aureus* é positivo para coagulase, testes de fermentação de manitol e testes de DNAase. Então, este microrganismo não só pode decompor uma variedade de açúcares para produzir ácido sem gás, mas também decompor manitol, bem como produzir coagulase (LAKHUNDI; ZHANG, 2018).

Apesar de serem comensais, estes microrganismos podem atuar como patógenos ao invadirem o hospedeiro por lesões de pele, inoculação ou implantação de dispositivos, especialmente, em pacientes imunocomprometidos ou com microbiota alterada (RASHEED; HUSSEIN, 2021). Embora 30% da população seja colonizada assintomaticamente (CRAFT *et al.*, 2019), o *S. aureus* sintomático causa diversas infecções, incluindo bacteremia, endocardite, infecções de pele e tecidos moles, osteomielite, artrite séptica, infecções de dispositivos, pneumonia, gastroenterite, meningite, síndrome do choque tóxico e infecções urinárias (TONG *et al.*, 2015; VENKATESH, 2018).

É importante destacar que a patogenicidade do *S. aureus* depende da cepa específica e do local da infecção, com algumas cepas causando infecções invasivas e

outras desencadeando doenças mediadas por toxinas. A capacidade do *S. aureus* de escapar da resposta imune do hospedeiro desempenha um papel crítico em sua virulência (SALEEM ALSHAMMARI *et al.*, 2017), sendo que a fisiopatologia varia muito dependendo do tipo de infecção (TONG *et al.*, 2015). Contudo, as principais etapas na patogênese da infecção são: colonização, virulência, início da infecção, formação de abscesso, infecção sistêmica, regulação e adaptação com a ajuda de vários fatores de virulência (ACOSTA *et al.*, 2017; SHOAIB *et al.*, 2023; WERTHEIM *et al.*, 2005).



**Figura 1. Estrutura celular e fatores patogênicos de *Staphylococcus aureus*.** *S. aureus* tem uma estrutura de parede celular complexa composta de uma camada espessa de peptidoglicano e cápsula de polissacarídeo. Além disso, *S. aureus* possui um arsenal elaborado de fatores de virulência estruturais e secretados envolvidos na produção de toxinas, aderência e invasão do tecido hospedeiro e evasão imunológica (KONG; JOHNSON; JABRA-RIZK, 2016). Imagem adaptada de KONG; JOHNSON; JABRA-RIZK (2016).

Os mecanismos para evasão da resposta imune do hospedeiro incluem a produção de uma cápsula antifagocítica, sequestro de anticorpos do hospedeiro ou mascaramento de antígeno pela proteína A, formação de biofilme, sobrevivência intracelular e bloqueio da quimiotaxia de leucócitos (OTTO, 2013b; TONG *et al.*, 2015). Dentre os diversos fatores de virulência responsáveis pelas infecções, destacam-se a α-hemolisina, β-toxina,

PSM- $\alpha$  (modulina solúvel em fenol-alfa, do inglês *Phenol-Soluble Modulin-alpha*), proteína A e a leucocidina Panton-Valentine (PVL) (DIAS; PINHEIRO; AGUIAR-ALVES, 2015). Alguns destes, estão representados na **Figura 1**, caracterizados como fatores secretados ou aderidos às membranas (KONG; JOHNSON; JABRA-RIZK, 2016).

### **2.3. Infecções estafilocócicas, imunossenescência e pele**

#### **2.3.1. Pele: Estrutura, função e mudanças ao longo do tempo**

A pele é o maior órgão do corpo, cobrindo toda a sua superfície externa, compõe aproximadamente 14% a 16% do peso corporal adulto humano (MONTEIRO-RIVIERE, 2010). Em um indivíduo de 70 kg, pesa mais de 5 kg e cobre uma área de superfície que se aproxima de 2 m<sup>2</sup> (MCGRATH; UITTO, 2024). Além disso, tem 2 camadas: epiderme e derme, que têm diferentes estruturas e funções anatômicas (YOUSEF *et al.*, 2024). Especificamente, a pele humana consiste em uma epiderme estratificada e celular e uma derme subjacente de tecido conjuntivo, separada por uma membrana basal dérmica-epidérmica. Abaixo da derme há uma camada de gordura subcutânea, que é separada do resto do corpo por uma camada vestigial de músculo estriado (ABDO; SOPKO; MILNER, 2020; MCGRATH; UITTO, 2024).

Com isso, a estrutura da pele compreende uma rede intrincada que serve como barreira inicial do corpo contra patógenos, luz ultravioleta (UV), produtos químicos e lesões mecânicas. Este órgão também regula a temperatura e a quantidade de água liberada no ambiente (YOUSEF *et al.*, 2024). Sendo, portanto, um órgão integrado e dinâmico que tem uma miríade de funções biológicas que vão muito além de seu papel como uma barreira ao ambiente externo. Ela pode servir como uma barreira ambiental protegendo os principais órgãos internos e como uma barreira de difusão que minimiza a perda insensível de água (que pode resultar em desidratação) (MONTEIRO-RIVIERE, 2010).

Logo, desempenha uma variedade de funções importantes: 1- sensorial: serve como um órgão sensorial para os sentidos cutâneos, como dor, calor, frio, pressão, toque; 2- termorregulação: funciona termicamente como um gerador de calor, absorvedor, transmissor, radiador, condutor e vaporizador (XU; LU, 2011). Por exemplo, os vasos sanguíneos se contraem para reter calor e se dilatam para dissipar calor. Já o cabelo em humanos e o pelo de mamíferos inferiores servem como dispositivos de isolamento, enquanto a transpiração facilita a perda de calor por evaporação (MONTEIRO-RIVIERE, 2010). 3- Defesa do hospedeiro: previne a entrada de corpos estranhos, como

microrganismos, e protege os tecidos subjacentes de diferentes lesões, como lesões mecânicas, de calor, frio e biológicas. 4- A pele funciona como um reservatório de nutrientes e água (XU; LU, 2011).

Apesar do citado, a função de barreira da pele a torna suscetível a várias condições inflamatórias e infecciosas. Assim, entender a sua anatomia e a sua função é crucial para o gerenciamento dessas condições (YOUSEF *et al.*, 2024). Observar estas variações desse órgão é extremamente importante em estudos envolvendo biofármacos, dermatologia, formulações, farmacologia cutânea, administração de medicamentos, penetração de nanopartículas e dermatotoxicologia (MONTEIRO-RIVIERE, 2010).

Um exemplo dessas variações é a espessura da pele, que muda de acordo com a região do corpo e com a idade (com o passar do tempo tende a ficar mais delgada) e é influenciada pela espessura das camadas epidérmica e dérmica (YOUSEF *et al.*, 2024). Um estrato córneo espesso pode ser encontrado em áreas de pele glabra, como as superfícies palmar e plantar, onde ocorre considerável ação abrasiva. Em geral, a arquitetura básica do tegumento é semelhante em todos os mamíferos. No entanto, podem existir diferenças na espessura das camadas epidérmicas e na derme em várias regiões do corpo entre espécies e dentro da mesma espécie. Uma epiderme fina pode ser encontrada em áreas onde há uma camada protetora de cabelo ou pelo (MONTEIRO-RIVIERE, 2010).

A epiderme é composta principalmente de queratinócitos e, para as camadas de células vivas, tem tipicamente 0,05 a 0,1 mm de espessura. A camada mais externa da epiderme é o estrato córneo. O estrato córneo pode ser dividido em três zonas bioquímicas e funcionais distintas: um absorvedor externo de solutos, um absorvedor médio de água para hidratação e uma barreira de defesa mecânica interna. Outras células na epiderme são os melanócitos (MCGRATH; UITTO, 2024). Os melanócitos são células, caracterizadas por projeções ou ramificações que lhes permitem distribuir pacotes de pigmento de melanina, denominados melanossomas, aos queratinócitos circundantes, conferindo cor à pele. A variedade de aparências da pele é determinada pela natureza da melanina e pelo tamanho dos melanossomas. Os melanócitos produzem principalmente dois tipos de melanina: eumelanina e feomelanina. A eumelanina é marrom-escura e é o pigmento primário para proteção contra radiação ultravioleta (RUV). Em contraste, a feomelanina é amarelo-avermelhada e é mais suscetível a danos induzidos por RUV (CUI; MAN, 2023).

A derme, localizada entre a epiderme e o tecido subcutâneo, atua como uma matriz de sustentação para a pele. Composta por uma rede de polissacarídeos e proteínas, ela confere resiliência e retém a hidratação. Sua espessura varia entre 0,5 mm e 5 mm, dependendo da região do corpo (BROWN; KRISHNAMURTHY, 2022). Estruturalmente, a derme é fibrosa, rica em colágeno, tecido elástico e outros componentes extracelulares, como vasos sanguíneos, nervos, folículos capilares e glândulas. Ela desempenha papéis cruciais no suporte, proteção e termorregulação. As células predominantes na derme são os fibroblastos. O colágeno, principal proteína da matriz extracelular, representa 80-85% do peso seco da derme, sendo essencial para sua integridade (MCGRATH; UITTO, 2024).

O envelhecimento da pele, um fenômeno multifacetado, envolve alterações estruturais (diminuição do colágeno, redução da espessura) e funcionais (ressecamento, rugas). Este processo é mediado por radicais livres, inflamação, fotoenvelhecimento e fatores metabólicos (HE; GAO; XIE, 2024). O envelhecimento cronológico, especificamente, compromete a síntese lipídica, resultando em maior perda de água transepidermica e consequente desidratação. Morfológicamente, a junção dermoepidérmica se achata e a derme sofre atrofia (GRIFFITHS; WATSON; LANGTON, 2023). Em relação às proteínas da matriz extracelular, o envelhecimento intrínseco causa uma redução e menor solubilidade do colágeno, enquanto a elastina se degrada e acumula danos (LEE; OH; CHUNG, 2016).

Com o avançar da idade, observa-se um aumento no dobramento de proteínas e uma menor interação destas com a água. Adicionalmente, embora haja um aumento de glicosaminoglicanos na pele envelhecida, sua deposição anormal no material elástico impede uma hidratação eficaz. Consequentemente, a água na pele envelhecida tende a formar estruturas tetraédricas, ligando-se a si mesma em vez de outras moléculas (WALLER; MAIBACH, 2006). Além do mais, o envelhecimento resulta em diminuição da capacidade funcional da pele, manifestando-se como atenuação do seu efeito protetor e disfunção imunológica, conforme descrito acima. Assim, infecções oportunistas da pele são mais comuns em pacientes longevos, assim como o desenvolvimento de feridas crônicas que servem como portais para entrada e crescimento de agentes infecciosos (RUSSELL-GOLDMAN; MURPHY, 2020).

### **2.3.2. Infecções estafilocócicas na pele e imunossenescênciа**

A imunossenescência, disfunção imunológica associada ao envelhecimento, leva a um aumento da suscetibilidade a infecções (HU *et al.*, 2023). De tal modo, indivíduos longevos representam a população com maior risco e pior prognóstico para doenças infecciosas (FALCONE; TISEO, 2023). Estas incluem o alto risco de infecções de pele e tecidos moles devido a vários fatores, como múltiplas comorbidades e condições de pele que os predispõem a desenvolvê-las. Tais condições são geralmente causadas por *S. aureus*, incluindo cepas de *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA) (MARIO VENDITTI *et al.*, 2003; NELOSKA *et al.*, 2016). Alterações na consistência da pele e a própria imunossenescência predispõem a esses fatores de risco (MENEGUIN; TORRES; POLLO, 2020).

Somadas a estas alterações, na matriz dérmica, tem-se ainda a atrofia, senescência de células dérmicas (como fibroblastos) e diminuição da síntese e degradação acelerada das fibras de colágeno dérmico como fatores que aumentam a suscetibilidade a infecções cutâneas. Além disso, apresentam alta frequência de condições associadas à fragilidade da pele, como edema e trauma (FALCONE; TISEO, 2023; LEE; HONG; KIM, 2021). O envelhecimento do sistema imunológico leva à desregulação das respostas imunes, comprometendo a defesa da pele contra agressões externas (DE MARTINIS; SIRUFO; GINALDI, 2017; HE; GAO; XIE, 2024). Isso inclui deficiências na fagocitose e diminuição da produção, ativação e função dos linfócitos T e B, entre outros efeitos. As bactérias exploram a imunossenescência usando vários fatores de virulência para escapar das defesas do hospedeiro, levando a infecções graves e frequentemente fatais (CHAMBERS; VUKMANOVIC-STEJIC, 2020; THEODORAKIS *et al.*, 2024).

Portanto, o sistema imunológico da pele, uma parte indispensável do mecanismo de defesa do corpo, compreende inúmeras células (HE; GAO; XIE, 2024). As células imunes residentes no tecido da pele são altamente variadas e compreendem células T  $\alpha\beta$  e  $\gamma\delta$ , células dendríticas (CDs), mastócitos e macrófagos, bem como uma população de um subconjunto imune inato de células da linhagem linfoide, chamadas de células linfoïdes inatas (CLIs) (FUCHS; BLAU, 2020; MCGRATH; UITTO, 2024). Estas células desempenham um papel fundamental na manutenção da homeostase da pele e na resposta a lesões ou infecções (HE; GAO; XIE, 2024). Além do mais, a imunidade de barreira da pele é composta por células estromais, como queratinócitos e adipócitos, e células imunes, como células de Langerhans (CLs) e células T de memória residentes ( $T_{rm}$ ),

trabalhando em conjunto para impedir a entrada de patógenos e lidar com desafios físicos e químicos contínuos (CHAMBERS; VUKMANOVIC-STEJIC, 2020).

As células imunes residentes na epiderme que podem iniciar uma resposta imune local são as CLs, mas seu número diminui com a idade e elas mostram uma capacidade reduzida de migrar para os gânglios linfáticos. Ademais, as CLs na pele envelhecida expressam menos  $\beta$ -defensina humana epidérmica (HBD)-3 (do inglês, *Human  $\beta$ -defensin 3*), que é um importante peptídeo antimicrobiano para uma resposta a infecções. A deficiência de CLs na pele envelhecida reduz a defesa contra infecções microbianas, o que explica a maior prevalência de infecções bacterianas em longevos, especialmente por *S. aureus* e estreptococos  $\beta$ -hemolíticos (BOCHEVA; SLOMINSKI; SLOMINSKI, 2021).

Normalmente, a invasão por microrganismos desencadeia uma resposta rápida dos fagócitos do sistema imunológico inato (como os neutrófilos, por exemplo), células *natural killer* (NK) e mecanismos de defesa química, juntamente com a inflamação de suporte. A fagocitose do microrganismo facilita a apresentação do antígeno por meio de macrófagos especializados, que iniciam a resposta imune adaptativa (à exemplo, mediadas por linfócitos T $\gamma\delta$ ) (FEEHAN; TRIPODI; APOSTOLOPOULOS, 2021; MCGRATH; UITTO, 2024). Na transição para a resolução da resposta imune, as células T regulatórias (Treg) desempenham um papel crucial, induzindo a formação de células de memória e modulando a resposta inata. Elas promovem a mudança de macrófagos M1 para M2, auxiliando na resolução da inflamação e para o reparo tecidual. No entanto, o envelhecimento pode comprometer essas funções imunológicas, resultando em desregulação (COVRE *et al.*, 2020).

Portanto, à medida que a população envelhece, é fundamental entender as transformações da pele e como elas afetam a função de barreira imunológica (CHAMBERS; VUKMANOVIC-STEJIC, 2020). Com o progresso da idade, juntamente com vários estímulos ambientais internos e externos, as células imunológicas da pele podem sofrer senescênciia ou envelhecimento acelerado, caracterizado pela redução da capacidade de divisão celular, aumento da mortalidade, alterações nos padrões de expressão gênica e vias de sinalização e funções alteradas das células imunológicas. Essas mudanças impactam coletivamente a função geral do sistema imunológico (HE; GAO; XIE, 2024). O sistema imunológico humano consiste em uma interação fortemente

orquestrada entre a imunidade inata e adaptativa, com a imunossenescênciia tendo impactos deletérios em ambas (FEEHAN; TRIPODI; APOSTOLOPOULOS, 2021).

### **2.3.3. A importância dos neutrófilos contra *S. aureus* e como sua atividade é comprometida em indivíduos longevos**

O corpo humano possui fagócitos especializados, como neutrófilos, macrófagos e células dendríticas, que englobam microrganismos invasores (DEY; BISHAYI, 2016). Dentre eles, os neutrófilos são os leucócitos mais abundantes no sangue e representam a primeira linha de defesa contra bactérias que rompem as barreiras epiteliais. A principal função dos neutrófilos é responder rapidamente a estímulos químicos, em um processo chamado quimiotaxia (AIELLO *et al.*, 2022). Isso permite que sejam rapidamente recrutados para locais de infecção, atraídos por citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias (como IL-1, IL-8 e TNF- $\alpha$ ) liberadas por macrófagos residentes nos tecidos, células endoteliais e outras células, dependendo do local da invasão microbiana (KUMAR; SHARMA, 2010). O tráego de neutrófilos da circulação para locais de inflamação é um processo altamente regulado que envolve interações com as paredes vasculares e sinais quimiotáticos locais, conforme já mencionado (VAN AVONDTE *et al.*, 2023).

Após a migração para um local de infecção, os neutrófilos envolvem e expõem microrganismos invasores a peptídeos e proteínas antimicrobianas, bem como espécies reativas de oxigênio (EROs), como parte de seu arsenal bactericida (GUERRA *et al.*, 2017). Uma vez que essas células se infiltram nos tecidos inflamados, elas medeiam a eliminação de patógenos por meio da fagocitose, formação de armadilha extracelular (NET) e da liberação de proteínas antimicrobianas de seus grânulos intracelulares (CROOKE *et al.*, 2019; VAN AVONDTE *et al.*, 2023). Portanto, idealmente, os neutrófilos ingerem bactérias para evitar danos às células e tecidos circundantes, matam microrganismos invasores com mecanismos antimicrobianos, sofrem morte celular programada (apoptose) para minimizar a inflamação e são eliminados por macrófagos (GUERRA *et al.*, 2017). Entretanto, apesar de serem células naturalmente de vida curta; sinais inflamatórios podem prolongar sua vida útil (CROOKE *et al.*, 2019).

Desde sua descoberta, *S. aureus* tem se mostrado um inimigo formidável dos neutrófilos, cuja eliminação eficaz é crucial para um resultado positivo da infecção. No entanto, o *S. aureus* desenvolveu mecanismos sofisticados para evadir a morte induzida por neutrófilos. Esses mecanismos incluem a modulação e evasão de processos bactericidas essenciais, como *priming*, ativação, quimiotaxia, produção de EROS e

resolução da infecção. Além disso, o microrganismo utiliza sistemas sensoriais e regulatórios para adaptar a produção de fatores de virulência em resposta a sinais de gatilho específicos, como a presença de neutrófilos e defensinas (GUERRA *et al.*, 2017).

As funções clássicas dos neutrófilos descritas acima podem ser dramaticamente alteradas durante o curso do envelhecimento (CROOKE *et al.*, 2019). No processo de envelhecimento, os neutrófilos contribuem para o *inflammaging* devido à sua capacidade de reconhecer padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs, do inglês *Pathogen-Associated Molecular Patterns*), padrões moleculares associados a danos (DAMPs, do inglês *Damage-Associated Molecular Patterns*) e/ou detritos celulares liberados após a entrada do patógeno por meio de seus receptores de reconhecimento de padrões (PRRs, do inglês *Pattern Recognition Receptors*). Em indivíduos mais velhos, isso leva a um aumento na produção de mediadores pró-inflamatórios e à exacerbação do processo de *inflammaging* (AIELLO *et al.*, 2022; CARUSO *et al.*, 2022).

Além de contribuírem para esse processo inflamatório, crônico e de baixo grau, os neutrófilos são menos equipados para erradicar patógenos. Isso ocorre, pois, essas células, com o passar da idade, apresentam menor expectativa de vida, capacidades reduzidas para quimiotaxia, fagocitose, formação de NET e geração de EROs após estimulação (embora os neutrófilos de longevos constitutivamente produzam e secretem níveis mais altos de EROs) (VAN AVONDТ *et al.*, 2023). O envelhecimento parece promover uma capacidade quimiotática disfuncional nos neutrófilos, o que altera tanto a disseminação quanto a obtenção do local do dano. Defeitos na quimiotaxia e, consequentemente, na capacidade de atingir o local do dano, levam à distribuição alterada de neutrófilos, o que também prejudica o reconhecimento e a eliminação de patógenos (AIELLO *et al.*, 2022). Alterações na sinalização celular também desempenham um papel central na manutenção da homeostase dessas células (CROOKE *et al.*, 2019).

A quimiotaxia deficiente dos neutrófilos está associada à cicatrização de feridas prejudicada durante o envelhecimento (BRUBAKER *et al.*, 2013). Paradoxalmente, o envelhecimento pode levar, também, ao excesso de neutrófilos e à inflamação. Em estudos *in vivo*, a migração descontrolada de neutrófilos em camundongos senescentes está associada à produção anormal de substâncias inflamatórias ou à redução dos mecanismos anti-inflamatórios (VAN AVONDТ *et al.*, 2023). Os defeitos na eliminação de patógenos e na cicatrização de feridas mediados por neutrófilos podem resultar da expressão alterada de receptores *toll-like* (TLRs) e da diminuição da expressão do

complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês *Major Histocompatibility Complex*) classe II, bem como do aumento de EROs e da diminuição da expressão de CD16 ( $Fc\gamma RIIIA$ ). A redução de CD16 compromete a opsonização de patógenos mediada por complemento e imunoglobulina, e prejudica a capacidade dos neutrófilos de formar NETs (DREW; WILSON; SAPEY, 2018; OH; LEE; SHIN, 2019).

Em suma, esses achados indicam que o envelhecimento prejudica as funções dos neutrófilos, diminuindo a proteção contra infecções. Estudos em camundongos senescentes confirmam essa redução na capacidade dos neutrófilos de eliminar microrganismos. No entanto, algumas pesquisas anteriores mostraram que a fagocitose e a morte intracelular podem ser preservadas em animais senescentes. Portanto, são necessários mais estudos para elucidar completamente os mecanismos pelos quais o envelhecimento afeta a função dos neutrófilos e para desenvolver estratégias que possam mitigar o impacto negativo da idade na imunidade (TEISSIER; BOULANGER; COX, 2022; VAN AVONDТ et al., 2023).

#### **2.3.4. O papel das citocinas na resposta imune à infecção por *S. aureus* na pele de indivíduos mais velhos**

O desequilíbrio entre mecanismos inflamatórios e anti-inflamatórios em um fenótipo de envelhecimento causa uma inflamação estéril crônica de baixo grau, denominada estado de “*inflammaging*” (CEVENINI; MONTI; FRANCESCHI, 2013; MINCIULLO et al., 2016). De fato, evidências de estudos em humanos indicam que os longevos têm altas concentrações séricas basais de citocinas pró-inflamatórias (BRUUNSGAARD et al., 1999; FAGIOLO et al., 1993; FERRUCCI et al., 2005; GALANTINI et al., 2022; GONÇALVES et al., 2022). O *inflammaging* é resultado tanto da estimulação crônica de抗ígenos ao longo dos anos quanto da exposição contínua ao estresse oxidativo causado por radicais livres e produção de toxinas (BOCHEVA; SLOMINSKI; SLOMINSKI, 2021).

Durante uma infecção, neutrófilos e citocinas desempenham papéis cruciais na resposta imune. Contudo, o envelhecimento, marcado pela imunossenescência e *inflammaging*, compromete essa eficácia (LI et al., 2023b). Observa-se uma disfunção na atividade fagocítica dos neutrófilos, juntamente com um fenótipo ativado, caracterizado pela alta expressão de CD11b e aumento da produção de EROs, ambos correlacionados com níveis elevados de TNF- $\alpha$  (LORD et al., 2001; VAN AVONDТ et al., 2023; VERSCHOOR et al., 2015). Paralelamente, o sistema imune senescente exibe

hiporresponsividade a infecções, com uma produção exacerbada de citocinas inflamatórias (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6), originadas principalmente da imunidade inata (BOCHEVA; SLOMINSKI; SLOMINSKI, 2021).

A imunidade adaptativa também sofre declínio, evidenciado pela redução de células T naïves, comprometendo a resposta a novos抗ígenos e a produção de anticorpos (HU *et al.*, 2023). A senescência linfocitária, associada à perda de marcadores de superfície e encurtamento de telômeros, resulta na diminuição da produção de IL-2, essencial para a proliferação celular, e na exaustão funcional das células T (BOCHEVA; SLOMINSKI; SLOMINSKI, 2021; FESSLER *et al.*, 2013). Na pele envelhecida, células T efetoras e DCs mieloides senescentes contribuem para um ambiente pró-inflamatório, com secreção aumentada de TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e IL-6 (CHAMBERS; VUKMANOVIC-STEJIC, 2020; PAPA *et al.*, 2023; PILKINGTON *et al.*, 2021). Curiosamente, há um aumento no número de células Treg, que suprimem a resposta imune via IL-10, especialmente após exposição à radiação UV (BOCHEVA; SLOMINSKI; SLOMINSKI, 2021).

### **2.3.5. *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA)**

### **2.3.6. Mecanismo de resistência de MRSA**

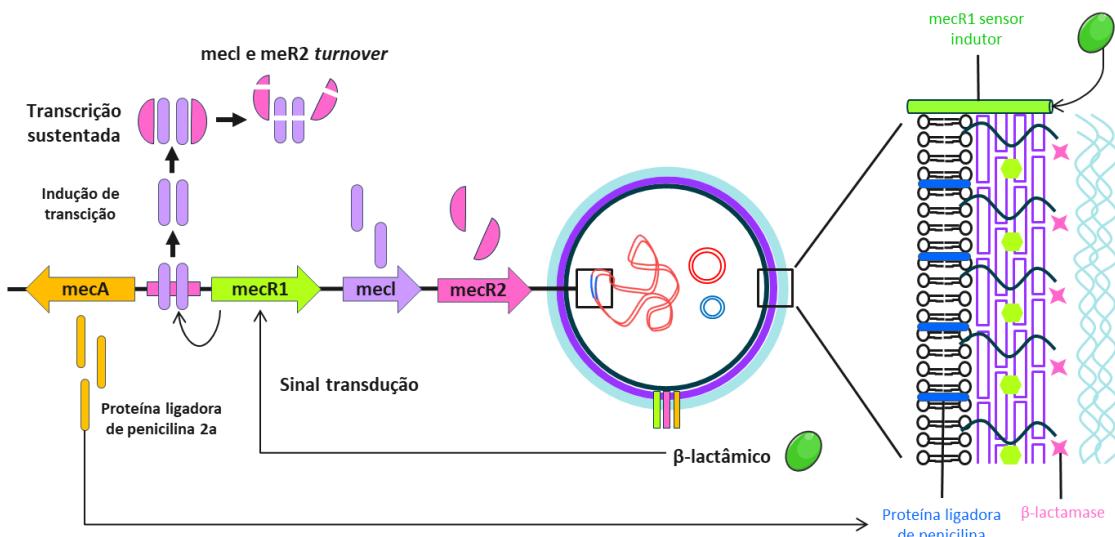
As bactérias desenvolvem resistência a antibióticos por diversos mecanismos, entretanto, existem três mecanismos básicos que permitem que isso ocorra: 1- Degradação enzimática de medicamentos antibacterianos, 2- Alteração de proteínas bacterianas que são alvos antimicrobianos, 3- Alterações na permeabilidade da membrana a agentes antibióticos (KARTIK SHAW; SAHANA MAZUMDER, 2022). A resistência de MRSA, ocorre, principalmente, pelo terceiro mecanismo abordado. Todavia, mais de 95% das cepas de MRSA também têm uma enzima  $\beta$ -lactamase, que confere resistência à penicilina (ARÊDE; MINISTRO; OLIVEIRA, 2013).

Em 1981, o mecanismo de resistência à meticilina foi elucidado com a detecção de PBPs (proteínas de ligação à penicilina, do inglês *penicillin binding protein*) de afinidade reduzida em MRSA (HARTMAN; TOMASZ, 1981). Os antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, incluindo a penicilina, impedem o crescimento bacteriano ao bloquear a síntese da parede celular. As PBPs, enzimas bacterianas como as transpeptidases, desempenham um papel crucial na construção da parede celular, catalisando a ligação cruzada das cadeias de peptidoglicano (BLUMBERG; STROMINGER, 1974;

STAPLETON; TAYLOR, 2002). Portanto, as PBPs representam o alvo primário desses antibióticos (GHOOI; THATTE, 1995; TOMASZ, 1979).

A resistência à meticilina em MRSA é conferida pelo gene *mecA*, que codifica a proteína PBP2a (proteína de ligação à penicilina 2a) (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2018), esta proteína não está presente em cepas suscetíveis e acredita-se que tenha sido adquirida de uma espécie distivamente relacionada (HIRAMATSU *et al.*, 2001). A PBP-2a tem uma afinidade menor para se ligar a beta-lactâmicos, então, continua a catalisar a síntese da parede celular bacteriana mesmo na presença de muitos antibióticos (DEVER, 1991; HOU *et al.*, 2023; UDDIN *et al.*, 2021).

O gene que codifica a PBP2a é transportado pelo elemento genético móvel SCCmec (SCC do inglês *Staphylococcal cassette chromosome*), com diferentes formas genéticas (ENRIGHT *et al.*, 2002). A expressão do *mecA* é regulada por um mecanismo complexo envolvendo as proteínas *mecR1*, *mecI* e *mecR2* (DERESINSKI, 2005), conforme descrito na **Figura 2**. A exposição a antibióticos  $\beta$ -lactâmicos ativa o *MecR1*, que cliva o *mecI*, liberando a transcrição do *mecA*. A co-regulação positiva garante a indução contínua do *mecA* na presença do antibiótico (ARÊDE *et al.*, 2012; HOU *et al.*, 2023).



**Figura 2. Modelo para a indução de *mecA* por MecR1-MecI-MecR2.** Na presença de um antibiótico  $\beta$ -lactâmico, MecR1 é ativado e rapidamente induz a expressão de *mecA* e *mecR1-mecI-mecR2*. A atividade antirrepressora de MecR2 é essencial para sustentar a indução de *mecA*, uma vez que promove a inativação de MecI por clivagem proteolítica. Na ausência de  $\beta$ -lactâmicos, MecR1 não é ativado e um estado estável é estabelecido com dímeros MecI estáveis ligados ao promotor *mecA* e cópias residuais de MecR1 na membrana celular (ARÊDE *et al.*, 2012). Imagem adaptada de ARÊDE *et al.*, 2012, autoria própria.

### **2.3.7. Antibióticos para tratamento de MRSA: Desafios e interesse internacional por novos tratamentos**

Infecções graves causadas por bactérias resistentes aos antibióticos, comumente usados na prática clínica, surgiram como um problema de saúde global no século XXI. O cenário atual de resistência antimicrobiana, um desafio complexo e multifatorial, é preocupante e tende a progredir para o que a Organização Mundial da Saúde chama de “era pós-antibióticos”, um cenário iminente (ROMERO; DE SOUZA DA CUNHA, 2021). Como uma bactéria resistente de rápida evolução, MRSA, representa uma ameaça significativa à saúde global. Sua alta toxicidade e a complexidade do tratamento de suas infecções são agravadas pela sua adaptabilidade genética, que impulsiona o surgimento de cepas epidêmicas. Através da otimização de seu conteúdo genético, este microrganismo desenvolveu cepas hipervirulentas e multirresistentes, desafiando os protocolos terapêuticos convencionais (HOU *et al.*, 2023).

Dessa forma, a Organização Mundial da Saúde classifica o *S. aureus* como uma prioridade crítica para o desenvolvimento urgente de novos antibióticos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2024). A disseminação global de clones pandêmicos de MRSA agrava essa urgência, especialmente, em países em desenvolvimento, onde a infraestrutura para diagnóstico de resistência antimicrobiana é precária, o acesso a antibióticos eficazes é limitado e as políticas de controle de infecção hospitalar são insuficientes. Além disso, a facilidade de acesso a antibióticos sem prescrição em muitas regiões tropicais contribui significativamente para o aumento da resistência bacteriana (NICKERSON *et al.*, 2009).

A resistência do MRSA a múltiplos fármacos, incluindo penicilina, aminoglicosídeos, tetraciclinas, macrolídeos e quinolonas, classifica-o como uma “superbactéria”. A resistência do MRSA é impulsionada por mecanismos complexos, como mutações genéticas, formação de biofilmes e bombas de efluxo de fármacos, o que exige o desenvolvimento urgente de novas estratégias terapêuticas (HOU *et al.*, 2023). A escolha do tratamento para infecções por *S. aureus* é determinada pelo tipo de infecção e pela presença de resistência a antibióticos. Em casos de cepas sensíveis à meticilina (MSSA), a penicilina permanece como a primeira linha de tratamento. Para cepas de MRSA, a vancomicina é geralmente preferida (BOUCHER; COREY, 2008). A duração e o modo de administração da terapia antimicrobiana variam conforme a gravidade da

infecção e outros fatores clínicos. Em algumas situações, terapias adjuvantes podem ser necessárias para otimizar os resultados do tratamento (TONG *et al.*, 2015).

Dada a urgência por novas terapias contra a resistência a medicamentos, a pesquisa translacional é fundamental. A progressão para ensaios clínicos requer modelos animais robustos e estudos clínicos controlados. A prevenção e o tratamento de infecções por MRSA são áreas de pesquisa prioritárias (HOU *et al.*, 2023). À luz dessas questões, a Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (TFDa) emerge como uma alternativa promissora para o tratamento de infecções bacterianas multirresistentes (WONG *et al.*, 2018). Estudos demonstraram a eficácia da TFDa na redução de colônias de MRSA em modelos cutâneos, abrindo caminho para o desenvolvimento de novas estratégias a serem utilizadas para minimizar o impacto global de MRSA (ALMEIDA *et al.*, 2017; DOS SANTOS *et al.*, 2019a, 2019b, 2020; MUNIZ *et al.*, 2021).

## **2.4. Terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDa)**

### **2.4.1. Conceito**

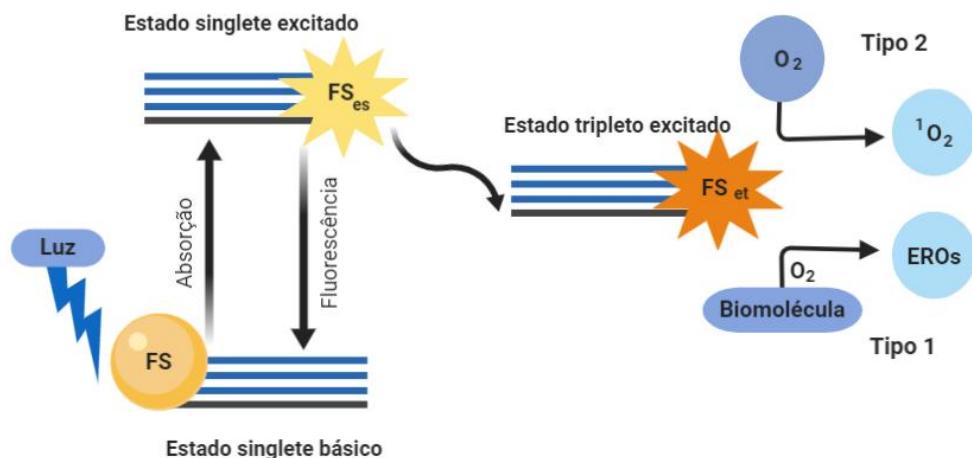
O poder de cura pela luz atrai interesse há milhares de anos. Descobertas científicas e avanços tecnológicos no campo, eventualmente, levaram ao surgimento da terapia fotodinâmica, que logo se tornou uma abordagem promissora no tratamento de uma ampla gama de doenças (NICULESCU; GRUMEZESCU, 2021). A Terapia fotodinâmica (TFD) é uma tecnologia, moderna e não-invasiva, que tem sido utilizada para tratamento e controle de diversas doenças que podem ou não ser ocasionadas por microrganismos (ALLAMYRADOV *et al.*, 2024; CORREIA *et al.*, 2021; GHOLAMI *et al.*, 2023; JIANG *et al.*, 2023).

Essa tecnologia utiliza a combinação de um fotossensibilizador, luz e oxigênio molecular para a destruição seletiva de um determinado alvo biológico (MEEROVICH *et al.*, 2019). A combinação de corantes não tóxicos chamados fotossensibilizadores (FS) e luz, na presença de oxigênio, produz compostos reativos, capazes de agir seletivamente no tecido (MARCOLAN DE MELLO *et al.*, 2019). A TFD tem sido usada com sucesso em dermatologia, oncologia, ginecologia e urologia (MICHALAK *et al.*, 2023). É usada, também, no tratamento da inflamação crônica e é uma alternativa interessante no tratamento de infecções bacterianas resistentes a medicamentos (GRANDI *et al.*, 2022; KWIATKOWSKI *et al.*, 2018; MI *et al.*, 2023).

### **2.4.2. Mecanismos de ação**

O mecanismo molecular da TFD é baseado na ação de três componentes não tóxicos, dentre os quais: o fotossensibilizador (FS); a luz com o comprimento de onda apropriado e o oxigênio dissolvido nas células (ALVAREZ; SEVILLA, 2024; YOUNUS *et al.*, 2024). Existem dois mecanismos principais da reação fotodinâmica. Ambos são intimamente dependentes das moléculas de oxigênio dentro das células. O primeiro estágio de ambos os mecanismos é semelhante (AEBISHER; SZPARA; BARTUSIK-AEBISHER, 2024).

Um fotossensibilizador, depois de entrar na célula, é irradiado com um comprimento de onda de luz que coincide com a sua absorção de luz (**Figura 3**). A partir de então o FS é convertido do estado *singlete* básico de energia para o estado *singlete* excitado ( $FS_{es}$ ), por causa da absorção de fôtons (KWIATKOWSKI *et al.*, 2018). Parte da energia é irradiada na forma de um *quantum* de fluorescência. A energia restante direciona uma molécula do fotossensibilizador para o estado triplexo excitado ( $FS_{et}$ ), a forma terapêutica adequada do composto (MAHARJAN; BHATTARAI, 2022).



**Figura 3. Desenho esquemático dos mecanismos de ação da Terapia Fotodinâmica.** O fotossensibilizador (FS), quando submetido à luz, absorve energia e passa do seu estado básico (FS) para o seu estado *singlete* ( $FS_{es}$ ). Posteriormente, parte da energia é irradiada sob forma de fluorescência. Assim, o fotossensibilizador passa do seu estado *singlete* ( $FS_{es}$ ) para o estado triplexo ( $FS_{et}$ ). Neste estado o FS pode reagir com biomoléculas e oxigênio, formando Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) e Oxigênio tripleto ( $^1O_2$ ), altamente reativo. Imagem criada no BioRender. Adaptado de CALIXTO *et al.*, 2016.

Assim, após um cruzamento entre sistemas, o FS, agora em um estado excitado por um triplexo, pode reagir de duas maneiras: 1- com biomoléculas através de uma transferência de átomo de hidrogênio (elétron) para formar radicais, que reagem com oxigênio molecular para gerar ERO (reação tipo I); ou, 2- o FS em seu estado triplexo

pode reagir diretamente com o oxigênio através da transferência de energia, gerando oxigênio *singlete* (reação tipo II) (CALIXTO *et al.*, 2016).

Nas reações do tipo I, o FS no estado triplexo excitado reage com biomoléculas (isto é, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos), transferindo átomos de hidrogênio através do mecanismo radical (BAPTISTA *et al.*, 2021). Ele gera radicais livres e íons radicais (independentes do tipo radical na molécula alvo, isto é, lipídios, proteínas ou ácidos nucléicos) que reagem com o oxigênio, resultando na geração de espécies reativas de oxigênio (ALFEI *et al.*, 2024). As reações do tipo II são baseadas em um fenômeno chamado aniquilação de triplexo-triplexo (FORECAST *et al.*, 2023). Nessas reações, o FS em seu estado triplexo excitado reage com o oxigênio em seu estado fundamental triplexo. Isto produz um agente oxidante *singlete* que é altamente reativo e citotóxico (GULATI; GULATI; KUMAR, 2022).

Ambos os tipos de reações ocorrem simultaneamente, e o equilíbrio entre elas é determinado pelo FS utilizado, pelas concentrações de oxigênio e substrato, e pela afinidade do FS-substrato (PRZYGODA *et al.*, 2023). A TFD afeta diretamente apenas os substratos biológicos próximos à região onde essas espécies são geradas, geralmente em um raio de 20 nanômetros. Portanto, a localização do FS é um fator primário nos estudos de liberação de medicamentos para atingir os tecidos, porque a seletividade promove a sensibilização localizada (CALIXTO *et al.*, 2016).

#### **2.4.3. Fontes de luz**

No início da TFD, utilizavam-se lâmpadas convencionais, que geravam luz não coerente e policromática. A introdução do laser como fonte de luz representou um avanço significativo, demonstrando maior eficiência (GUTKNECHT; EDUARDO, 2004). O uso de LEDs (do inglês *Light Emitting Diodes*) como fontes de luz foi o passo seguinte no desenvolvimento tecnológico da terapia de luz (VO-DINH, 2014). Os LEDs emitem luz por meio da movimentação de elétrons através de diferentes materiais semicondutores, produzindo uma emissão espontânea de fôtons não coerentes (BACCARI *et al.*, 2017). Os lasers precisam de uma grande quantidade de energia para sua geração enquanto os LEDs necessitam de pouca energia para geração de luz (MIRZA; KHATRI, 2017).

Uma diferença significativa entre os lasers e os LEDs é a forma como a energia de luz é levada (saída de potência óptica-OPD) (BAROLET, 2008). Os LEDs fornecem um mesmo comprimento de onda de luz suave em comparação com os lasers e com uma saída de energia substancialmente menor. Não levam energia suficiente para danificar os

tecidos e não tem o mesmo risco de danos accidentais oftálmicos que os lasers oferecem (OPEL *et al.*, 2015). Os LEDs dispersam ao longo de uma maior superfície de área que os lasers podendo ser usada em grandes áreas resultando em menor tempo de tratamento (BAROLET, 2008).

Os efeitos biológicos dependem dos parâmetros de irradiação, tais como comprimento de onda, dose, intensidade, tempo de irradiação (tempo de tratamento), onda contínua ou de modo cursado e por último o padrão de pulsação (BRANCALEON, 2002). A luz é medida em comprimentos de onda e expressa em unidades de nanômetros (nm). Comprimentos de ondas são frequentemente designados de acordo com sua cor associada e incluem azul (400-700nm), verde (470-550nm), vermelho (630-700nm) e infravermelho (700-1200nm). Em geral, quanto maior o comprimento de onda mais profunda é a penetração tecidual (BAROLET, 2008).

#### **2.4.4. Fotossensibilizadores**

A estrutura ideal do FS é muito diferente entre medicamentos anticâncer e antimicrobianos. Os FS anticâncer tendem a ser lipofílicos com pouca ou nenhuma carga geral (positiva ou negativa). Os FS antimicrobianos, por outro lado, tendem a ter cargas catiônicas pronunciadas. Em muitos casos, quanto mais cargas, melhor, especialmente para o direcionamento de bactérias gram-negativas (MARTINEZ DE PINILLOS BAYONA *et al.*, 2017). Para terapias anticâncer, FS eficazes devem absorver luz em comprimentos de onda longos (infravermelho próximo) para penetrar tecidos. Em terapias antimicrobianas, essa característica é menos crucial, pois as infecções tratadas são geralmente superficiais (NARDINI *et al.*, 2019).

No caso das bactérias, está bem documentado que a TFD é mais eficaz no tratamento de espécies gram-positivas do que espécies gram-negativas, devido às diferentes estruturas fundamentais da parede celular (WONG *et al.*, 2018). A membrana das bactérias gram-positivas é cercada por uma camada relativamente porosa de peptidoglicano e ácido lipoteicóico que permite que o fotossensibilizador atravesse mais rapidamente. Comparadas às bactérias gram-positivas, as bactérias gram-negativas possuem uma parede celular relativamente impermeável que dificulta a penetração efetiva do fotossensibilizador (HAMBLIN, 2016).

Dessa forma, estudos recentes concentraram-se no desenvolvimento e eficácia de novos fotossensibilizadores (ZHANG *et al.*, 2018). Os pré-requisitos para um sensibilizador ideal incluem: pureza química, seletividade, estabilidade química e física,

curto intervalo de tempo entre a administração, acúmulo máximo dentro do alvo e ativação em comprimentos de onda com ótima penetração tecidual (ROBERTSON; EVANS; ABRAHAMSE, 2009). As principais classes de fotossensibilizadores exibem diferentes fotoquímicos e propriedades fotofísicas em termos de mecanismos de ação e ativação da luz. Dentre estas tem as estruturas de tetrapirrole, corantes sintéticos e produtos naturais (NYMAN; HYNNINEN, 2004).

## **2.5. Extratos de *Passiflora* como fotossensibilizadores: propriedades fitoquímicas e farmacológicas**

### **2.5.1. *Passiflora***

O gênero *Passiflora* abrange cerca de 630 espécies distribuídas em 17 subgêneros, com reconhecido potencial farmacológico, ornamental, industrial e alimentar (FONSECA; RIBEIRO VENIAL; MAURI BERNARDES, 2019). As plantas são trepadeiras lenhosas perenes, da família Passifloraceae e são amplamente distribuídas na América tropical, Ásia e África (SANTOS *et al.*, 2012). O maracujá e seus subprodutos são ricos em uma variedade de compostos químicos e nutricionais, incluindo polifenóis, polissacarídeos, pectina, carotenoides e vitaminas (ZHANG *et al.*, 2023).

Consequentemente, as atividades farmacológicas do maracujá estão intimamente ligadas aos seus componentes bioativos, como polifenóis, triterpenos, flavonoides e polissacarídeos. Nos últimos anos, diversas revisões têm abordado o valor nutricional, a fitoquímica e a farmacologia do gênero *Passiflora* (FONSECA *et al.*, 2022; HE *et al.*, 2020; KAWAKAMI *et al.*, 2021). Entretanto, observa-se uma escassez de revisões que explorem os usos potenciais de todas as frações do maracujá (casca, polpa e sementes) e suas respectivas propriedades fitoquímicas e atividades biológicas (ZHANG *et al.*, 2023). Tradicionalmente, o gênero *Passiflora* tem sido empregado no tratamento da ansiedade e como antidepressivo (AYRES *et al.*, 2017).

Os flavonoides por serem os principais constituintes químicos de espécies de *Passiflora*, podem servir como marcadores químicos do gênero (GARCIA *et al.*, 2024). Estudos recentes têm demonstrado a capacidade de certos compostos, incluindo flavonoides presentes no extrato da jabuticaba, de possuírem atividade fotodinâmica (DOS SANTOS *et al.*, 2019b, 2019a, 2020). Assim, a investigação de novos compostos assume fundamental importância na descoberta de potenciais fotossensibilizadores, os quais podem ser apropriados para controlar infecções causadas por bactérias resistentes a

antibióticos (DOS SANTOS *et al.*, 2020). Contudo, não há registro de pesquisas que avaliem a capacidade fotossensibilizadora de espécies do gênero *Passiflora*.

### **2.5.2. *Passiflora edulis***

A principal espécie, *Passiflora edulis* (*P. edulis*), é comumente conhecida como “maracujá” e se tornou popular devido à sua importância econômica e medicinal (ZHANG *et al.*, 2023). No Brasil, o maracujá amarelo é mais comumente utilizado para fazer remédios populares, como tinturas ou pílulas. Em países como Estados Unidos e Europa, as folhas de *P. edulis* são usadas como sedativo ou tranquilizante (HOLANDA *et al.*, 2020). Em ratos, extratos de folhas de maracujá amarelo (*P. edulis*) apresentaram efeito antidepressivo semelhante a Nortriptilina e Fluoxetina, possivelmente devido aos flavonoides (AYRES *et al.*, 2017). Nas últimas décadas, esforços consideráveis foram dedicados ao estudo farmacológico de *P. edulis*, vários extratos, suco de fruta e compostos isolados mostraram uma ampla gama de atividades biológicas, como efeitos antioxidantes (DOS SANTOS *et al.*, 2023; SUK JEONG *et al.*, 2022), anti-inflamatórios (SUK JEONG *et al.*, 2022), antitumorais (NASCIMENTO *et al.*, 2022; REGUENGO *et al.*, 2022), hepatoprotetores (SUDASINGHE; PEIRIS, 2018) e neuroprotetores (TAL *et al.*, 2016).

### **2.5.3. *Passiflora alata***

*Passiflora alata* (*P. alata*), conhecida como maracujá-doce, é uma trepadeira perene nativa da Amazônia e amplamente cultivada do Peru ao Brasil, sendo a espécie oficial de *Passiflora* na Farmacopeia Brasileira. Seus principais constituintes incluem flavonoides, glicosídeos esteroides, saponinas triterpênicas e alcalóides (LODHI; J.PATEL, 2023). Sendo que o extrato aquoso da folha e seus principais polifenóis – isoorientina, vitexina, catequina e rutina – demonstram propriedades antiproliferativas, sugerindo um potencial para o tratamento de doenças inflamatórias crônicas, como diabetes *mellitus* (COLOMEU *et al.*, 2022). Além disso, o extrato da folha de *P. alata* exibiu potencial citotóxico contra linhagens de células cancerígenas (RICARDO *et al.*, 2019). Esta espécie de maracujá, também, é extensamente utilizada na formulação de fitoterápicos ansiolíticos (FONSECA *et al.*, 2020), como o Ansiodoron® (Weleda). Este efeito ansiolítico é atribuído a um *pool* de moléculas presentes nas folhas, as quais conferem propriedades medicinais (KORIEM, 2021).

### **2.5.4. *Passiflora cincinnata* Mast.**

*Passiflora cincinnata* Mast., do gênero *Passiflora* L., é nativa da América do Sul, abrangendo do leste do Brasil ao oeste da Bolívia. Encontrada em diversos biomas, como

campos rupestres, caatinga, floresta estacional e cerrado, produz frutos verdes e é conhecida popularmente por vários nomes, incluindo maracujá-brabo, maracujá-do-mato cultivado e maracujá-de-boi (S GUIMARÃES *et al.*, 2025). Como *P. cincinnata* apresenta maior tolerância ao estresse hídrico e a pragas quando comparada às demais espécies de *Passiflora*, isso tem motivado a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa, a desenvolver cultivares com maior produtividade e rendimento, e que contribuam para o fortalecimento da cadeia agroindustrial do maracujá no Brasil (VARZAKAS *et al.*, 2023).

*P. cincinnata* é utilizada para fins nutricionais e medicinais, embora ainda existam poucos estudos e dados farmacológicos relacionados a esta espécie (PEREIRA LEAL *et al.*, 2022). Extratos das folhas, casca e sementes de *P. cincinnata* demonstraram ter atividades antimicrobianas e anti-inflamatórias *in vitro*, sendo essas atividades atribuídas aos seus compostos fenólicos (DE LAVOR *et al.*, 2018; SIEBRA *et al.*, 2018). Além disso, estudos têm demonstrado potenciais benefícios à saúde devido às suas propriedades anti-hipertensivas e sedativas (SOUZA *et al.*, 2014).

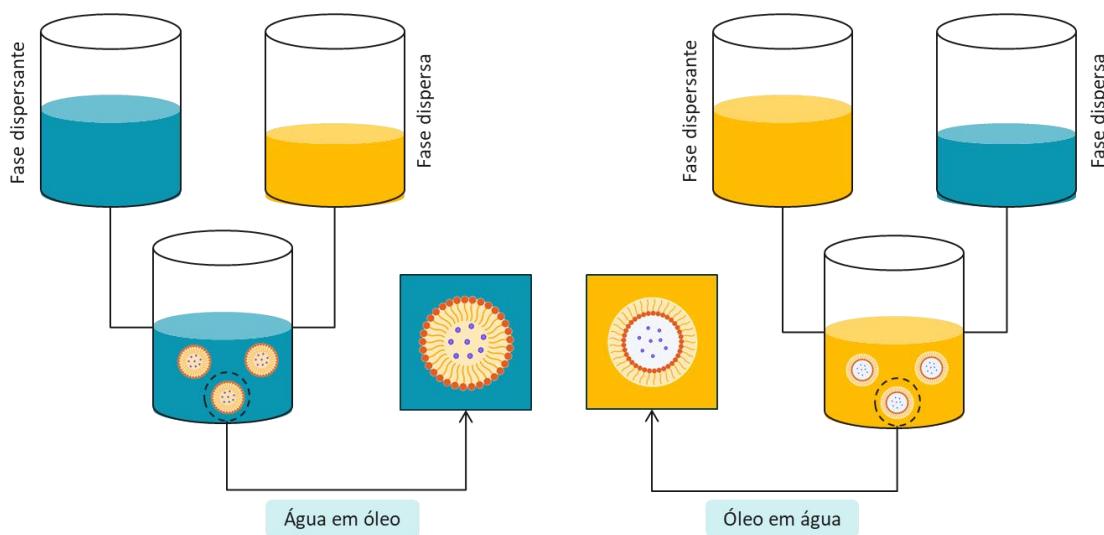
## 2.6. Desafios da TFDa *in vivo*

A terapia fotodinâmica (TFD) *in vivo*, apesar de promissora, enfrenta diversos desafios que limitam sua aplicação clínica (LI *et al.*, 2024). A dificuldade de penetração da luz nos tecidos, necessária para ativar o FS, restringe o tratamento a lesões superficiais. Além disso, há reações adversas a fotossensibilizadores, profundidade limitada do tratamento e respostas variáveis do paciente. Nesse sentido, escolher os fotossensibilizadores e comprimentos de onda de luz corretos é crucial para a sua eficácia (HUA *et al.*, 2024). A busca por FS mais seletivos e melhor farmacocinética, é crucial, assim como a resolução da baixa solubilidade desses compostos (LEE *et al.*, 2022).

Muitos FS convencionais apresentam baixa solubilidade em água, baixa biodisponibilidade e rápida depuração, o que pode resultar em acúmulo insuficiente no local alvo (AL-JAMAL *et al.*, 2025). Somado a isso há, também, a demanda para desenvolvimento de FS com menor toxicidade e a otimização dos protocolos de tratamento. No entanto, avanços como a nanotecnologia (LEE *et al.*, 2022), TFD guiada por imagem, fotossensibilizadores de segunda geração e a terapia combinada oferecem soluções promissoras. A pesquisa contínua nessas áreas é fundamental para expandir as aplicações da TFD *in vivo* (HUIS IN 'T VELD *et al.*, 2023).

## 2.7. Formulações: Emulsão como sistema de entrega de substâncias fotossensíveis para uso tópico na pele

As emulsões podem ser ótimas alternativas para entrega de fotossensibilizadores na pele, a fim de contornar alguns dos desafios de TFDa *in vivo* (PORTUGAL *et al.*, 2021). Uma emulsão consiste em dois líquidos imiscíveis (geralmente óleo e água) com um dos líquidos (fase dispersa ou interna) disperso como uma forma de gotículas esféricas no outro (fase contínua ou externa), conforme pode ser observado na **Figura 4**. Esta forma farmacêutica é termodinamicamente instável e deve ser estabilizada pela adição de agente emulsificante (SAWANT *et al.*, 2021).



**Figura 4. Desenho esquemático dos tipos de emulsão.** A emulsão consiste em dois líquidos imiscíveis, construídos em uma fase dispersa e uma fase dispersante, que podem ser categorizados num sistema de óleo em água (O/A) e água em óleo (A/O) (MAWAZI *et al.*, 2022). Imagem: autoria própria.

Os sistemas emulsionados variam em viscosidade, desde loções fluidas até cremes mais densos (THAKUR *et al.*, 2023), e classificam-se principalmente em óleo em água (O/A) e água em óleo (A/O) (MAWAZI *et al.*, 2022), podendo também formar emulsões múltiplas mais complexas. Emulsões geralmente aumentam a biodisponibilidade de fármacos/bioativos solubilizados (THAKUR *et al.*, 2023). A classificação desses sistemas baseia-se no tamanho da fase dispersa, distinguindo emulsões/macroemulsões (100 nm e 100 µm), nanoemulsões (1 a 100 nm) e microemulsões (100–400 nm) (SOUTO *et al.*, 2022).

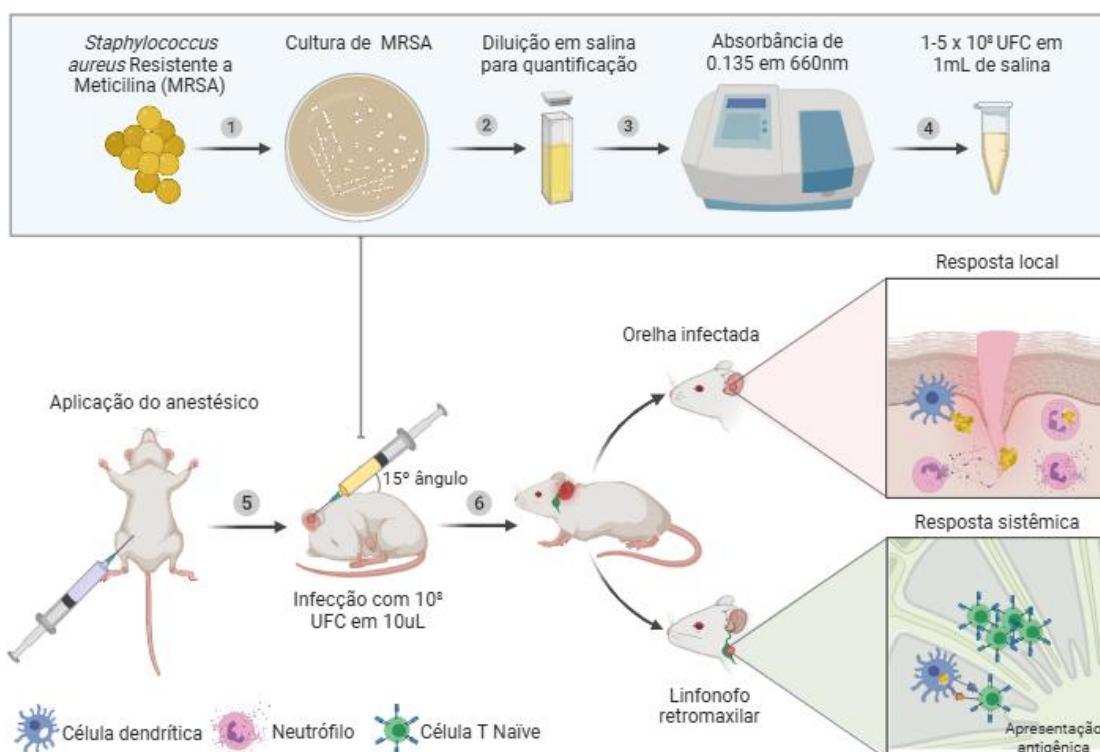
As microemulsões são sistemas termodinamicamente estáveis, límpidos ou translúcidos, formados espontaneamente pela mistura de óleo, água e tensoativo (com ou sem co-tensoativo) (DÍEZ *et al.*, 2022). A transparência decorre do tamanho submicrométrico das partículas, que não dispersam a luz visível (TARTARO *et al.*, 2020). Já as nanoemulsões apresentam tamanho de gotículas intermediário, sendo cineticamente

estáveis, embora termodinamicamente instáveis (KOROLEVA; YURTOV, 2012). Sua formação requer alta energia (homogeneização de alta pressão ou ultrassom) e sua aparência varia de transparente a levemente opalescente (WILSON *et al.*, 2022).

Por sua vez, as macroemulsões são sistemas coloidais termodinamicamente instáveis formados por energia mecânica e que exibem aspecto leitoso devido à dispersão da luz (GUPTA *et al.*, 2016). Suas gotículas maiores apresentam potencial interessante para o uso tópico da TFDa, pois tendem a permanecer na superfície cutânea, formando um filme oclusivo que reduz a perda transepidermica de água, promovendo hidratação e melhorando a função de barreira. Para ativos de ação superficial, como protetores solares e antimicrobianos, a liberação prolongada na camada córnea otimiza a eficácia local e minimiza a absorção sistêmica (KLANG *et al.*, 2011; NAZRIN *et al.*, 2023).

## 2.8. Modelo animal de infecção intradérmica

A compreensão do comportamento do sistema do hospedeiro frente a uma infecção cutânea por MRSA pode ser um item chave para o desenvolvimento de novas formas de tratamento (MONTGOMERY; DAVID; DAUM, 2015). O modelo murino é um modelo muito utilizado em pesquisas científicas para o entendimento do comportamento biológico frente a um estímulo, pois, aliado à facilidade de manipulação e manutenção, esse modelo fornece semelhanças anatômicas, imunológicas e fisiológicas com humanos (RYDELL-TÖRMÄNEN; JOHNSON, 2019).



**Figura 5. Modelo animal de infecção intradérmica por MRSA.** O modelo animal de infecção intradérmica oferece a oportunidade de estudar processos fisiológicos resultantes de um procedimento infeccioso. Neste modelo, a carga bacteriana é determinada por espectrofotometria. Colônias do microrganismo são suspensas em solução salina estéril. Uma absorbância de 0,135 a 660 nm (nanômetros) é necessária para atingir a quantidade de  $10^8$  UFC (unidades formadoras de colônia) de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA). A infecção intradérmica é realizada nas orelhas dos animais (ALMEIDA *et al.*, 2017; DOS SANTOS *et al.*, 2020). Imagem criada no BioRender, autoria própria.

Nesta perspectiva, este modelo possui linhagens que carregam perfis genéticos distintos (LI; AUWERX, 2020). Uma abordagem envolvendo diferentes perfis de resposta a um estímulo infeccioso é de grande importância para a pesquisa científica, pois, humanos não costumam desenvolver um mesmo perfil de resposta frente a um estímulo antigênico em comum (TAKAO; MIYAKAWA, 2015). Portanto, o modelo animal de infecção intradérmica oferece a oportunidade de estudar processos fisiopatológicos decorrentes de um processo infeccioso (Figura 5), bem como testar dispositivos terapêuticos e medicamentos em um organismo vivo complexo (MACKOVA *et al.*, 2019).

### 3. JUSTIFICATIVA

Atualmente, a epidemiologia de MRSA está em constante mudança, com variações significativas nos clones circulantes e em seus perfis de resistência aos antibióticos. Medidas alternativas ao uso de terapias antimicrobianas para o tratamento dessas cepas multirresistentes tornam-se de grande importância, uma vez que a descoberta de novas classes desses fármacos não tem acompanhado a rápida evolução da resistência. Em indivíduos senescentes, essa relevância é ainda maior, uma vez que a idade avançada pode impactar a resposta imune e a gravidade das infecções, tornando essa população particularmente vulnerável a infecções por MRSA.

Nesse contexto, tem-se a TFDa como alternativa auxiliar promissora aos antimicrobianos. Contudo, para que a TFD seja eficaz em infecções cutâneas, é necessário aumentar o arsenal de moléculas que podem ser utilizadas como FS, como é o caso de plantas do gênero *Passiflora*. Plantas desse gênero não possuem atividades descritas como FS, mas possuem em seus constituintes majoritários os flavonoides. É o caso de algumas espécies como *P. edulis*, *P. alata* e *P. cincinnata*. Dentre essas espécies, *P. cincinnata* é a menos relatada na literatura. Trata-se de uma espécie nativa da Caatinga com ampla distribuição geográfica, e pouco se sabe sobre seus compostos bioativos.

A entrega de fotossensibilizadores é um desafio, visto que muitos desses compostos demonstram instabilidade e dificuldades tanto na entrada em tecidos/células-alvo quanto na manutenção de sua integridade. Consequentemente, sua efetividade pode ser reduzida. Nesse contexto, as emulsões surgem como uma estratégia promissora para melhorar a estabilidade e a penetração dos FS. Isso constitui um avanço, visto que as emulsões podem otimizar a TFDa ao facilitar a aplicação do produto e assegurar a distribuição uniforme dos constituintes bioativos. Adicionalmente, podem aumentar a biodisponibilidade e a absorção cutânea dos FS, ao mesmo tempo em que oferecem um modelo não invasivo de tratamento.

Por fim, é importante abordar que a proposta deste projeto se relaciona com a capacidade de inovação na utilização de técnicas de tratamento em ascensão, que podem gerar impactos futuros, dentre os quais: otimização do sistema de entrega do FS; compreensão da atuação da TFDa em modelo de infecção intradérmica associado a imunossenescênci;a; bem como o tratamento alternativo aos antibióticos; a ausência de agulhas também confere ao tratamento um caráter menos invasivo e de fácil adesão.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1. Objetivo geral

Avaliar a atividade fotossensibilizadora de extratos do gênero *Passiflora*, incorporados ou não em uma emulsão, no controle de infecção por MRSA *in vitro* e *in vivo* em animais senescentes.

### 4.2. Objetivos específicos

#### 4.2.1. Testes *in vitro*

- Avaliar capacidade fotossensibilizadora do extrato bruto e fração de *P. cincinnata*, em diferentes concentrações;
- Avaliar capacidade fotossensibilizadora de *P. edulis* e *P. alata*, em diferentes concentrações;
- Analisar citotoxicidade de todos os extratos e fração de *P. cincinnata* testados, acima descritos;
- Identificar possível atuação do fotossensibilizadora contra MRSA.

#### 4.2.2. Testes *in vivo*

- Avaliar os efeitos da TFDa com *P. cincinnata* na pele de camundongos senescentes infectados com MRSA;
- Caracterizar achados anatomo-patológicos da orelha dos animais infectados com MRSA após aplicação da TFDa;
- Analisar a imunomodulação da TFDa com *P. cincinnata* em camundongos infectados intradermicamente com MRSA.
- Realizar análises multivariadas, levando em consideração saber o nível de influência de todas as variáveis coletas.

#### 4.2.3. Formulação

- Elaborar uma emulsão de aplicação tópica contendo a fração butanólica de *P. cincinnata*;
- Caracterizar a formulação;
- Realizar testes de estabilidade.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 7.1. Obtenção dos extratos

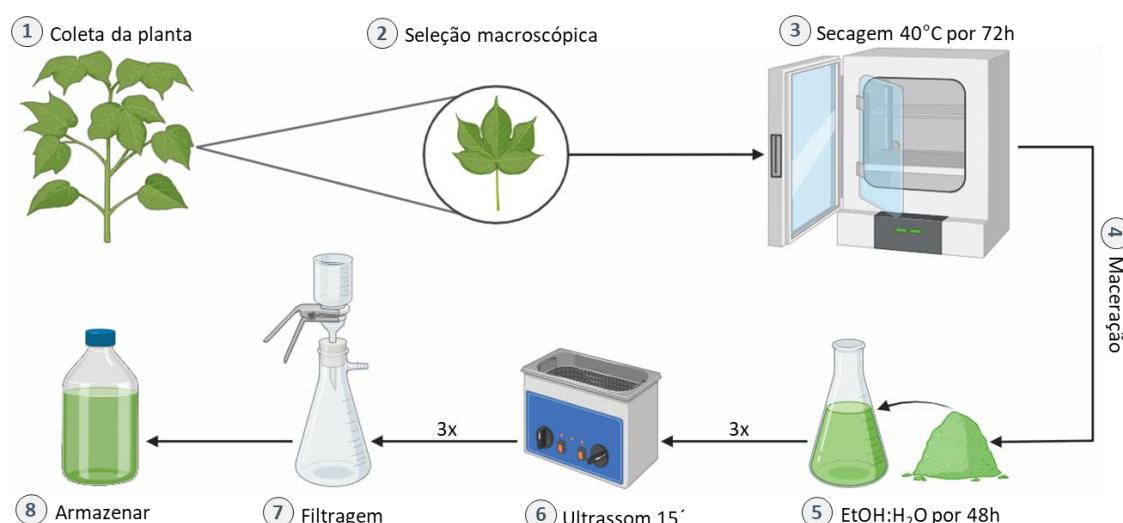
#### 7.1.1. *P. edulis* e *P. alata*

O extrato de *P. edulis* foi obtido junto ao fornecedor *Organic Compoundi* LTDA (CNPJ: 18.186.547/0001-99), lote do fabricante: 21k25-FL00-00000. O extrato de *P. alata* do fornecedor SM Empreendimentos Farmacêuticos LTDA (CNPJ: 44.015.477/0005-40), lote do fabricante: 2201026. Ambos os extratos são das folhas de *Passiflora*.

#### 7.1.2. *P. cincinnata*

##### 7.1.2.1. Coleta e preparação do material vegetal

Uma população de *P. cincinnata* foi identificada e coletada nas proximidades da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Estrada Bem Querer, Km-04 - 3293, localizada no município de Vitória da Conquista, Bahia (Latitude: 14° 53' 3.975" Sul, Longitude: 40° 47' 59.137" Oeste). A permissão de acesso e pesquisa do patrimônio genético (AE76E5D) foi obtida por meio de registro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado – SisGen/Brasil (Anexo 5). Após a coleta e seleção macroscópica, as folhas de *P. cincinnata* foram secas em estufa de circulação de ar a 40 °C por 72 horas. Em seguida, foram trituradas em moinho de facas, resultando em aproximadamente 270 g de pó seco (**Figura 6**).

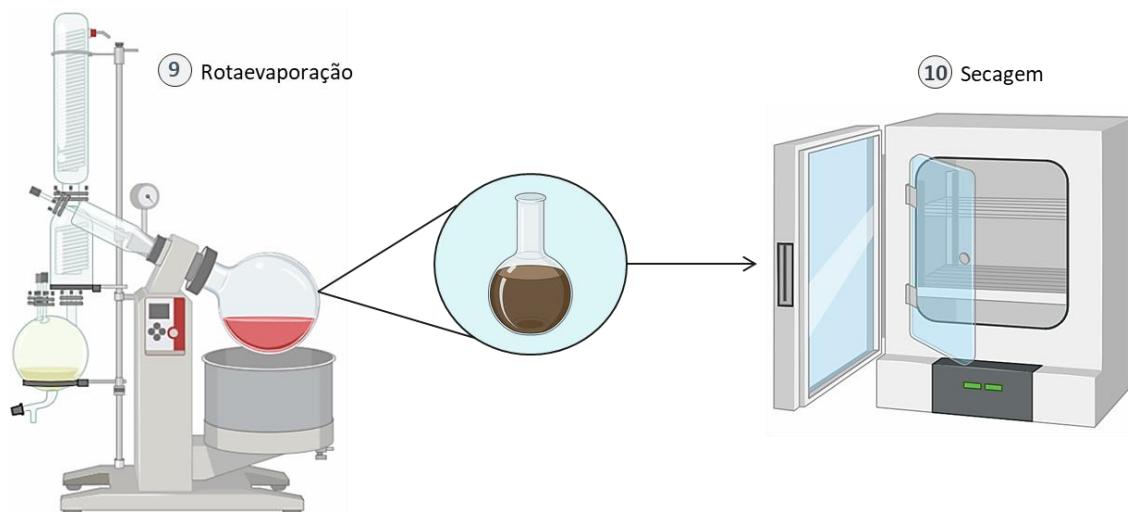


**Figura 6. Etapas da coleta, preparação do material vegetal e partição do extrato bruto das folhas de *P. cincinnata*.** Após seleção macroscópica (2), folhas de *P. cincinnata* foram secas em estufa (3) e trituradas (4). A maceração ocorreu em etanol por 48 horas (5), precedido de banho de ultrassom de 15 minutos (6).

O extrato resultante foi filtrado (7) e armazenado (8) para posterior rotaevaporação. Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria.

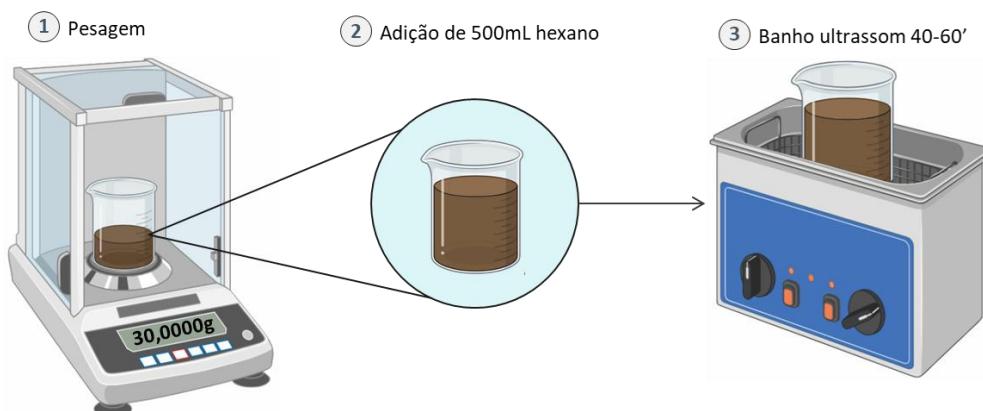
### 7.1.2.2. Partição do extrato bruto de *P. cincinnata*

Folhas secas e trituradas foram submetidas à maceração em etanol 70% por 48 horas, na proporção 1:3 (g:mL), precedida de ultrassom por 15 minutos à temperatura ambiente. O material resultante foi filtrado, e o material retido foi ressuspenso em etanol 70%, seguido de ultrassom e repouso por 48 horas (**Figura 6**). Este procedimento foi repetido, e após 48 horas, o extrato foi filtrado, concentrado em evaporador rotativo e seco em estufa (48 h por 40 °C) para remoção do etanol residual (**Figura 7**).

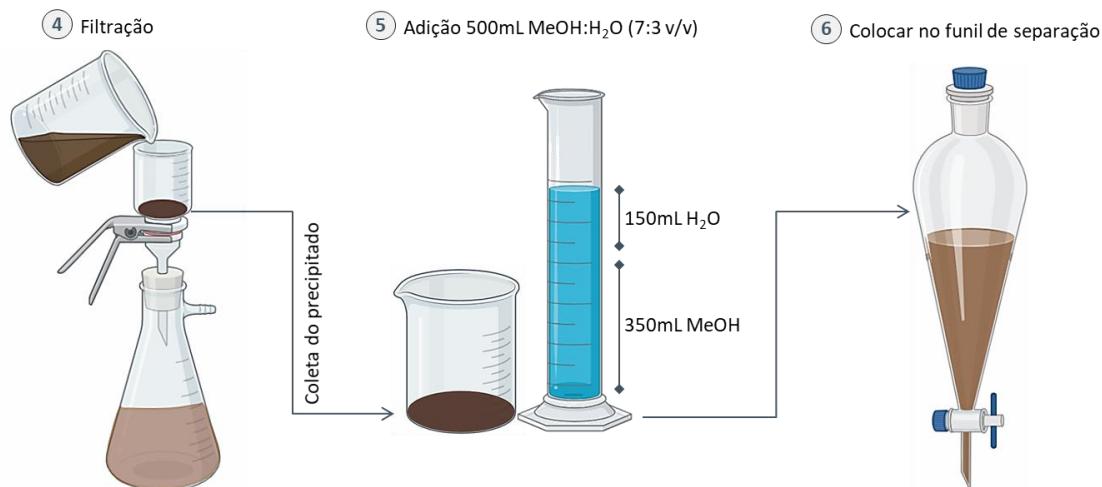


**Figura 7. Rotaevaporação do extrato bruto de *P. cincinnata*.** Concentração do extrato em evaporador rotativo (9), seguida de secagem em estufa para remoção completa do etanol residual (10). Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria.

Trinta gramas do extrato bruto foram suspensos em 500 mL de hexano, homogeneizados por ultrassom e filtrados em papel filtro qualitativo (Qualy, 80 g, 11 cm) (**Figura 8**). O precipitado resultante foi ressuspenso em 500 mL de metanol:água (7:3 v/v) (**Figura 9**) e particionado com diclorometano (3x250 mL) (**Figura 10**).

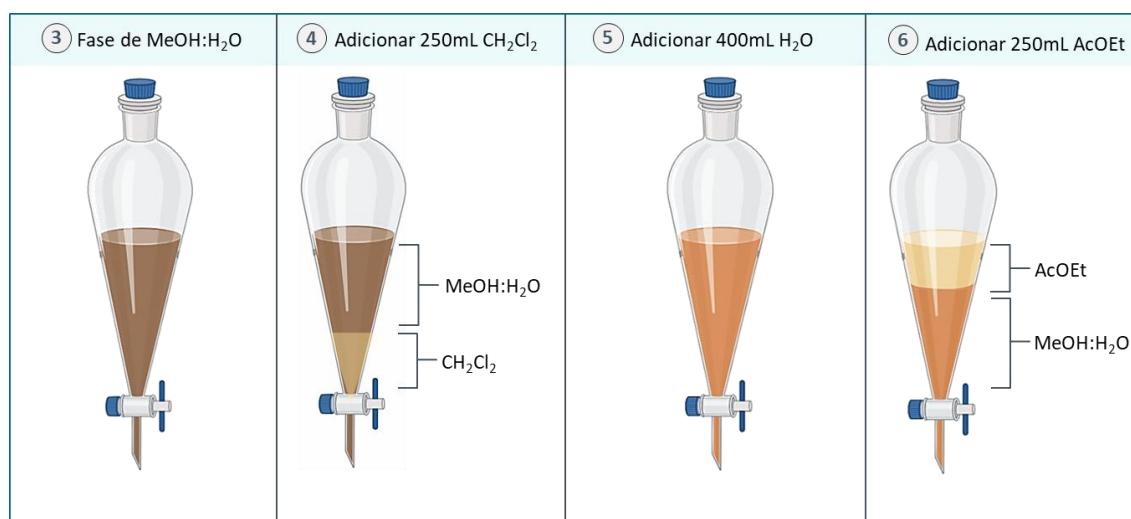


**Figura 8. Partição do extrato bruto em hexano.** O processo de fracionamento do extrato bruto (30 g) iniciou-se com pesagem (1), seguida de suspensão em hexano (500 mL) (2) e homogeneização por ultrassom de 40 a 60 minutos (3). Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria.



**Figura 9. Partição do extrato bruto em metanol.** Após filtração da partição com hexano (4), o precipitado foi ressuspenso em metanol:água (7:3) (5) e colocado em um funil de separação (6). H<sub>2</sub>O= água; MeOH= metanol; MeOH:H<sub>2</sub>O= metanol:água. Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria.

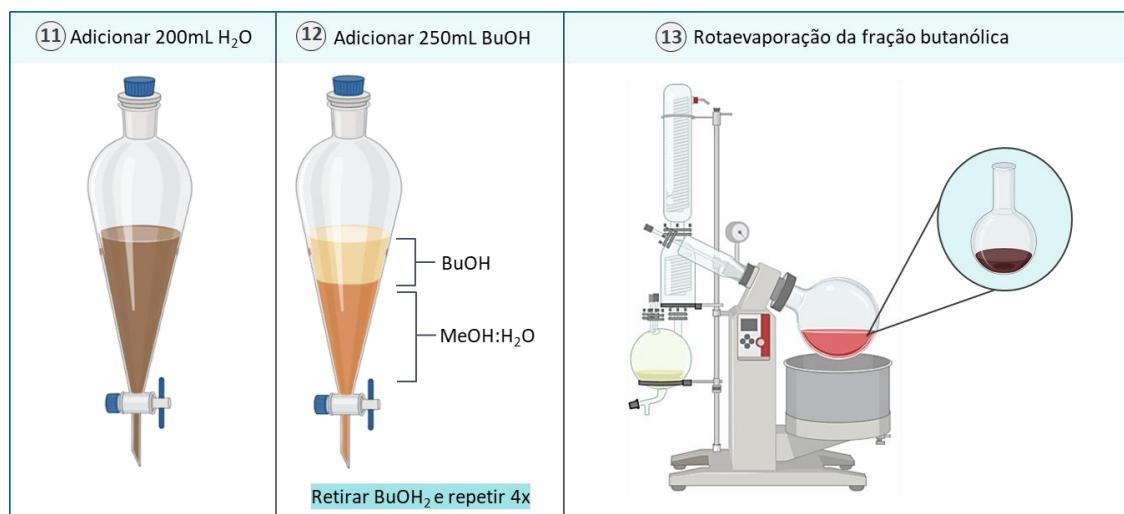
A fase diclorometano foi separada, e 400 mL de água foram adicionados à fase metanol:água. Esta fase foi então particionada com acetato de etila (3x250 mL) (Figura 10). A fase acetato de etila foi coletada. Posteriormente, 200 mL de água foram adicionados à fase metanol:água restante, e a solução foi particionada com n-butanol (4x250 mL). A fase n-butanol foi concentrada sob pressão reduzida, resultando em 5,1924 g (51,9%) de extrato de n-butanol (Figura 11).



**Figura 10. Partição do extrato bruto em metanol, diclorometano e acetato de etila.** Após adição da fase metanol:água no funil (3), a partição com diclorometano foi realizada (4) (7:3v/v, 250 mL). A fase

dclorometano foi coletada, e a fase metanol:água foi diluída com água (400 mL) (5) e particionada com acetato de etila (3x250 mL) (6). H<sub>2</sub>O= água; MeOH= metanol; MeOH:H<sub>2</sub>O= metanol:água; AcOEt= acetato de etila Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria.

Uma porção da fração n-butanol (700 mg, diluída em 3 mL de metanol) foi aplicada em uma coluna cromatográfica de Sephadex LH-20 (42cm x 3,5cm), eluída com metanol (MeOH) a um fluxo de aproximadamente 1,5 mL/min. Após a eluição do volume morto (90 mL), uma subfração de aproximadamente 60 mL foi coletada, concentrada em evaporador rotativo, liofilizada e armazenada a 4 °C.



**Figura 11. Partição do extrato bruto em butanol.** O processo de extração incluiu a adição de água (200 mL) (11) à fase metanol:água, seguida de partição com n-butanol (4x250 mL) (12). A fase n-butanol foi concentrada sob pressão reduzida (13). H<sub>2</sub>O= água; MeOH= metanol; MeOH:H<sub>2</sub>O= metanol:água; BuOH= n-butanol. Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria.

## 7.2. Espectro de absorção UV-Vis da fração butanólica purificada de *P. cincinnata* e dos extratos de *P. edulis*, *P. alata* na faixa de 200-800 nm

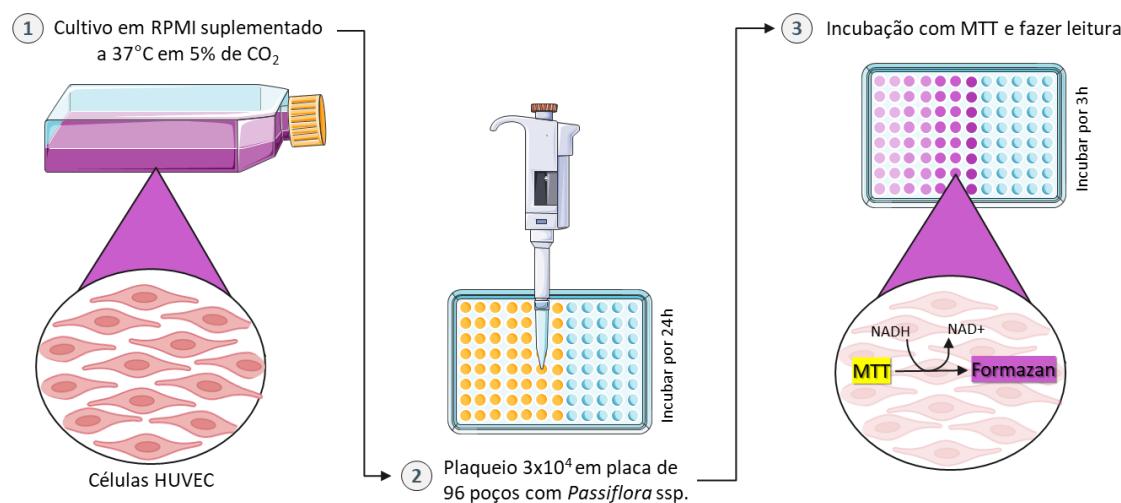
Para estimar em quais comprimentos de onda os extratos de *P. edulis*, *P. alata* e fração butanólica purificada de *P. cincinnata* absorvem luz, foi realizada uma análise de varredura usando um espectrofotômetro de absorção molecular (UV-1800 Shimadzu/UV Spectrophotometer), avaliando o intervalo entre 200 nm e 800 nm. Os extratos de *P. alata* e *P. edulis* foram utilizados na concentração de 100 µg/mL, enquanto a fração butanólica purificada de *P. cincinnata* foi utilizada na concentração de 10 µg/mL, ambos diluídos em água destilada, utilizando a função *spectrum*.

## 7.3. Espectro de absorção UV-Vis da fração butanólica purificada de *P. cincinnata* fotoativada

O espectro de absorção da fração butanólica de *P. cincinnata* (10 µg/mL) foi analisado antes e após irradiação com 13,5 J/cm<sup>2</sup> (3 minutos), com luz LED azul (450 ± 20 nm). A absorbância foi registrada a cada 60 segundos, durante 240 segundos.

#### 7.4. Ensaio de citotoxicidade de espécies de *Passiflora* por MTT em HUVEC

A linhagem de células endoteliais da veia umbilical humana (HUVEC) foi obtida da *American Type Culture Collection* (ATCC). As HUVECs foram cultivadas em meio RPMI 1640 suplementado com 10% de soro fetal bovino, 2 mM de L-glutamina, 2 mM de piruvato de sódio, 1 mM de aminoácidos não essenciais, 100 U/mL de penicilina e 100 mg/mL de estreptomicina a 37 °C em 5% de CO<sub>2</sub> (**Figura 11**).



**Figura 12. Ensaio de citotoxicidade em HUVEC.** Avaliação da citotoxicidade de extratos de *P. edulis*, *P. alata* e *P. cincinnata* (extrato bruto e fração butanólica) em HUVEC: células cultivadas em RPMI (1), plaqueadas (3x10<sup>4</sup>/poço) (2), tratadas com diferentes concentrações dos extratos e incubadas com MTT (3). A formação de formazan foi quantificada por espectrofotometria. As células metabolicamente活as reduzem o sal de tetrazólio MTT, de cor amarela, em formazan, um produto insolúvel de cor púrpura. Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria.

As HUVECs foram semeadas a 3x10<sup>4</sup> por poço em microplacas de 96 poços para verificar a citotoxicidade. Após 24h, um novo meio contendo *P. edulis* (2000 µg/mL, 1500 µg/mL, 1000 µg/mL, 500 µg/mL ou 100 µg/mL), *P. alata* (2000 µg/mL, 1500 µg/mL, 1000 µg/mL, 500 µg/mL e 100 µg/mL), extrato bruto de *P. cincinnata* (500 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, 10 µg/mL e 5 µg/mL) e fração butanólica purificada de *P. cincinnata* (100 µg/mL, 50 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL e 1 µg/mL) ou controles - do meio de cultura e diluentes (água destilada) - foram adicionados e incubados a 37 °C e 5% de CO<sub>2</sub> por 24h. Após o tratamento, as células foram incubadas com MTT (5 mg/mL, 20 µL/poço (MTT: brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio) por 3h a 37 °C (**Figura**

12). Em seguida, 100 µL/poço de PBS contendo 10% de SDS e 0,01M de HCl (18h, 37 °C e 5% de CO<sub>2</sub>) foram adicionados. A absorbância foi lida em um espectrofotômetro de varredura multiplas (Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer –Thermo Scientific) a 570 nm. O valor de IC<sub>50</sub>, representando as concentrações dos extratos de *Passiflora* que diminuem a viabilidade para 50% (IC<sub>50</sub>), foi calculado a partir da curva concentração-resposta.

### **7.5. Determinação da carga bacteriana**

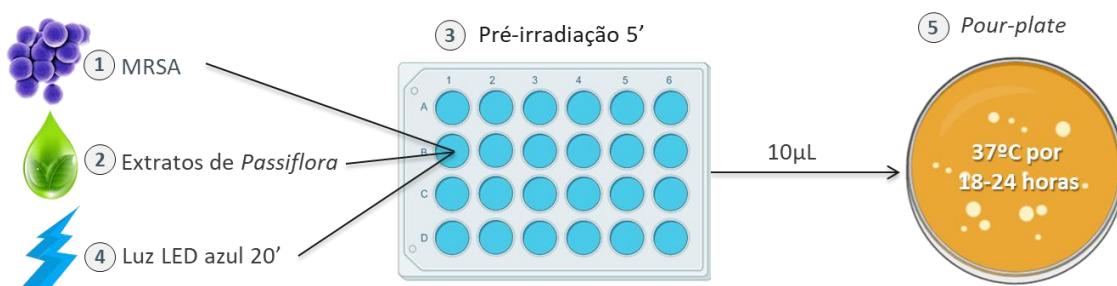
A carga bacteriana foi determinada por espectrofotometria de acordo com a metodologia adaptada de dos SANTOS *et al.* (2020; 2019; 2019b). A cepa de referência *Staphylococcus aureus* 43300 resistente à meticilina (MRSA 43300) foi usada no experimento. No momento do cultivo, as amostras foram descongeladas à temperatura ambiente, semeadas dentro do fluxo laminar (Prolab, São Paulo, Brasil) em meio de cultura BHI ágar (*Brain Heart Infusion*, pH 7.4, HIMEDIA), e levado para a incubadora (Prolab) por 18-24 horas a 37 °C.

A padronização da suspensão bacteriana de MRSA foi realizada a partir da coleta de 3 a 5 colônias das placas de cultura, as quais foram adicionadas a 1 mL de solução salina estéril. Após o preparo da suspensão, 10 µL da solução foi transferida para uma cubeta de quartzo contendo 990 µL de salina. Esta cubeta foi direcionada para o uso no espectrofotômetro (Prolab, São Paulo, Brasil). Como ferramenta de controle para a leitura da absorbância no espectrofotômetro, também foi utilizada uma cubeta contendo 1000 µL de salina como solução branco da leitura. A leitura da absorbância foi efetuada em espectrofotômetro (Shanghai Spectrum, SP2000UV/2000UVPC) a 660 nm, buscando-se um valor de 0,135 de absorbância, que corresponde a uma concentração de 1-5 x 10<sup>8</sup> UFC/mL, de acordo com a escala de McFarland. (**Figura 5**).

### **7.6. Desenho experimental da TFDa *in vitro***

Extratos de *P. edulis* e *P. alata* foram diluídos em água destilada e testados nas concentrações de 2000 µg/mL, 1500 µg/mL, 1000 µg/mL, 500 µg/mL e 100 µg/mL. O extrato bruto de *P. cincinnata* foi avaliado nas concentrações de 100 µg/mL, 50 µg/mL, 10 µg/mL e 5 µg/mL. A fração butanólica purificada de *P. cincinnata* foi testada nas concentrações de 100 µg/mL, 50 µg/mL e 10 µg/mL. O composto isoorientina, presente de forma marjoritária nesta fração, foi testada nas concentrações de 100 µg/mL e 10 µg/mL. As concentrações foram definidas após uma triagem inicial com uma ampla gama de concentrações para cada espécie de *Passiflora*.

Para avaliar o efeito fotodinâmico dos extratos de *Passiflora*, suspensões de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA ATCC 43300) ( $1-5 \times 10^6$  UFC/poço) foram adicionadas a placas de 24 poços. Os grupos controles incluíram: (1) MRSA (10 µL) em solução salina (990 µL), sem luz; (2) MRSA (10 µL) em solução salina (990 µL) com irradiação de luz LED azul ( $450 \pm 20$  nm,  $56,4 \text{ J/cm}^2$  por 20 min); e (3) MRSA (10 µL) em solução salina (990 µL). Nos grupos de tratamento, MRSA (10 µL) foi combinado com extrato de *Passiflora* (10 µL, nas concentrações especificadas) e solução salina (980 µL), seguido de irradiação de luz LED azul ( $450 \pm 20$  nm,  $56,4 \text{ J/cm}^2$ ). Todos os grupos foram submetidos a um período de pré-irradiação de 5 minutos. Após o tratamento, amostras (10 µL) de cada poço foram plaqueadas pela técnica de *Pour-plate* em ágar BHI e incubadas a  $37^\circ\text{C}$  por 18-24 horas (**Figura 13**). Todo o experimento foi realizado no escuro. A quantificação de UFC foi realizada por contagem de colônias (CP-600 Plus).



**Figura 13.** Desenho esquemático dos grupos tratamento *in vitro*. O experimento foi realizado em placas de 24 poços ( $n= 6$  poços/grupo). Cada poço continha salina, MRSA (1), extratos (a depender do grupo) (2). Os poços foram irradiados por luz LED azul ( $450 \pm 20$  nm,  $56,4 \text{ J/cm}^2$  por 20 min) (4), no caso dos grupos tratamento e controle MRSA + luz. Após isso 10 µL de cada poço foi plaqueado em placas contendo meio BHI, incubadas a  $37^\circ\text{C}$  por 18-24 horas – para posterior contagem da quantidade de colônias bacterianas (5). Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria.

### 7.7. Teste do potencial Zeta

O potencial Zeta foi utilizado para investigar a interação da fração butanólica purificada de *P. cincinnata* com MRSA, baseado na alteração da carga superficial celular por moléculas aderidas. Suspensões de MRSA ( $1-5 \times 10^8$  UFC/mL) foram incubadas (por 1h no escuro a  $37^\circ\text{C}$ ) com o FS (30 µg), centrifugadas (6.000 rpm por 10 minutos), lavadas (2 vezes em PBS) e, por fim, ressuspensas em água ultrapura (**Figura 14**). O potencial Zeta foi medido por Zetasizer/Nanoseries (ZEN3601) a  $25^\circ\text{C}$ .



**Figura 14. Teste do potencial Zeta.** Incubação de MRSA com o fotossensibilizador (neste caso, fração butanólica de *P. cincinnata*) (1), centrifugação (2), suspensão e análise no Zetasizer (3). Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria.

## 7.8. Animais

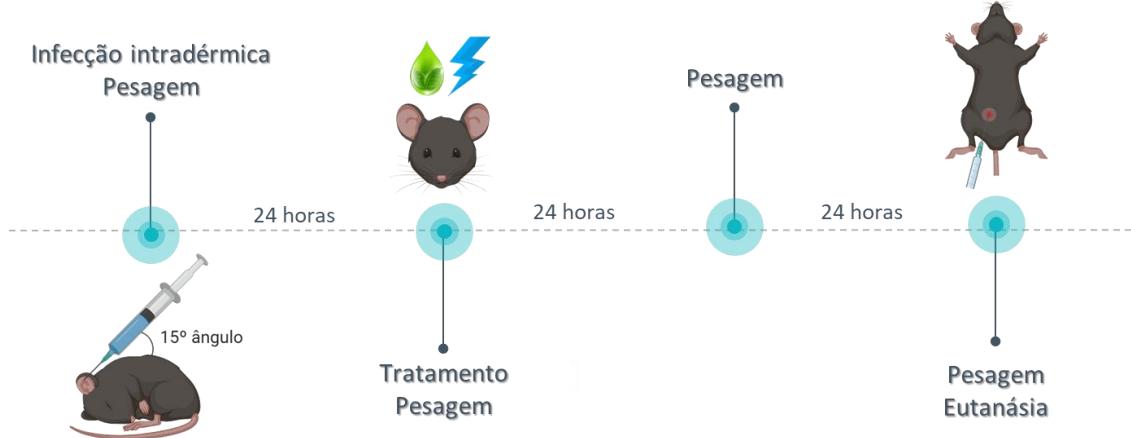
Dezesseis camundongos C57BL/6, machos e fêmeas, com aproximadamente 2 anos, foram utilizados neste estudo. Os animais foram mantidos no biotério do Instituto Multidisciplinar em Saúde - *Campus Anísio Teixeira da Universidade Federal da Bahia* (IMS-CAT-UFBA), em condições controladas de temperatura (25°C) e fotoperíodo (12h claro/12h escuro), com água e ração disponíveis *ad libitum*. Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do IMS-CAT-UFBA, sob o protocolo número 113/2022.

### 7.8.1. Desenho experimental da TFDa *in vivo*

Dezesseis camundongos C57BL/6 foram divididos em três grupos ( $n=5-6/\text{grupo}$ ) e ambas as orelhas foram inoculadas com  $10^8$  UFC de MRSA (Figura 5). Os grupos foram: (1) Controle MRSA (Veículo,  $n=6$ ), inoculado com MRSA; (2) Controle *P. cincinnata* (*P. cincinnata*,  $n=5$ ), inoculado com MRSA e fração butanólica purificada de *P. cincinnata* (100  $\mu\text{g}/10 \mu\text{L}$ ) sem fotoativação; e (3) Tratamento TFDa (TFDa,  $n=5$ ), inoculado com MRSA e tratado com fração butanólica purificada de *P. cincinnata* fotoativada (100  $\mu\text{g}/10 \mu\text{L}$ ). A concentração da fração butanólica purificada de *P. cincinnata* foi definida com base nos testes *in vitro*. Todos os procedimentos foram realizados com animais anestesiados (xilazina 10 mg/kg e cetamina 50 mg/kg).

Após 24 horas da infecção, os animais do grupo tratamento TFDa receberam a fração butanólica purificada de *P. cincinnata* (100  $\mu\text{g}/10 \mu\text{L}$ ) por via intradérmica em ambas as orelhas (aplicação foi realizada no escuro), previamente fotoativada *ex vivo* com luz LED azul (450 nm, 13,5 J/cm<sup>2</sup>, 180s, 1cm de distância), seguindo protocolo de (MUNIZ *et al.*, 2021). Os animais do grupo Controle MRSA receberam o veículo (10

$\mu\text{L}$ ) e os do grupo Controle *Passiflora* receberam o extrato ( $100 \mu\text{g}/10\mu\text{L}$ ) sem fotoativação (aplicação realizada no escuro). Todos os procedimentos foram realizados com animais anestesiados (xilazina 10 mg/kg e cetamina 50 mg/kg). Após 72 horas da infecção, os animais foram eutanasiados com aprofundamento anestésico (xilazina 100 mg/kg e cetamina 500 mg/kg) para coleta de linfonodos e orelhas (**Figura 15**).



**Figura 15.** Esquema experimental do modelo murino de infecção cutânea por MRSA. Os animais foram submetidos à infecção intradérmica seguida de pesagem. Após 24 horas, foi realizado o tratamento fotodinâmico antimicrobiano, com nova pesagem em intervalos de 24 horas. Ao final do experimento, os animais foram pesados e submetidos à eutanásia. Símbolos indicam aplicação da injeção (seringa), tratamento (gota + luz) e etapas de pesagem. Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria.

### 7.8.2. Pesagem dos animais

Os animais foram pesados em balança analítica durante todos os dias de experimento, no mesmo horário. Os pesos foram registrados, e o percentual de perda de peso foi calculado, considerando o peso inicial de cada animal.

### 7.8.3. Carga bacteriana da orelha

As orelhas direitas foram coletadas e maceradas em 1 mL de solução salina estéril. Alíquotas de  $50 \mu\text{L}$  do macerado foram plaqueadas em ágar BHI contendo oxacilina ( $6 \mu\text{g}/\text{mL}$ ) e incubadas a  $37^\circ\text{C}$  por 18-24 horas. A quantificação de unidades formadoras de colônias (UFC) foi realizada por contagem de colônias (CP-600 Plus).

### 7.8.4. Histopatologia

As orelhas esquerdas foram coletadas nos tempos de eutanásia pré-definidos e fixadas em metacarn (70% metanol, 20% clorofórmio e 10% ácido acético glacial). Após processamento e hidratação, as orelhas foram incluídas em parafina e seccionadas ( $4 \mu\text{m}$ ) em micrótomo. Os cortes foram corados com hematoxilina e eosina (**Figura 16**). A

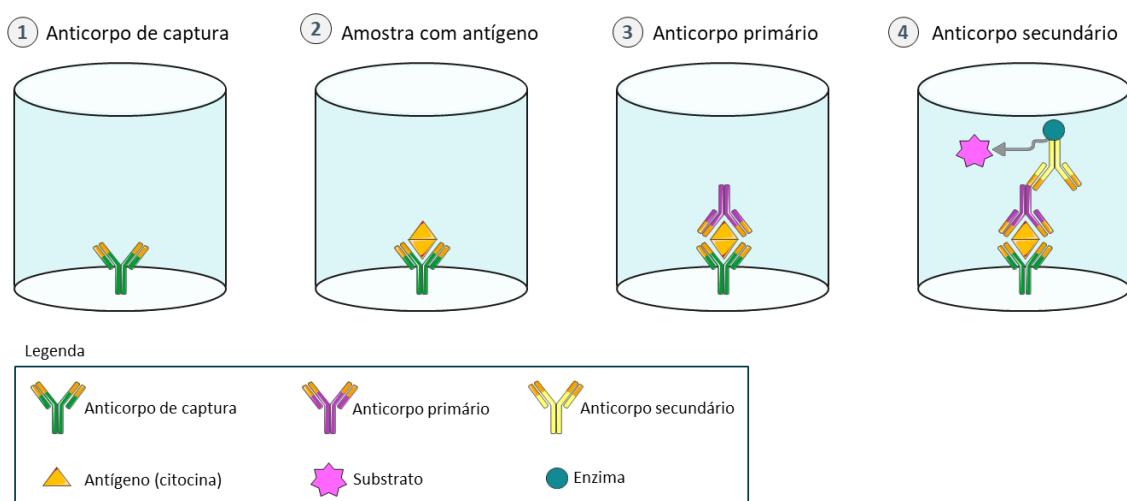
análise morfométrica foi realizada em fotomicrografias (20 campos/lâmina, objetiva 40x) obtidas por microscopia óptica (Nikon Eclipse Ei) e software PrimeCam Intervision (Prime Life Science). O software Image J foi utilizado para quantificar os leucócitos.



**Figura 16. Fluxograma do processamento de amostras para microscopia óptica.** Macroscopia e Emblocamento (1), Microtomia (2), Coloração (3) e Microscopia (4). Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria.

### 7.9. Concentração de citocinas

Linfonodos retromaxilares foram coletados para análise de citocinas. Os linfonodos foram macerados em 1 mL de solução salina estéril e centrifugados (1500 rpm, 4 °C, 10 min). O sobrenadante foi coletado e armazenado a -80 °C para quantificação das citocinas TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-12p70, IL-17A e IL-10, utilizando kits comerciais (Invitrogen - ThermoFisher), seguindo as instruções do fabricante (**Figura 17**).



**Figura 17. Representação esquemática das etapas de um ELISA sanduíche, utilizando kits comerciais (Invitrogen - ThermoFisher).** Anticorpo de captura (1), Ligação do antígeno (citocina) (2), Adição do anticorpo primário (3), Adição do anticorpo secundário conjugado com enzima, seguida da adição do substrato para detecção (4). Imagem criada com recursos da plataforma Smart Servier, autoria própria.

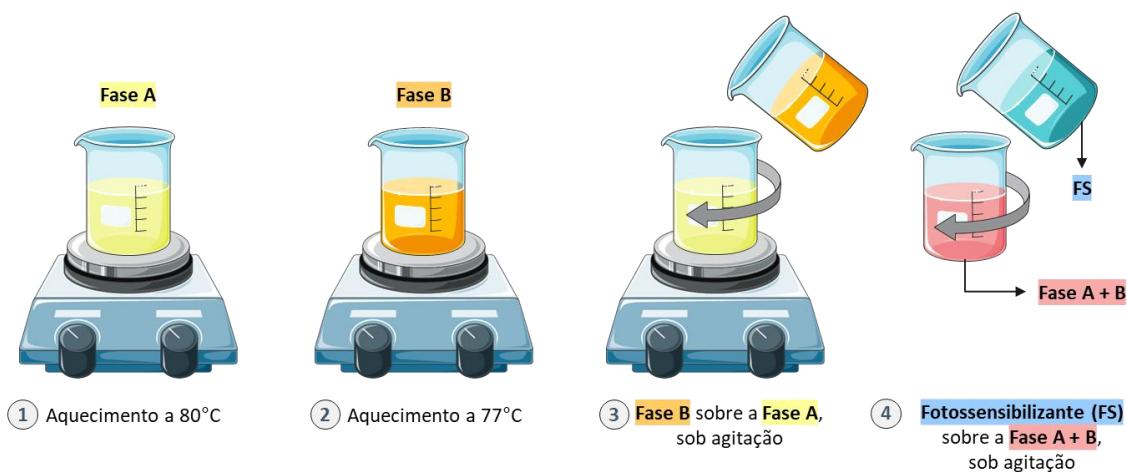
### 7.10. Obtenção da emulsão

As formulações foram preparadas em triplicata (três lotes), seguindo a composição descrita na **Tabela 1**. O processo foi dividido em três fases: Fase A (aquosa), Fase B (oleosa) e Fase FS (com ativos). A Fase A consistiu na mistura de EDTA dissódico, propilenoglicol e água. A Fase B foi composta por Olivem 1000® (cetearil olivato/sorbitan olivato), butilhidroxitolueno (BHT) e Proteg PF IV (Fenoxietanol + Metil Parabeno + Propil Parabeno + Etil Parabeno + Butil Parabeno). A fase com ativos, contendo o FS, foi composta por propilenoglicol, água e a fração butanólica purificada de *P. cincinnata*.

**Tabela 1:** Porcentagem e peso dos constituintes testados

	Porcentagem (%)	Peso (gramas)
<b>Fase A (aquosa)</b>		
EDTA dissódico	0,05	0,015
Propilenoglicol	2,00	0,6
Água	72,80	21,84
<b>Fase B (oleosa)</b>		
Olivem 1000® (cetearil olivato/sorbitan olivato)	3,50	1,05
Butilhidroxitolueno (BHT)	0,10	0,03
Proteg PF IV (Fenoxietanol+Metil Parabeno+Propil Parabeno+Etil Parabeno+Butil Parabeno)	0,50	0,15
<b>Fotossensibilizador (FS)</b>		
Propilenoglicol	1,00	0,3
Água	20,00	6
Fração butanólica purificada de <i>P. cincinnata</i>	0,05	0,015

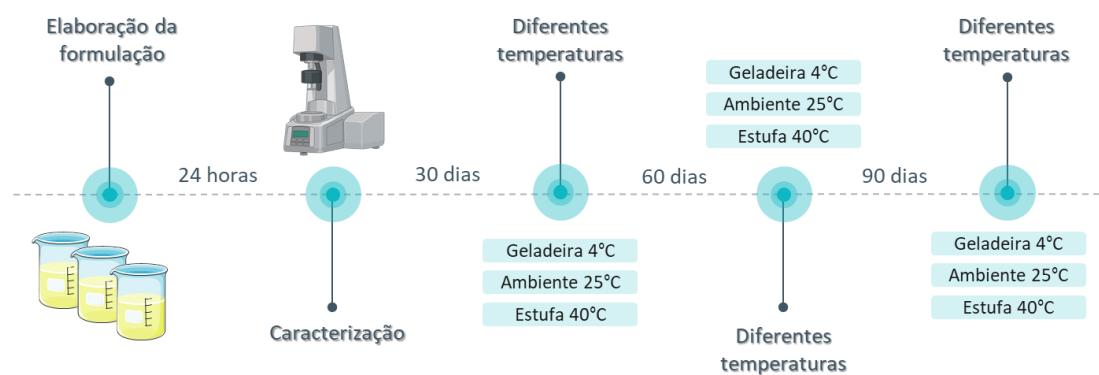
Após a pesagem dos constituintes (**Tabela 1**), a Fase A e a Fase B foram aquecidas a  $75 \pm 5$  °C. A Fase A foi vertida sobre a Fase B sob agitação magnética (300 rpm, Joanlab Ms5S DC12-1A) até a mistura atingir 25-40 °C. A Fase FS foi previamente homogeneizada e só então adicionada à mistura A+B sob agitação contínua (300 rpm). Todas as formulações foram preparadas em triplicata (três lotes) (**Figura 18**).



**Figura 18. Etapas do preparo da formulação.** Aquecimento da Fase A (aquosa) a 80 °C (1), Aquecimento da Fase B (oleosa) a 77 °C (2), Adição da Fase B à Fase A sob agitação (3), Adição do fotossensibilizante (FS) sobre a Fase A + B, sob agitação (4). Imagem criada com recursos da plataforma Smart Servier, autoria própria.

### 7.10.1. Estudo de estabilidade

Após 24 da elaboração das formulações foram realizadas análises de reologia, pH, centrifugação e condutividade. Após estas análises, cada lote foi submetido a diferentes condições de armazenamento. O lote 1 foi armazenado a  $4 \pm 2$  °C (geladeira), o lote 2 à temperatura de  $25 \pm 2$  °C (ambiente) e o lote 3 a  $40 \pm 2$  °C (estufa). As análises de reologia, pH e condutividade foram repetidas após 30 dias. A condutividade e o pH foram novamente avaliados aos 60 e 90 dias (**Figura 18**).



**Figura 19. Fluxograma do estudo de estabilidade da formulação.** Preparo da formulação, caracterização inicial (24 horas), armazenamento em diferentes temperaturas (4 °C, 25 °C e 40 °C) e análises de estabilidade em diferentes tempos (30, 60 e 90 dias). Imagem criada com recursos das plataformas BioRender e Smart Servier, autoria própria.

### 7.10.1. Teste de estabilidade - centrifugação

Para avaliar a estabilidade física, amostras de 5,0 g de cada lote da formulação foram adicionadas em tubos Falcon e centrifugadas a 3000 rpm por 30 minutos à

temperatura ambiente. Observou-se se havia separação de fases após o procedimento como um indicativo de instabilidade.

#### **7.10.2. Perfil reológico**

O perfil reológico das formulações foi avaliado utilizando um reômetro Brookfield DV-III Ultra, acoplado a um computador com o *software Rheocalc* v.3.2, e um *spindle* SC4-34. As medições foram realizadas em velocidades progressivamente maiores para obtenção da curva ascendente e em velocidades progressivamente menores, para obtenção de curva descendente, variando de 1 a 5 rpm, com 20 segundos de leitura em cada ponto (6 pontos no total). As análises foram realizadas em triplicata para cada lote. Este procedimento foi executado 24 horas após a preparação das formulações e repetido após 30 dias de armazenamento sob distintas condições de temperatura ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e  $40 \pm 2^\circ\text{C}$ ).

#### **7.10.3. pH**

O pH das formulações foi medido utilizando um pHmetro (MS TECNOPON, modelo mPa-210) previamente calibrado. Para cada medição, 0,5 g da formulação foi diluída em 4,5 g de água ultrapura. As leituras foram realizadas em triplicata para cada lote. O pH foi medido após 24 horas da elaboração da formulação, bem como em 30, 60, e 90 dias de armazenamento sob distintas condições de temperatura ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e  $40 \pm 2^\circ\text{C}$ ).

#### **7.10.4. Condutividade elétrica**

A condutividade das formulações foi medida utilizando um condutivímetro microprocessado (Alfakit, modelo AT-255), previamente calibrado. O eletrodo foi totalmente imerso na amostra para obtenção das leituras. A condutividade foi medida após 24 horas da elaboração da formulação, bem como em 30, 60, e 90 dias após o estresse térmico.

### **7.11. Análises estatísticas**

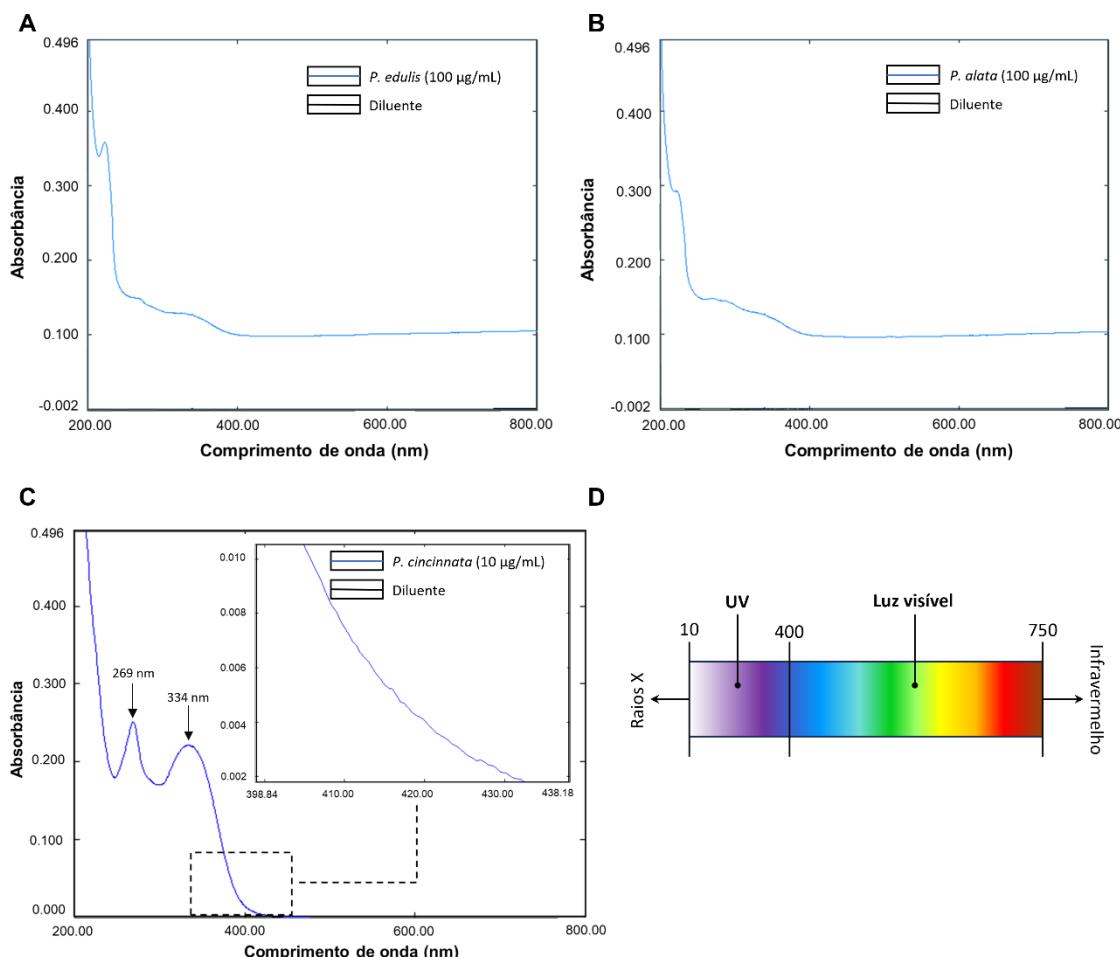
As análises estatísticas foram realizadas no *software GraphPad Prism* (versões 9.1.0 e 10.3.0). A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. Com base na distribuição dos dados, comparações múltiplas foram realizadas utilizando ANOVA one-way ou Kruskal-Wallis, seguidas pelos pós-testes de Tukey ou Dunn, respectivamente. Os dados numéricos foram expressos como média  $\pm$  erro padrão. A significância estatística foi definida como  $p < 0,05$  (intervalo de confiança de 95%). As

análises multivariadas foram realizadas no RStudio (versão 1.2.5001). A correlação foi avaliada pelo pacote Corrplot (versão 0.84), com significância estatística definida pelos testes de Spearman ou Pearson ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$ ;  $p < 0,001$ ), com base no teste de normalidade. Para construção do dendrograma foi utilizado o *software* Orange.Ink, aplicando *Hierarchical Clustering* no modelo eucladiano (normalizado). As análises de *Principal Component Analysis* (PCA) também foi realizada no mesmo *software*.

## 6. RESULTADOS

### 6.1. Espectro de absorção UV-Vis de *Passiflora*: Identificação de comprimentos de onda relevantes para fotoativação

A análise de varredura foi realizada usando um espectrofotômetro de absorção UV-Vis para estimar em quais comprimentos de onda os extratos de *Passiflora* absorvem luz, avaliando o intervalo entre 200 e 800 nm. Todas as espécies de *Passiflora* testadas no estudo apresentaram um pico crescente na faixa de luz azul, a partir de 400 nm. No entanto, *P. edulis* (Figura 20A) e *P. alata* (Figura 20B) demonstraram uma menor absorção nesta região quando comparados a *P. cincinnata* (Figura 20C) e por isso foram avaliadas em diferentes concentrações. Para *P. cincinnata*, o maior pico de absorção de luz foi observado na faixa UVA, em 269,50 nm e 334 nm. Apesar disso, observou-se um aumento a partir de 430 nm, que corresponde à luz azul, não excluindo, portanto, a possibilidade de atividade fotossensibilizadora dentro do espectro de luz visível.

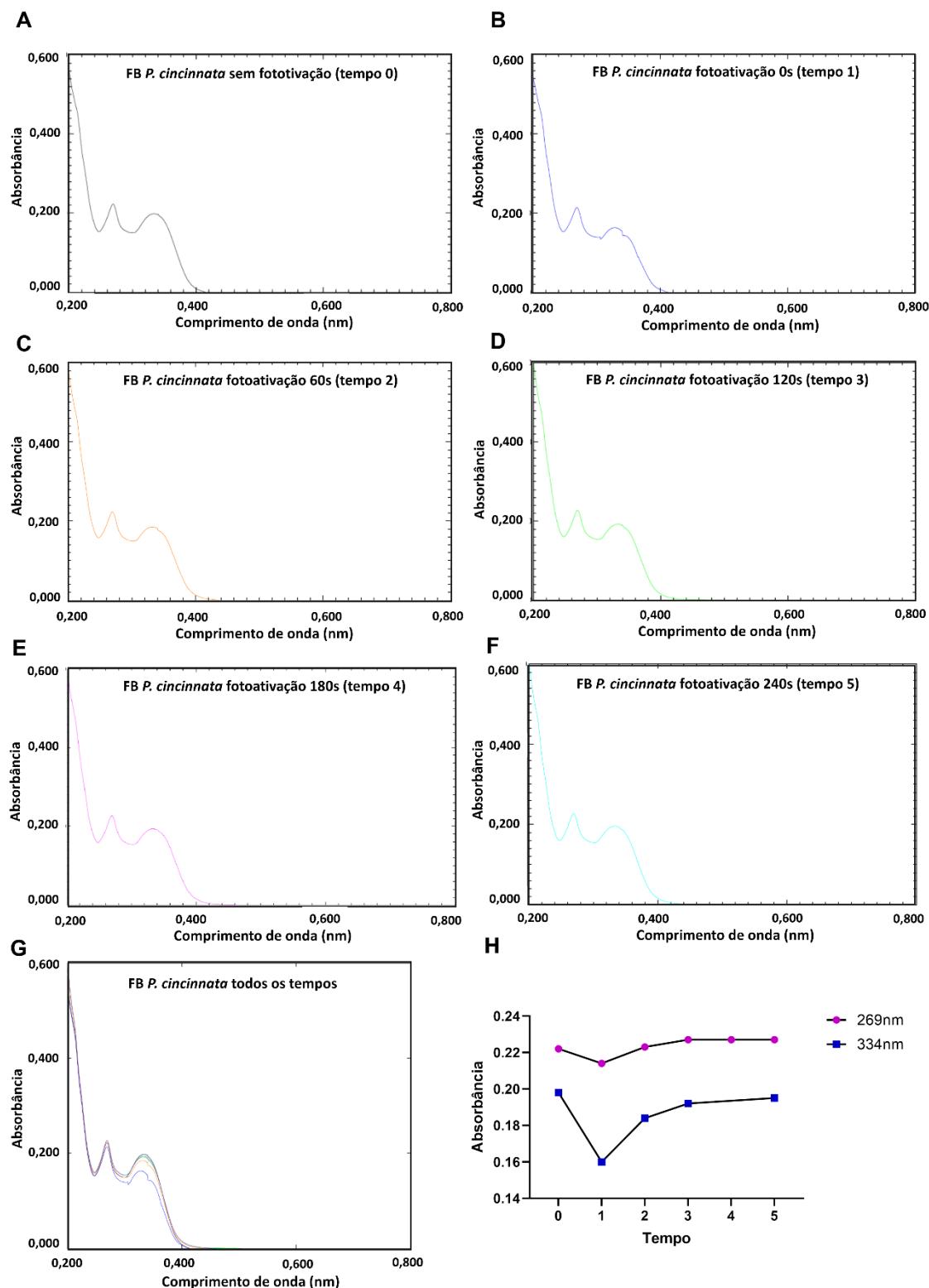


**Figura 20.** Espectro de absorção UV-Vis de espécies de *Passiflora* na faixa de 200-800 nm. Linha azul: extratos de *Passiflora*. Linha preta: Diluente (água destilada). Varredura de *P. edulis* (A). *P. alata* (B). Varredura de *P. cincinnata* (C). Faixas de comprimento de onda da radiação eletromagnética (D).

## 6.2. Fotoativação induz alterações na absorção da fração butanólica de *P. cincinnata*

Os gráficos apresentados revelam os espectros de absorção da fração butanólica de *P. cincinnata* sob diferentes condições de fotoativação, variando o tempo de exposição à luz. A **Figura 21A** exibe o espectro da fração sem fotoativação, servindo como ponto de comparação para as demais. As Figuras **21B-F** mostram os espectros após fotoativação em diferentes tempos (0, 60, 120, 180 e 240 segundos), permitindo observar as alterações na absorção em função do tempo de exposição à luz. A **Figura 21G** sobrepõe todos os espectros, facilitando a visualização das mudanças ao longo do tempo. A **Figura 21H**, por sua vez, quantifica a variação da absorbância em dois comprimentos de onda específicos (269 nm e 334 nm) em função do tempo de fotoativação.

A análise conjunta dos gráficos revela que a fotoativação induz alterações nas propriedades de absorção da fração butanólica. As mudanças observadas nos espectros e na absorbância nos comprimentos de onda específicos sugerem que a luz afeta os compostos presentes na fração. A **Figura 21H**, em particular, demonstra a cinética da fotoativação, mostrando como a absorbância nos comprimentos de onda específicos varia com o tempo de exposição à luz.

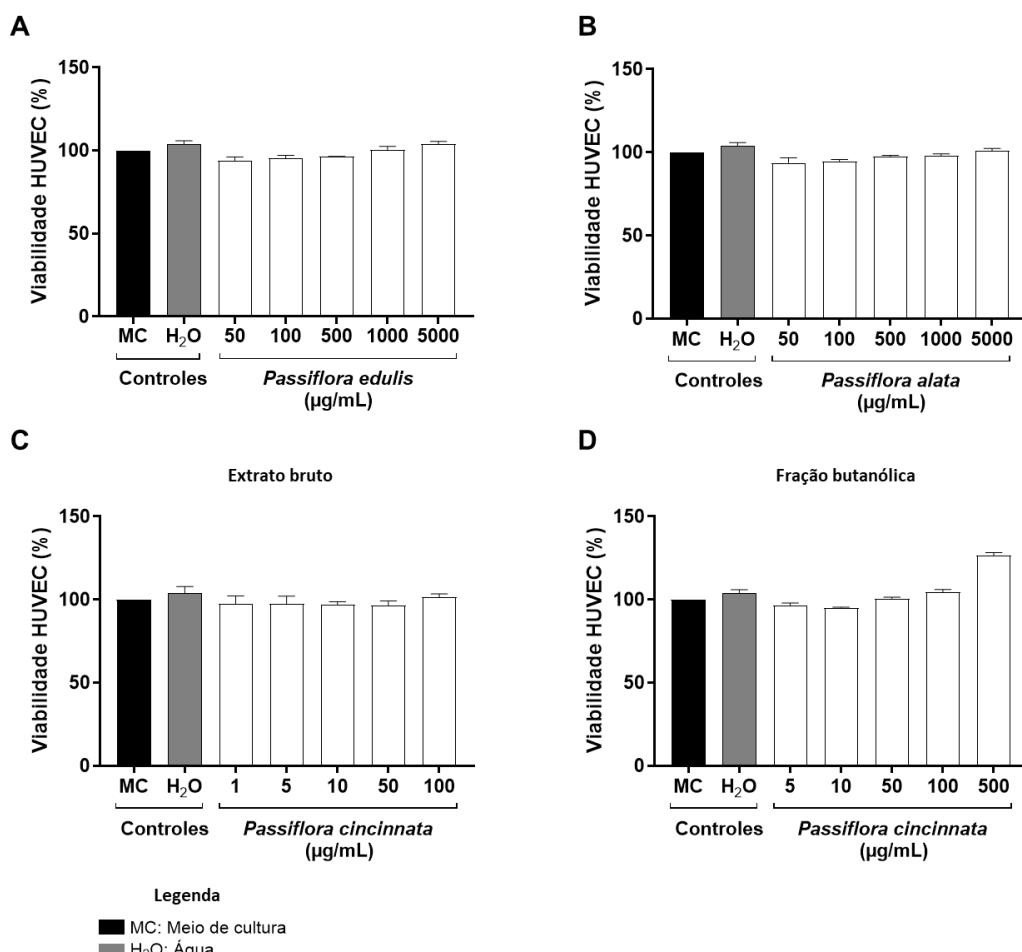


**Figura 21.** Espectros de absorção da fração butanólica purificada de *P. cincinnata* em diferentes tempos de fotoativação (0, 60, 120, 180, 240 segundos, respectivamente). Espectros de absorção da fração butanólica de *P. cincinnata* sem estar fotoativada (**A**). Espectros de absorção da fração butanólica de *P. cincinnata* no tempo 1, imediatamente após fotoativação (**B**). Espectros de absorção da fração butanólica de *P. cincinnata* no tempo 2, 60 segundos após fotoativação (**C**). Espectros de absorção da fração butanólica de *P. cincinnata* no tempo 2, 120 segundos após fotoativação (**D**). Espectros de absorção da

fração butanólica de *P. cincinnata* no tempo 2, 180 segundos após fotoativação (**E**). Espectros de absorção da fração butanólica de *P. cincinnata* no tempo 2, 240 segundos após fotoativação (**F**). Comparação dos espectros de absorção da fração butanólica de *P. cincinnata* em todos os tempos de fotoativação avaliados (**G**). Variação da absorbância nos comprimentos de onda de 269 nm e 334 nm em função do tempo (segundos) de fotoativação (**H**).

### 6.3. Os extratos de *Passiflora* não são citotóxicos em cultura de HUVEC

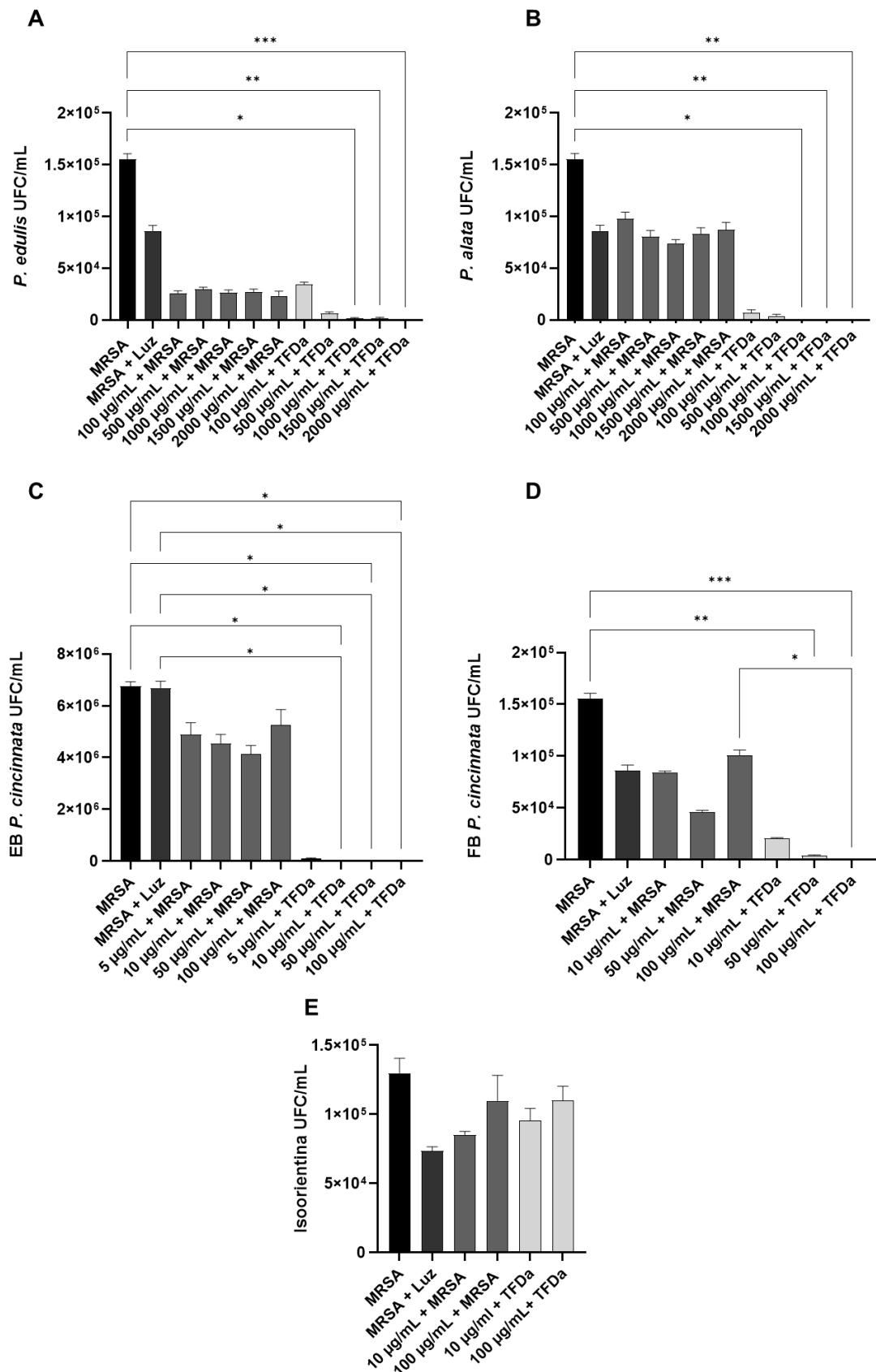
Para que os extratos de *Passiflora* pudessem ser utilizados *in vivo*, foi realizado o teste de citotoxicidade em cultura de células HUVEC em diferentes faixas de concentração, conforme exemplificado no tópico 5.5. Os gráficos comparam a viabilidade celular de HUVECs (células endoteliais da veia umbilical humana) após tratamento com diferentes concentrações de extratos de *P. edulis*, *P. alata* e *P. cincinnata* (extrato bruto e fração butanólica purificada). O eixo vertical representa a viabilidade celular em porcentagem, enquanto o eixo horizontal indica as concentrações dos extratos em µg/mL. Cada gráfico inclui controles com meio de cultura (MC) e água (H<sub>2</sub>O), o diluente dos extratos, para comparação. Nenhuma citotoxicidade foi observada para *P. edulis* (**Figura 22A**), *P. alata* (**Figura 22B**), extrato bruto *P. cincinnata* (**Figura 22C**), fração butanólica de *P. cincinnata* (**Figura 22D**) e seus diluentes.



**Figura 22.** Avaliação da citotoxicidade de extratos de espécies de *P. edulis*, *P. alata* e *P. cincinnata* (extrato bruto e fração butanólica) em cultura de células HUVEC por ensaio de MTT. As células HUVEC foram semeadas a  $3 \times 10^4$  por poço em microplacas de 96 poços. Após o tratamento, as células foram incubadas com MTT para avaliar a viabilidade celular. O extrato de *P. edulis* (**A**). O extrato de *P. alata* (**B**). O extrato bruto de *P. cincinnata* (**C**). A fração butanólica purificada de *P. cincinnata* (**D**)

#### **6.4. Espécies de *Passiflora* testadas têm capacidade fotossensibilizadora contra MRSA**

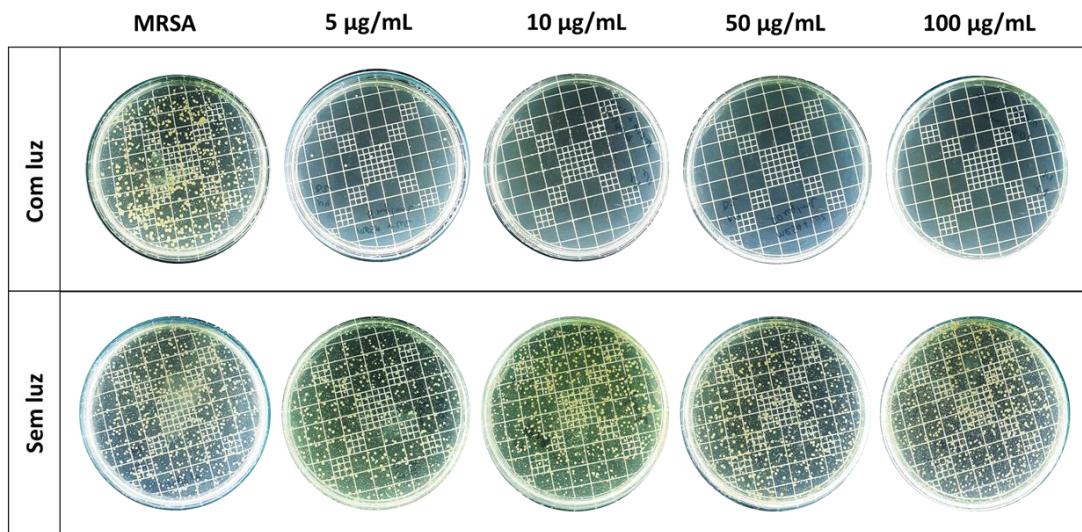
Os resultados dos ensaios indicam que várias espécies de *Passiflora* exibem atividade fotossensibilizadora contra MRSA. Esta atividade foi aumentada quando os extratos foram expostos à luz azul, particularmente, em concentrações mais baixas. Especificamente, *P. edulis* (**Figura 23A**) e *P. alata* (**Figura 23B**) demonstraram uma capacidade fotossensibilizadora na concentração de 1000 µg/mL. Já a fração butanólica (FB) de *P. cincinnata* (**Figuras 23D e 24A**) exibiu atividade fotossensibilizadora significativa na concentração de 100 µg/mL. Enquanto que o extrato bruto (EB) demonstrou possuir atividade fotossensibilizadora em concentrações menores que FB, em 10 µg/mL, 50 µg/mL e 100 µg/mL (**Figuras 23C e 24B**). Já a isoorientina, composto majoritário, presente em FB, não demonstrou uma redução tão significativa quanto EB e FB de *P. cincinnata* (**Figura 23E**).



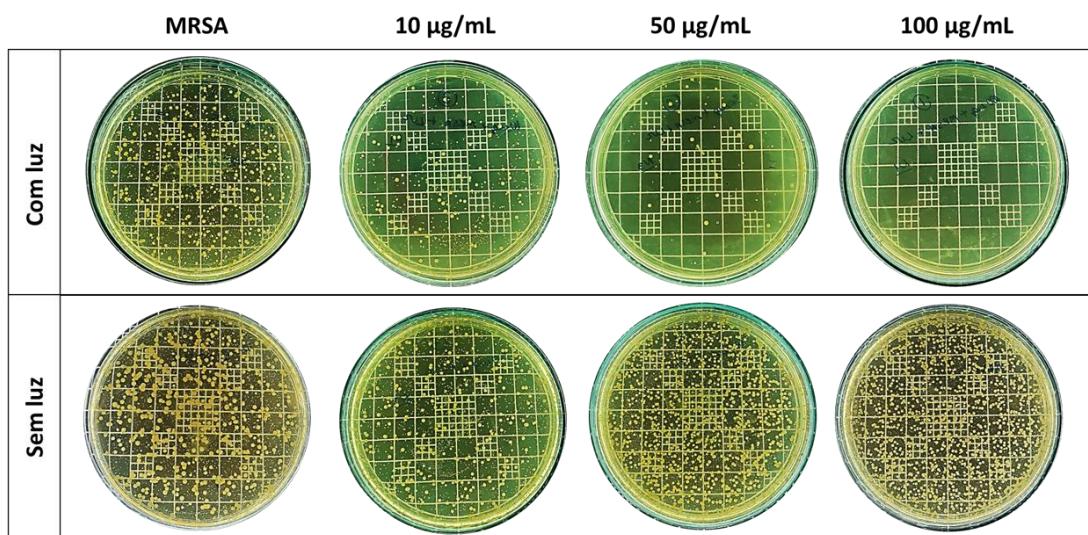
**Figura 23.** Experimento *in vitro* para avaliar a atividade fotossensibilizadora de extratos de *Passiflora*. A atividade fotossensibilizadora de *P. edulis* (A). A atividade fotossensibilizadora de *P. alata* (B). Atividade fotossensibilizadora do extrato bruto (EB) *P. cincinnata* (C). Atividade fotossensibilizadora da fração butanólica (FB)

*P. cincinnata* (D). Atividade fotossensibilizadora da isoorientina (E). O valor de  $p$  foi considerado significativo quando representado por asteriscos, onde \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ .

**A**



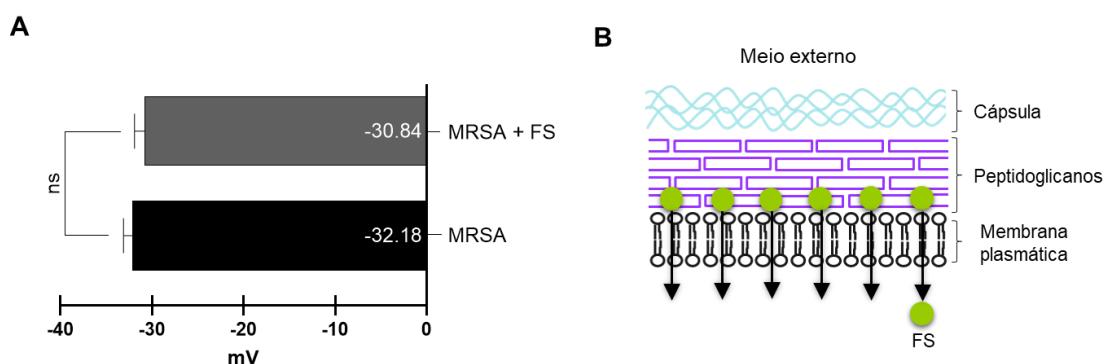
**B**



**Figura 24.** Placas de cultura de MRSA com extratos bruto (EB) e fração butanólica (FB) de *P. cincinnata*. Atividade fotossensibilizadora do extrato bruto (EB) *P. cincinnata* (A). Atividade fotossensibilizadora da fração butanólica (FB) *P. cincinnata* (B).

### 6.5. Provável internalização dos constituintes da fração butanólica de *P. cincinnata* em MRSA

Os gráficos mostram o potencial de membrana (em mV) de células de MRSA com e sem a presença de FS (FB de *P. cincinnata*). Portanto, compara o potencial de membrana entre essas duas condições (**Figura 25A**), enquanto ilustra esquematicamente as camadas da parede celular do MRSA e a possível localização de FS (**Figura 25B**). Os resultados, apresentados na **Figura 25A**, demonstraram que a exposição à FB não induziu alterações estatisticamente significativas no potencial Zeta de MRSA, o potencial de membrana de MRSA com o FS foi de  $-30,84 \pm 2,439$  mV e de MRSA sem FS foi de  $-32,18 \pm 2,116$  mV. A **Figura 25B** ilustra a internalização do FS para a inativação bacteriana mediada pelos constituintes da fração butanólica de *P. cincinnata*.

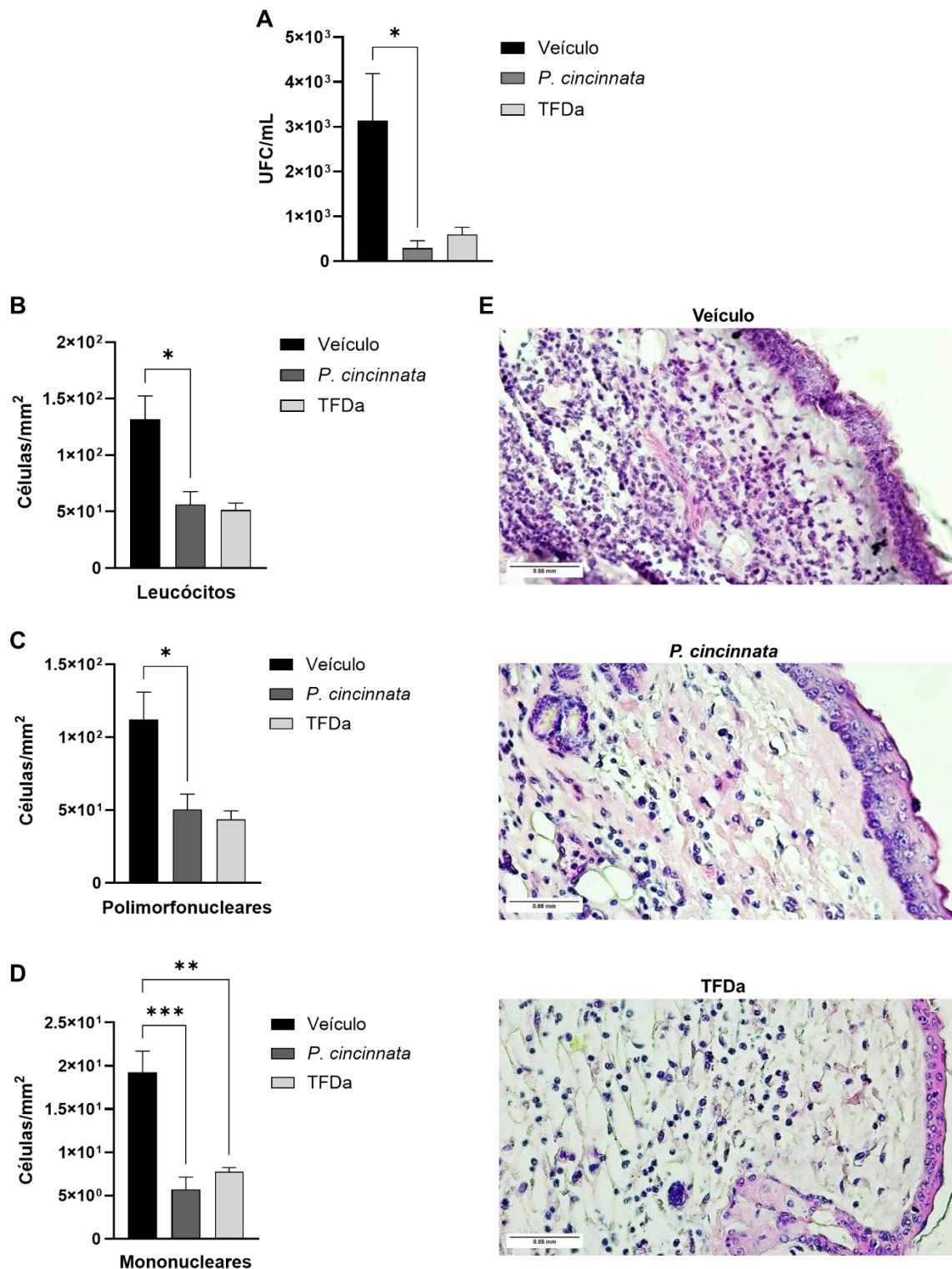


**Figura 25. Avaliação da localização da fração butanólica de *P. cincinnata* em MRSA.** Potencial zeta de MRSA sem e com FS fotoativado (A). Diagrama esquemático para ilustrar a internalização do FS. Uma vez internalizado, e na presença de luz, o FS pode desencadear sua atividade fotodinâmica contra MRSA. Isso ocorre por meio de reações fotoquímicas dos Tipos I e II, as quais resultam em danos bacterianos. (B).

## **6.6. Os animais do grupo Veículo apresentaram maior infiltrado de células leucocitárias e maior carga bacteriana**

Os animais do grupo controle (Veículo) apresentaram maior carga bacteriana (**Figura 26A**) e maior número de infiltrados totais de células leucocitárias (**Figura 26B**) e leucócitos polimorfonucleares (**Figura 26C**) em comparação com o grupo tratado com FB de *P. cincinnata*. Houve também um aumento no número de células mononucleares (**Figura 26D**) no grupo controle em comparação com os animais tratados com *P. cincinnata* e TFDa.

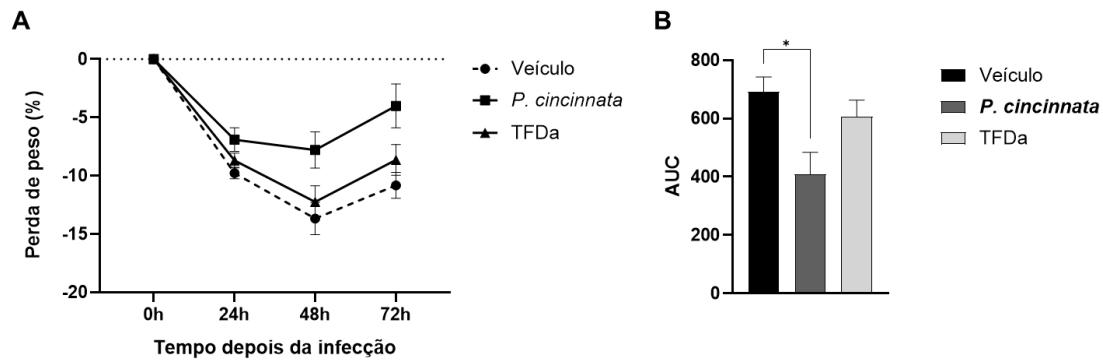
Em todos os resultados, o grupo Veículo apresenta uma contagem significativamente maior em comparação com os tratamentos com a fração butanólica purificada de *P. cincinnata* e TFDa, indicando uma redução na infiltração celular inflamatória (nos animais tratados). As imagens histológicas (**Figura 26D**) mostram a morfologia tecidual e a presença de células inflamatórias nos diferentes tratamentos, corroborando os resultados quantitativos.



**Figura 26.** Carga bacteriana e o influxo de células leucocitárias na orelha. A carga bacteriana do macerado da orelha (**A**). Contagem total de todas as células leucocitárias presentes no infiltrado (**B**). O número de leucócitos polimorfonucleares (**C**). O número de leucócitos mononucleares (**D**). Fotomicrografias representativas dos infiltrados tiradas na objetiva 40X representando os grupos Veículo, *P. cincinnata* e TFDa (**E**). O valor de  $p$  foi considerado significativo quando representado por asteriscos, onde \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ .

### 6.7. Animais tratados com *P. cincinnata* apresentaram menor variação de peso

Os animais tratados com *P. cincinnata* (fotoativada ou não) apresentaram menor variação de peso quando comparados ao grupo controle (Figuras 27A e 27B).



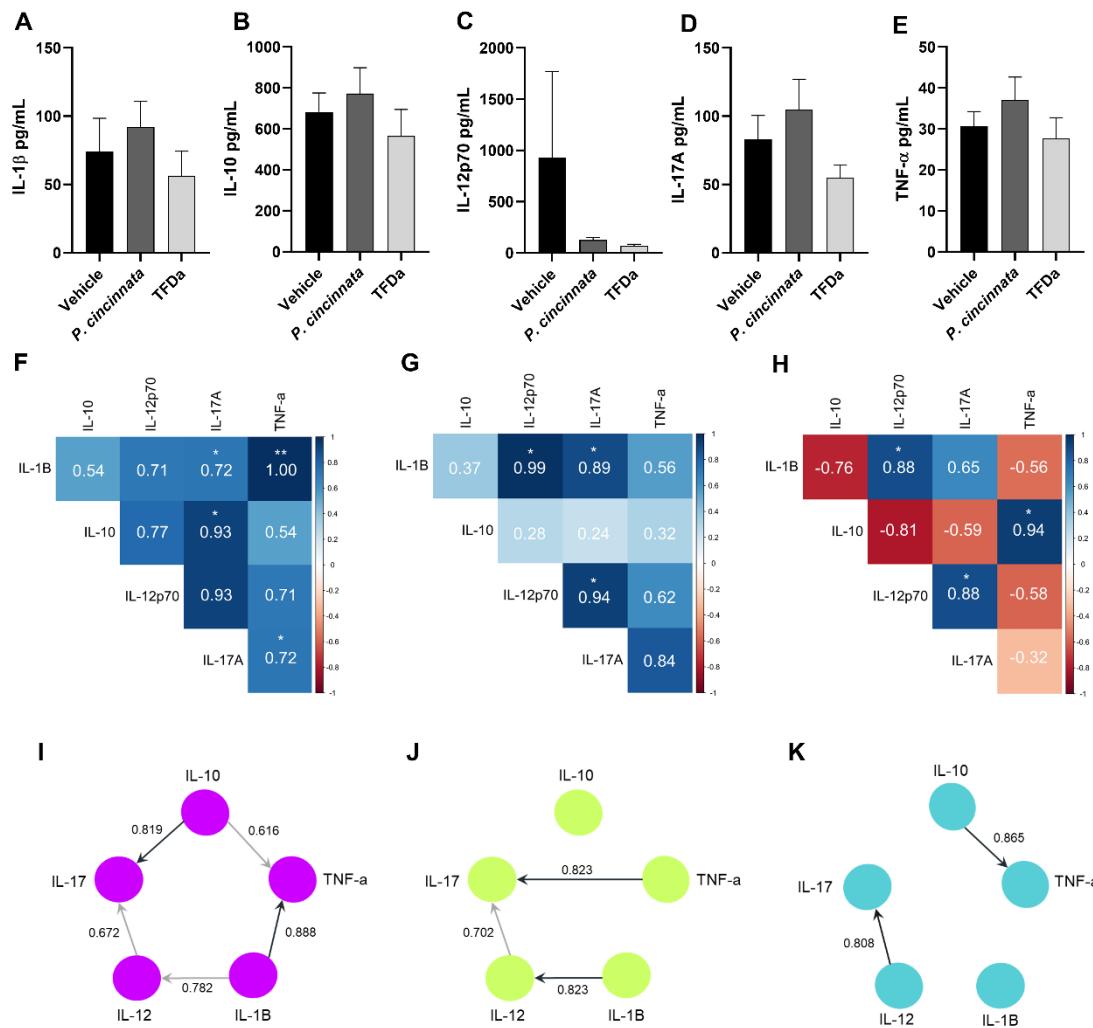
**Figura 27. Peso do animal após infecção intradérmica e tratamento.** Percentual de perda de peso de cada animal, considerando seu peso inicial (A). A área sob a curva do percentual (AUC) de perda de peso para cada animal, referente ao gráfico A (B). O valor de  $p$  foi considerado significativo quando representado por asteriscos, onde \*  $p < 0,05$ .

### **6.8. As citocinas interagiram de forma diferente entre si no linfonodo drenante**

A análise das citocinas IL-1 $\beta$  (**Figura 28A**), IL-12p70 (**Figura 28B**), IL-17A (**Figura 28C**), IL-10 (**Figura 28D**) e TNF- $\alpha$  (**Figura 28E**) não revelou diferenças significativas entre os grupos experimentais.

Entretanto, ao examinar as correlações entre as citocinas, observa-se padrões distintos entre os grupos Veículo, *P. cincinnata* e TFDa (**Figuras 28F-H**). No grupo *P. cincinnata*, foram encontradas correlações positivas entre IL-12p70 e IL-17A ( $r = 0,94$ ) e entre IL-12p70 e IL-1 $\beta$  ( $r = 0,99$ ), resultados semelhantes aos observados no grupo TFDa ( $r = 0,88$  para ambas as correlações). Curiosamente, essas correlações estavam ausentes no grupo Veículo. Por outro lado, o grupo Veículo apresentou correlações positivas entre IL-10 e IL-17A ( $r = 0,93$ ) e entre TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  ( $r = 1,00$ ), além da correlação entre IL-17A e IL-1 $\beta$  ( $r = 0,72$ ), também observada no grupo *P. cincinnata* ( $r = 0,89$ ). Em geral, o grupo TFDa exibiu um maior número de correlações negativas em comparação aos demais grupos.

A análise das redes bayesianas (**Figuras 28I-K**) revelou diferenças no comportamento das citocinas entre os grupos. O grupo Veículo apresentou o maior número de interações entre as citocinas, indicando uma maior complexidade na comunicação celular. Em contraste, o grupo TFDa exibiu o menor número de interações, sugerindo uma menor influência das citocinas umas sobre as outras. No grupo TFDa, destacaram-se as interações de IL-10 influenciando TNF- $\alpha$  (limiar de 0,865) e de IL-12p70 influenciando IL-17A (limiar de 0,808), indicando uma maior força dessas interações.

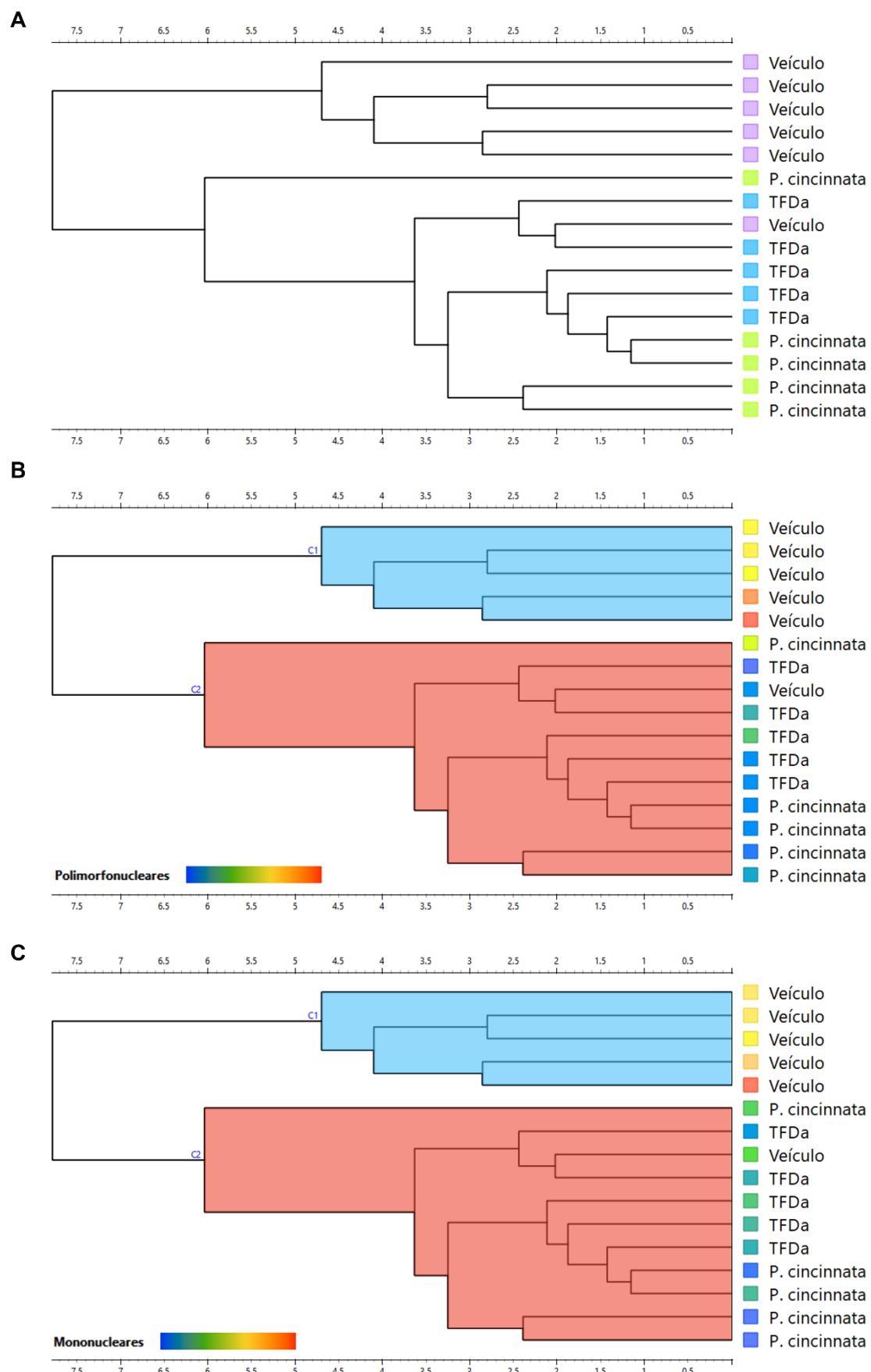


**Figura 28. Ensaios de citocinas nos linfonodos drenantes da orelha.** Os linfonodos foram macerados em 1mL de soro fisiológico estéril e centrifugados. Amostras de sobrenadantes linfonodais foram usadas para medir citocinas (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-12p70, IL-17A, IL-10) por ELISA. TNF- $\alpha$  (A). IL-1 $\beta$  (B). IL-12p70 (C). IL-17A (D). IL-10 (E). Correlações de citocinas do grupo de veículos (F). Correlações de citocinas do grupo *P. cincinnata* (G). Correlações de citocinas do grupo TFDa (H). Redes bayesianas de citocinas do grupo veículo (I). Redes bayesianas de citocinas do grupo *P. cincinnata* (J). Redes bayesianas de citocinas do grupo TFDa (K). Redes bayesianas (bnlearn versões 4.5 e bnviewer 0.1.4) foram usadas para construir/apresentar as relações probabilísticas entre os marcadores inflamatórios em cada grupo. Nas redes, as setas indicam causalidade, e todas têm o grau de força de inferência de uma variável relacionada à outra. A seta cinza tem um limiar igual ou  $>0,6$  e menor ou igual a 0,8. A seta preta tem um limiar  $>0,8$  e menor ou igual a 1. Citocinas que não interagiram na rede bayesiana com um nível de limiar  $>0,6$ . O Corrplot versão 0.84 foi usado para correlação. As correlações positivas foram indicadas em azul e as negativas em vermelho. Tons de cores mais escuros indicam valores r mais altos. Os valores de p ( $p$ ) foram indicados com base nos testes de correlação de classificação de Spearman ou Pearson (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ).

### 6.9. Animais tratados com *P. cincinnata* se agrupam por similaridade

As Figuras 29A-C apresentam dendrogramas que ilustram a similaridade entre os grupos experimentais (Veículo, *P. cincinnata* e TFDa) com base em variáveis específicas. A Figura 29A mostra o agrupamento dos grupos sem a aplicação de variáveis específicas, considerando as seguintes variáveis: carga bacteriana (UFC/mL), leucócitos (células/mm<sup>2</sup>), polimorfonucleares (células/mm<sup>2</sup>), mononucleares (células/mm<sup>2</sup>), perda de peso em 24h, 48h e 72h (%), IL-1β, IL-10, IL-12p70, IL-17A e TNF-α (pg/mL). Observa-se que o grupo Veículo tende a se agrupar, indicando maior similaridade entre si, enquanto os grupos *P. cincinnata* e TFDa formam agrupamentos distintos, sugerindo diferenças em relação ao grupo Veículo. A análise de todas as variáveis sugere que a divisão dos animais tratados com *P. cincinnata* (fotoativada ou não) é influenciada principalmente pelos leucócitos.

A Figura 29B apresenta o agrupamento dos grupos com base na variável "polimorfonucleares". A escala de cores, variando de azul (menor intensidade) a vermelho (maior intensidade), indica a intensidade da variável. Os grupos se dividem em dois clusters principais (C1 e C2), com o grupo Veículo em C1 e os grupos *P. cincinnata* e TFDa em C2. A Figura 29C apresenta o agrupamento com base na variável "mononucleares". Semelhante à Figura 29B, a escala de cores indica a intensidade da variável, e os grupos se dividem nos mesmos clusters (C1 e C2), com o grupo Veículo em C1 e os grupos *P. cincinnata* e TFDa em C2. De uma forma geral, os dendrogramas demonstram que os grupos experimentais podem ser diferenciados com base nas variáveis "polimorfonucleares" e "mononucleares". Os grupos *P. cincinnata* e TFDa apresentam maior similaridade entre si, enquanto o grupo Veículo se mostra mais distante em relação aos demais.



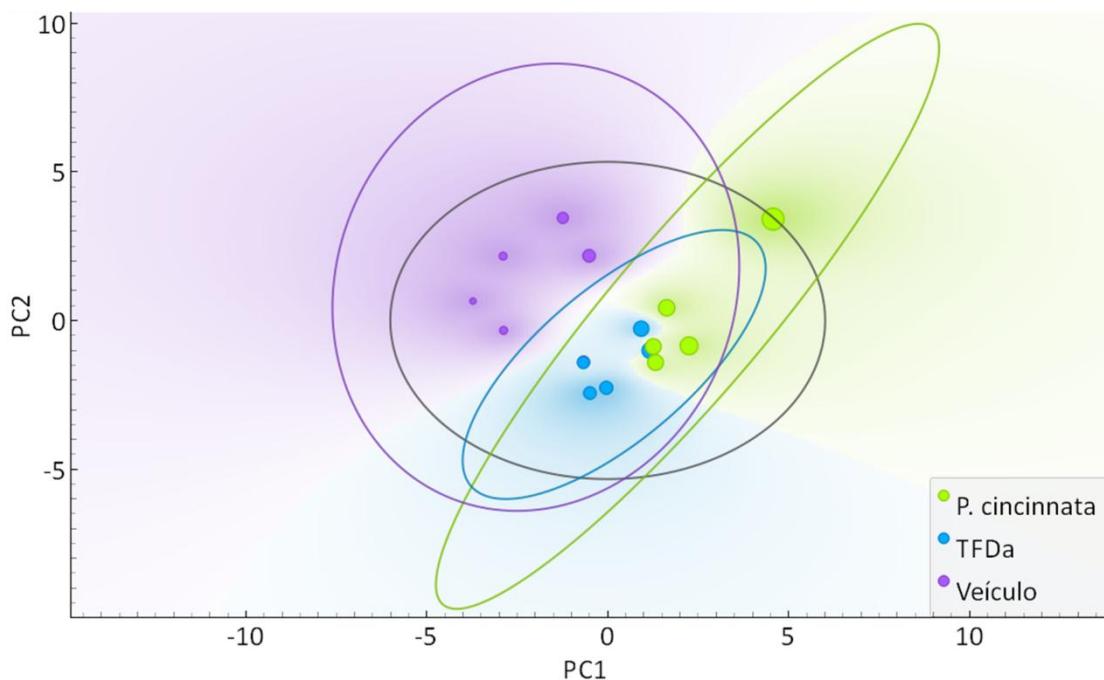
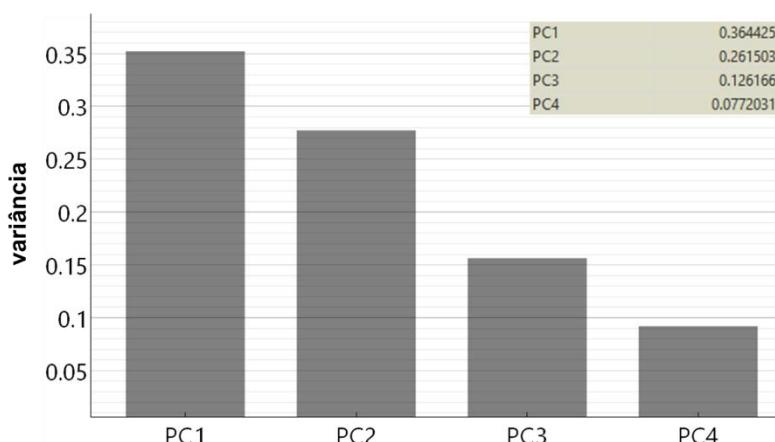
**Figura 29.** Dendrogramas mostrando a similaridade entre os grupos experimentais Veículo, *P.*

**cincinnata e TFDa.** Agrupamento baseado em todas as variáveis (**A**). Agrupamento baseado na variável Polimorfonucleares (**B**). Agrupamento baseado na variável Mononucleares (**C**). A escala de cores indica a intensidade das variáveis, variando de azul (menor intensidade) a vermelho (maior intensidade).

### **6.10. Redução de dimensionalidade e agrupamento por componentes principais demonstram similaridade e distinções entre os animais**

As **Figuras 30A e 30B** representam resultados de uma Análise de Componentes Principais (PCA), uma técnica estatística utilizada para reduzir a dimensionalidade de dados complexos, transformando-os em um conjunto menor de variáveis (componentes principais) que explicam a maior parte da variância dos dados originais. Na **Figura 30A** é possível observar um gráfico de dispersão que mostra a distribuição dos grupos experimentais (Veículo, *P. cincinnata* e TFDa) nos dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2). Cada ponto representa uma amostra individual, e as elipses coloridas representam a distribuição dos grupos. A posição dos pontos e a sobreposição das elipses indicam a similaridade ou dissimilaridade entre os grupos. É possível observar que os grupos *P. cincinnata* e TFDa se sobrepõem parcialmente, sugerindo similaridade entre eles, enquanto o grupo Veículo se mostra mais distinto.

Já na **Figura 30B** é possível observar o gráfico de barras que mostra a variância explicada por cada um dos quatro primeiros componentes principais (PC1, PC2, PC3 e PC4). A tabela ao lado do gráfico mostra os valores numéricos da variância explicada por cada componente, sendo essa variância cumulativa, logo, as somas dos componentes indicam a totalidade da somatória de suas variâncias. Observa-se que o PC1 explica a maior parte da variância (36,44%), seguido pelo PC2 (26,15%). Isso indica que esses dois componentes principais são os mais importantes para explicar as diferenças entre os grupos experimentais, pois, juntos, representam cerca de aproximadamente 63% da variância. Portanto, o PCA revela que os grupos experimentais podem ser diferenciados com base nos dois primeiros componentes principais, que explicam a maior parte da variância dos dados. Os grupos *P. cincinnata* e TFDa apresentam maior similaridade entre si, enquanto o grupo Veículo se mostra distinto.

**A****B**

**Figura 30. Análise de Componentes Principais (PCA) dos grupos experimentais Veículo, *P. cincinnata* e TFDa.** Gráfico de dispersão mostrando a distribuição dos grupos nos dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) (A). Gráfico de barras mostrando a variância explicada por cada um dos quatro primeiros componentes principais (PC1, PC2, PC3 e PC4) (B).

### 6.11. PCA revela influência das variáveis e distinção do grupo Veículo

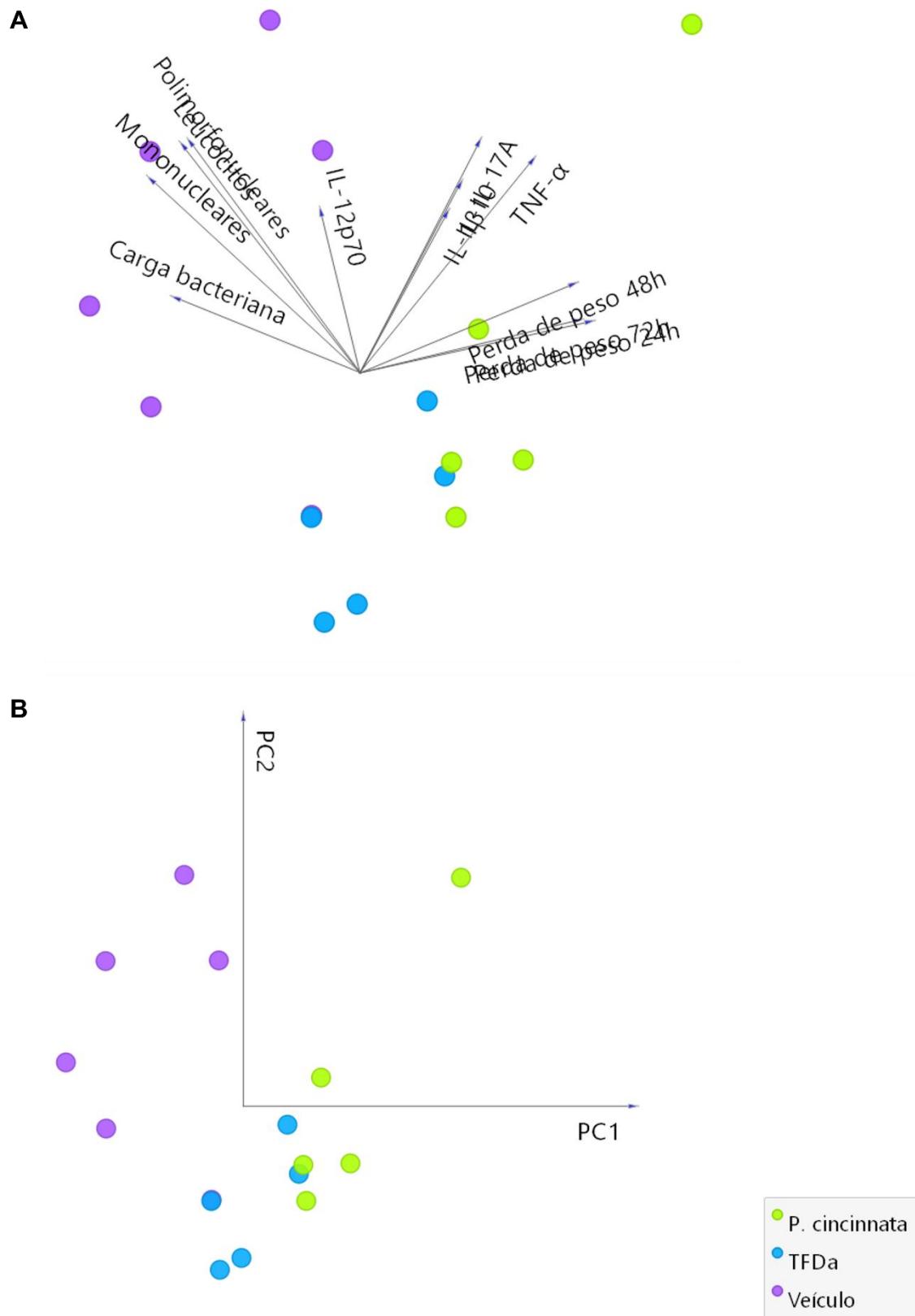
Na **Figura 31A** o biplot mostra a relação entre as variáveis originais e os dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2). Os pontos representam as amostras individuais, coloridos de acordo com os grupos experimentais (Veículo, *P. cincinnata* e TFDa). Os vetores representam as variáveis originais, indicando a direção e a magnitude da influência de cada variável nos componentes principais. Quanto maior o vetor, maior a influência da variável. A posição dos pontos e a direção dos vetores ajudam a interpretar as diferenças entre os grupos experimentais em relação às variáveis originais.

Assim sendo, as variáveis de perda de peso (24h, 48h e 72h) estão correlacionadas positivamente com o PC1, o que significa que amostras com maiores valores de perda de peso tendem a ter valores mais altos de PC1. Já as variáveis de carga bacteriana, Mononucleares e Polimorfonucleares estão correlacionadas negativamente com o PC1, o que significa que amostras com maiores valores dessas variáveis tendem a ter valores mais baixos de PC1 (**Figura 31A**). Como foi retratado anteriormente, é importante notar que a influência de uma variável no PC1 é determinada tanto pela magnitude quanto pela direção do vetor. Quanto maior o vetor e mais próximo ele estiver do eixo PC1, maior a influência da variável.

Portanto, observa-se uma clara separação dos grupos ao longo do PC1. As amostras do grupo controle (roxo) tendem a se agrupar no lado esquerdo do gráfico, associadas positivamente com variáveis como Carga bacteriana (inferida pela proximidade do vetor), Mononucleares e Polimorfonucleares. Em contraste, os grupos tratados com *P. cincinnata* (verde) e TFDa (azul) se distribuem mais à direita do PC1, indicando uma menor carga bacteriana e, possivelmente, uma modulação da resposta inflamatória em comparação com o controle. Os vetores associados à perda de peso em 48h e 72h (Perda de peso 48h e Perda de peso 72h) apontam para a esquerda, sugerindo que o grupo controle também teve maior perda de peso.

Na **Figura 31B** o gráfico de dispersão mostra a distribuição dos grupos experimentais (Veículo, *P. cincinnata* e TFDa) nos dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2). Cada ponto representa uma amostra individual, e as cores representam os grupos experimentais. A posição dos pontos indica a similaridade ou dissimilaridade entre os grupos. É possível observar que os grupos *P. cincinnata* e TFDa se sobrepõem parcialmente, sugerindo similaridade entre eles, enquanto o grupo Veículo se mostra mais distinto. E isto, mais uma vez, revela que os grupos experimentais podem ser

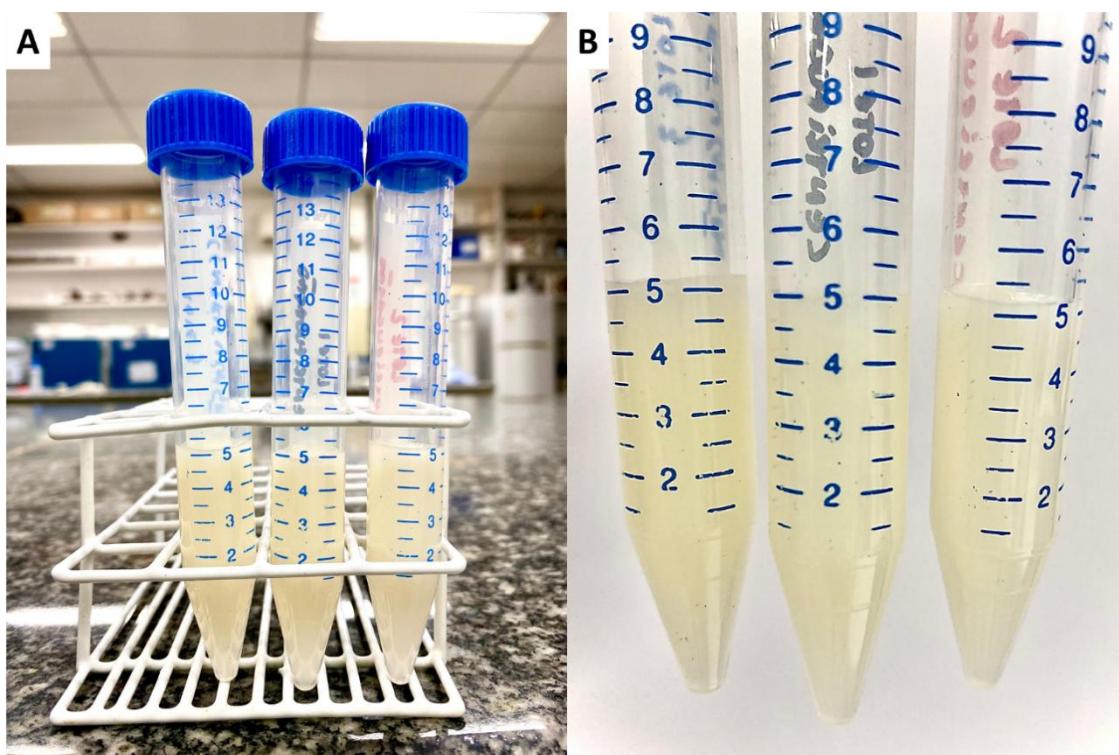
diferenciados com base nos dois primeiros componentes principais, que explicam a maior parte da variância dos dados. O biplot (**Figura 31A**) ajuda a interpretar as diferenças entre os grupos em relação às variáveis originais, enquanto o gráfico de dispersão (**Figura 31B**) mostra a distribuição dos grupos nos componentes principais.



**Figura 31. Análise de Componentes Principais (PCA) dos grupos experimentais (Veículo, *P. cincinnata* e TFDa) e variáveis analisadas.** Biplot mostrando a relação entre as variáveis originais e os dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) (A). Gráfico de dispersão mostrando a distribuição dos grupos nos dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) (B).

### 6.12. Ausência de instabilidade mediada pela gravidade na emulsão desenvolvida

Com o intuito de estabelecer a fração butanólica purificada de *P. cincinnata* como uma alternativa eficaz para a entrega e aplicação de seus bioativos, uma emulsão para uso tópico foi desenvolvida. Após realização da formulação, com as devidas proporções exemplificadas na **Tabela 1**, do tópico 7.10, foi realizado teste de centrifugação após 24 horas para avaliar a estabilidade da formulação. Os resultados do teste de centrifugação sugerem que a formulação é estável a alterações mediadas pela gravidade, já que não houve mudanças nos parâmetros macroscópicos, separação de fases ou viscosidade (**Figuras 32A e 32B**).



**Figura 32.** Emulsão após o processo de centrifugação. A imagem é composta por duas fotos que mostram os resultados do teste de centrifugação realizado na emulsão (A e B).

### 6.13. Emulsão apresenta comportamento de um fluido pseudoplástico e tixotrópico e viscosidade sofre variação na temperatura de 40 °C

Este estudo investigou o comportamento da viscosidade de uma amostra sob diferentes condições de armazenamento, variando a temperatura e o tempo. A viscosidade foi medida em função da taxa de cisalhamento, e os resultados são apresentados em gráficos que relacionam essas duas variáveis. Além disso, foram calculadas a Área Sob a Curva (AUC) e a Viscosidade mínima aparente para cada condição, permitindo uma análise comparativa do impacto do armazenamento na viscosidade da amostra.

Conforme demonstrado na **Tabela 2**, os parâmetros reológicos da formulação com a fração butanólica purificada foram caracterizados por um índice de fluxo de 0,65 e um índice de consistência de 7601 cP na temperatura de  $4 \pm 2$  °C. Na temperatura de  $25 \pm 2$  °C foi observado um índice de fluxo de 0,73 e um índice de consistência de 7962 cP. Já na temperatura de  $40 \pm 2$  °C foi observado um índice de fluxo de 0,68 e um índice de consistência de 9724 cP. A viscosidade mínima aparente variou entre 7495,7339 e 9601,9511 cP (**Figura 28G**). Os índices de fluidez e consistência foram calculados utilizando o modelo de Herschel-Bulkley. Os valores dos índices de fluidez (**Tabela 2**) foram inferiores a 1,0, demonstrando o comportamento de fluidez pseudoplástica.

**Tabela 2:** Índices de fluxo e consistência da emulsão inicial e após 30 dias

Parâmetros analisados	Inicial*	Temperaturas de armazenamento (30 dias)		
		$4 \pm 2$ °C	$25 \pm 2$ °C	$40 \pm 2$ °C
Índice de fluxo	$0,6 \pm 0,06$	0,65	0,73	0,68
Índice de consistência	$8251 \pm 493,7$	7601	7962	9724

\* Dados são expressos como média e desvio padrão.

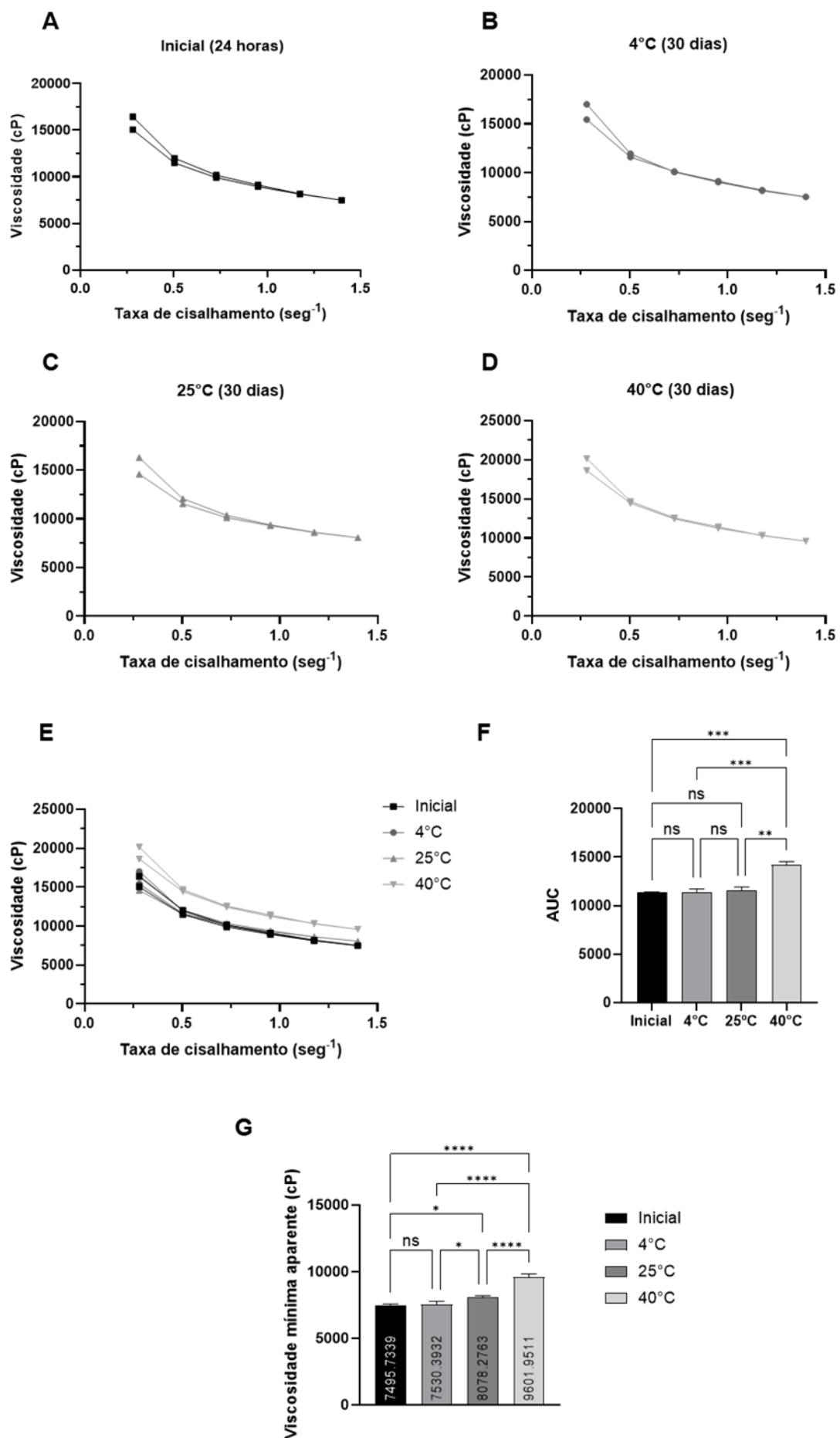
Além disso, a curva reológica (**Figura 33A-E**) demonstra comportamento tixotrópico, uma característica típica de fluidos não newtonianos, evidenciada pela curva ascendente com valores superiores à curva descendente. Ou seja, em todas as condições testadas, a viscosidade da amostra diminui à medida que a taxa de cisalhamento aumenta. No entanto, a magnitude dessa diminuição varia dependendo da temperatura e do tempo de armazenamento.

A amostra inicial (**Figura 33A**) apresenta uma alta viscosidade em baixas taxas de cisalhamento, com uma queda gradual à medida que a taxa aumenta. Quando a amostra é submetida a  $4 \pm 2$  °C (30 dias), a mesma mantém um comportamento semelhante ao inicial, com pouca alteração na viscosidade (**Figura 33B**). A amostra armazenada a  $25 \pm$

2 °C mantém mesmo comportamento observado para temperatura de 4 ± 2 °C (30 dias) (**Figura 33C**). Já na amostra submetida a 40 ± 2 °C (30 dias), observa-se uma redução significativa na viscosidade (por provável perda de água pela evaporação) em comparação com a amostra inicial e a amostra refrigerada, especialmente em altas taxas de cisalhamento (**Figura 33D**).

A AUC, que representa a viscosidade geral da amostra, confirma as observações anteriores. A amostra inicial e as amostras armazenada a 4 ± 2 °C e a 25 ± 2 °C apresentaram valores de AUC semelhantes, enquanto a amostra armazenada a 40 ± 2 °C mostraram valores significativamente menores. Essa diferença é estatisticamente significativa ( $p<0,05$ ), indicando que o armazenamento em temperaturas mais altas leva a um aumento da viscosidade (**Figura 33F**).

A viscosidade mínima aparente, medida em altas taxas de cisalhamento, também mostra uma tendência semelhante. A amostra inicial e a amostra armazenada a 4 ± 2 °C apresentaram valores semelhantes, enquanto as amostras armazenadas a 25 ± 2 °C e 40 ± 2 °C apresentaram valores significativamente maior ( $p < 0,0001$ ) (**Figura 33G**).



**Figura 33. Estabilidade da viscosidade ao longo de 30 dias em diferentes temperaturas ( $4 \pm 2$  °C,  $25 \pm 2$  °C e  $40 \pm 2$  °C).** Reograma da formulação após 24 horas (A). Reograma da formulação após 30 dias armazenada a  $4 \pm 2$  °C (B). Reograma da formulação após 30 dias armazenada a  $25 \pm 2$  °C (C). Reograma da formulação após 30 dias armazenada a  $40 \pm 2$  °C (D). Reograma da formulação após 30 dias armazenada a  $4 \pm 2$  °C,  $25 \pm 2$  °C e  $40 \pm 2$  °C (E). Área sob a curva do reograma da formulação após 30 dias armazenada a  $4 \pm 2$  °C,  $25 \pm 2$  °C e  $40 \pm 2$  °C (F). Viscosidade mínima aparente da formulação após 24 horas e 30 dias, armazenadas a  $4 \pm 2$  °C,  $25 \pm 2$  °C e  $40 \pm 2$  °C (G). O valor de  $p$  foi considerado significativo quando representado por asteriscos, onde \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  e ns: não significativo.

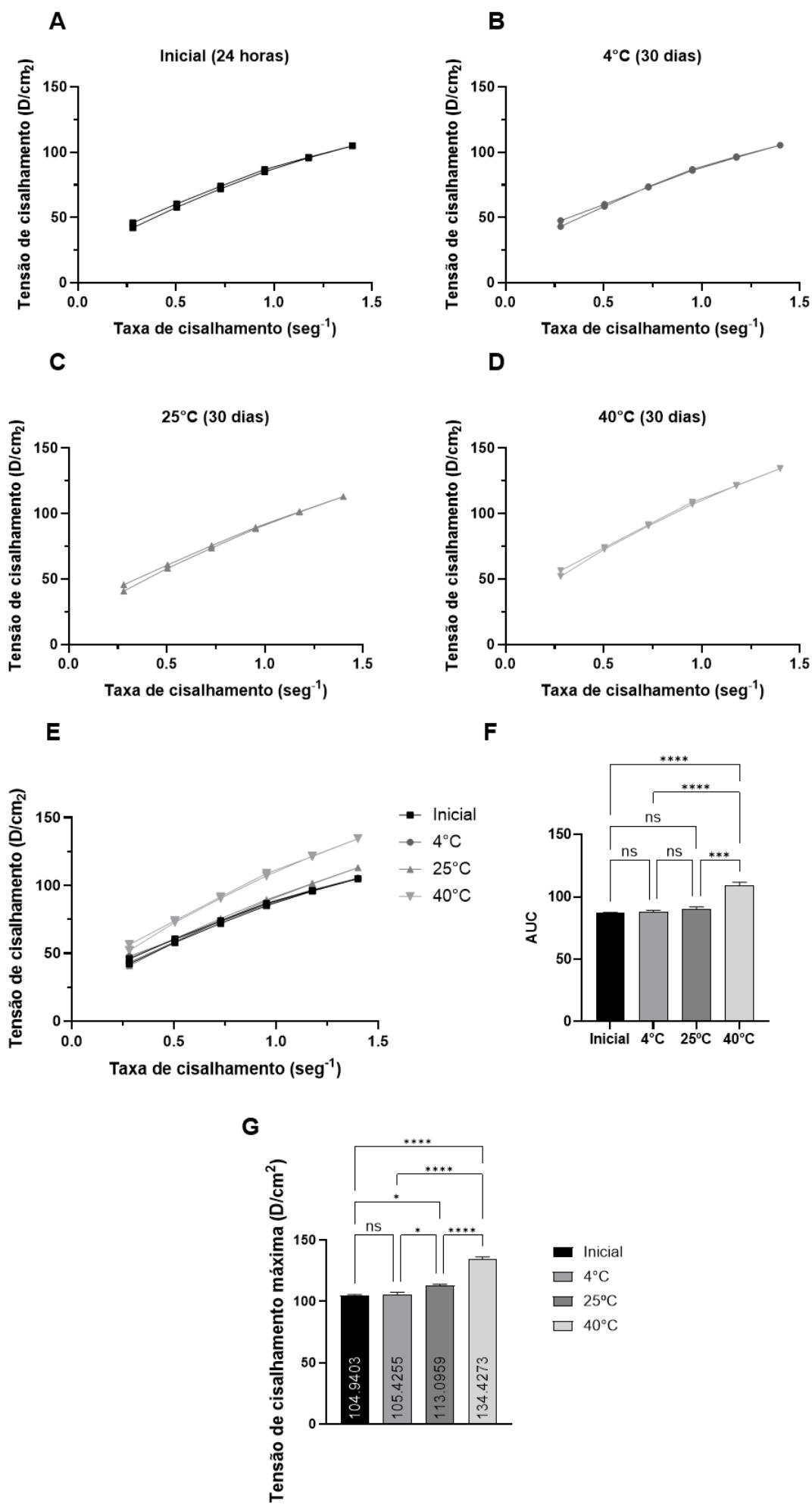
#### **6.14. Impacto da temperatura de armazenamento na tensão de cisalhamento da amostra: estabilidade em 4 °C e 25 °C e aumento significativo a 40 °C**

Assim como explicado no tópico 6.12, este estudo investigou o comportamento da tensão de cisalhamento (ao invés da viscosidade) de uma amostra sob diferentes condições de armazenamento, variando a temperatura e o tempo. A tensão de cisalhamento foi medida em função da taxa de cisalhamento, e os resultados são apresentados em gráficos que relacionam essas duas variáveis. Além disso, foram calculadas a Área Sob a Curva (AUC) e a tensão de cisalhamento máxima para cada condição, permitindo uma análise comparativa do impacto do armazenamento na tensão de cisalhamento da amostra.

As análises reológicas revelaram que a formulação apresenta comportamento de fluido pseudoplástico (não newtoniano), visto que não apresentou relação não linear entre tensão de cisalhamento e taxa de cisalhamento. Além disso, a análise da tensão de cisalhamento revelou que, nas temperaturas de  $4 \pm 2$  °C (**Figura 34B**) e  $25 \pm 2$  °C (**Figura 34C**), não houve alterações significativas em relação ao ponto inicial (**Figuras 34A**) durante os 30 dias de armazenamento (**Figura 34E**). No entanto, observou-se uma variação na tensão de cisalhamento quando a formulação foi submetida a  $40 \pm 2$  °C (**Figuras 34D**). Essa alteração pode ser atribuída à perda de água por evaporação em temperaturas mais elevadas, um fenômeno também observado nos resultados da viscosidade, conforme discutido na seção 6.7.

A AUC, que representa a tensão de cisalhamento geral da amostra, confirma as observações anteriores. A amostra inicial e as amostras armazenadas a  $4 \pm 2$  °C e  $25 \pm 2$  °C tiveram valores de AUC semelhantes, enquanto a amostra armazenada  $40 \pm 2$  °C mostrou valores significativamente maiores. Essa diferença é estatisticamente significativa ( $p < 0,001$  para 40 °C), indicando que o armazenamento em temperaturas mais altas leva a um aumento substancial da tensão de cisalhamento (**Figura 34F**).

A tensão de cisalhamento máxima, medida na maior taxa de cisalhamento testada, também mostra uma tendência semelhante. A amostra inicial e a amostras armazenadas a  $4 \pm 2$  °C e  $25 \pm 2$  °C apresentaram valores semelhantes, enquanto as amostras armazenadas a  $40 \pm 2$  °C apresentaram valores significativamente maiores ( $p < 0,0001$ ) (**Figura 34G**).



**Figura 34. Estabilidade da tensão de cisalhamento ao longo de 30 dias em diferentes temperaturas ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e  $40 \pm 2^\circ\text{C}$ ).** Reograma da formulação após 24 horas (A). Reograma da formulação após 30 dias armazenada a  $4 \pm 2^\circ\text{C}$  (B). Reograma da formulação após 30 dias armazenada a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  (C). Reograma da formulação após 30 dias armazenada a  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  (D). Reograma da formulação após 30 dias armazenada a  $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  (E). Área sob a curva do reograma da formulação após 30 dias armazenada a  $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  (F). Tensão de cisalhamento máxima aparente da formulação após 24 horas e 30 dias, armazenadas a  $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  (G). O valor de  $p$  foi considerado significativo quando representado por asteriscos, onde \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  e ns: não significativo.

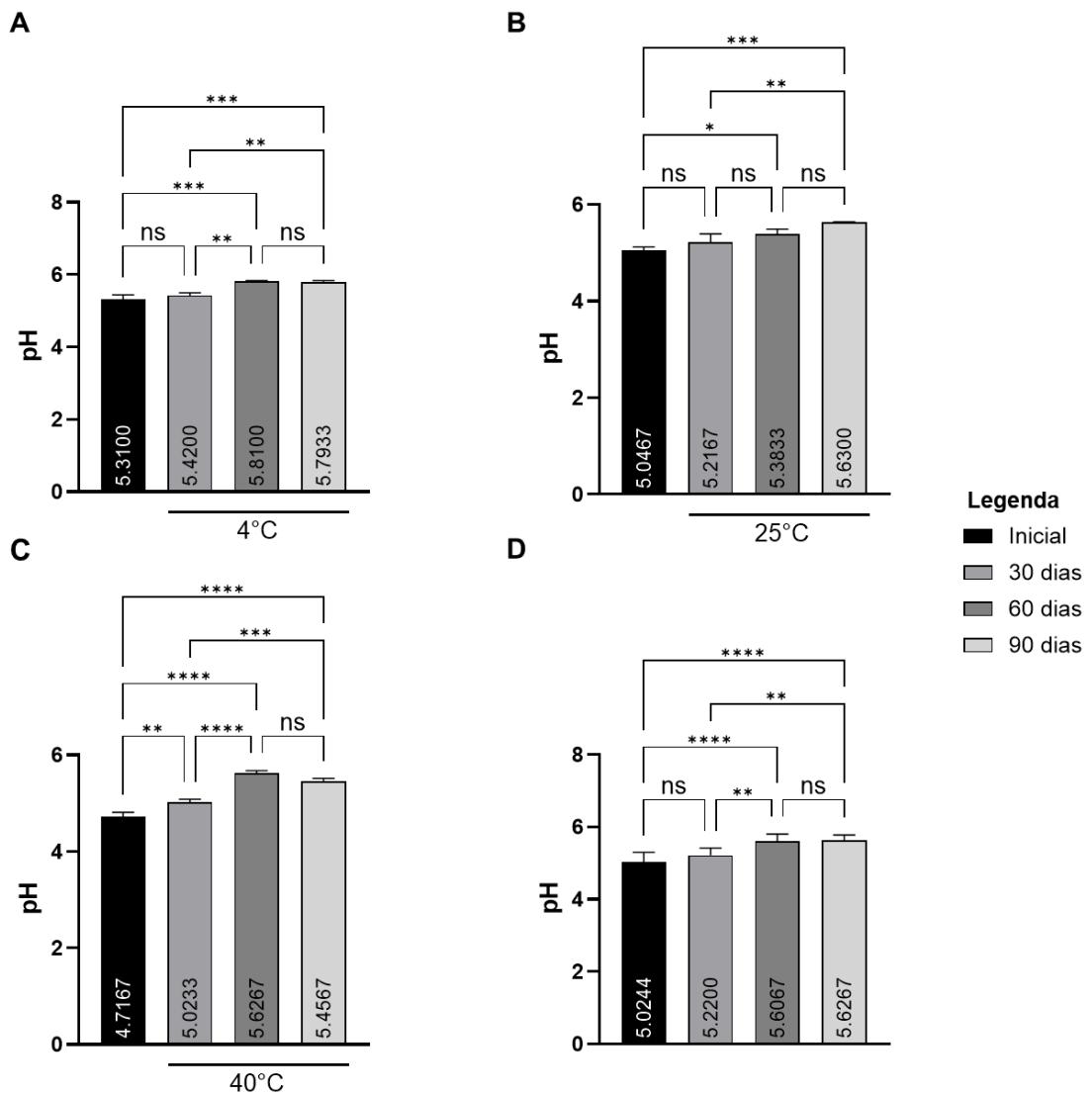
### **6.15. pH da emulsão mantém-se estável durante o armazenamento, com leve variação a 40 °C**

Os gráficos apresentam a variação do pH de uma amostra ao longo de 90 dias, sob diferentes temperaturas de armazenamento ( $4 \pm 2$  °C,  $25 \pm 2$  °C e  $40 \pm 2$  °C). Cada gráfico mostra o pH em função do tempo, com a amostra inicial (24 horas) e as amostras armazenadas por 30, 60 e 90 dias. Os valores médios de pH, considerando a média de todas as temperaturas ao longo do tempo, variaram de 5,024 a 5,6267 (**Figura 35D**).

Não houve variação do pH nos primeiros 30 dias em relação ao ponto inicial - nas temperaturas de  $4 \pm 2$  °C e  $25 \pm 2$  °C (**Figuras 35A e 35B**, respectivamente). As alterações obtidas entre 60 e 90 dias, nas temperaturas de  $4 \pm 2$  °C e  $25 \pm 2$  °C, em relação ao ponto inicial foi uma variação muito baixa e se estabilizou entre 60 e 90 dias, não sendo observadas variações com significância estatísticas.

Entretanto, foi observada variações entre todas as faixas de dias testados (30, 60 e 90 dias) com o ponto inicial na temperatura de  $40 \pm 2$  °C (**Figura 35C**). Apesar disso, essa variação se estabilizou entre 60 e 90 dias, não sendo observadas variações com significância estatísticas.

Quando todos os dados foram agrupados (todas as temperaturas), não houve variação nos primeiros 30 dias, além disso, o pH se estabilizou entre 60 e 90 dias (não sendo observadas alterações significativas). O pH se manteve dentro da faixa adequada para uso tópico. O pH inicial foi de 5,0244, variando ligeiramente ao longo dos 90 dias, mas sem significância estatística (**Figura 35D**).

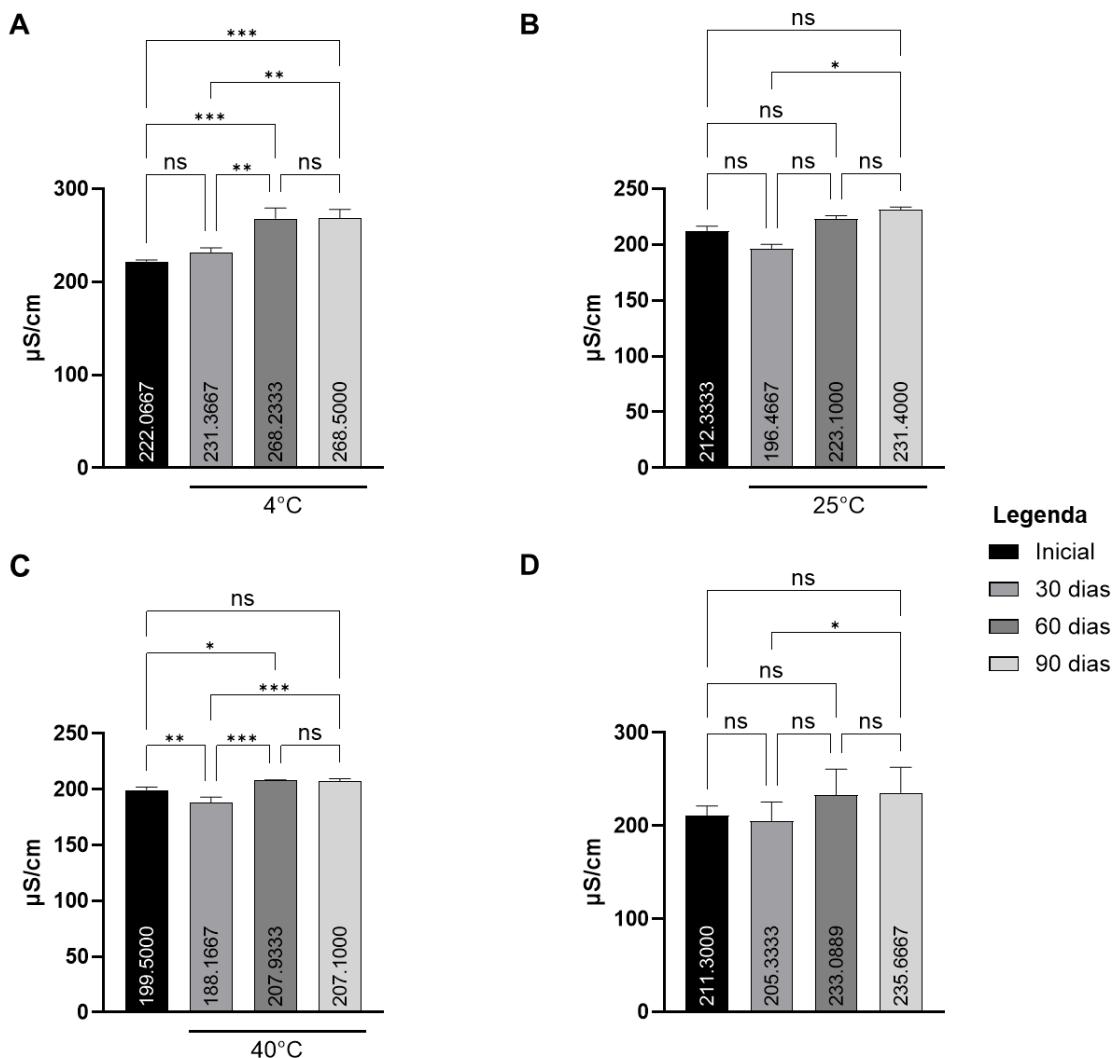


**Figura 35.** Variação do pH da formulação ao longo de 90 dias em diferentes temperaturas de armazenamento ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e  $40 \pm 2^\circ\text{C}$ ). pH da formulação após 30 dias armazenada a  $4 \pm 2^\circ\text{C}$  (A). pH da formulação após 30 dias armazenada a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  (B). pH da formulação após 30 dias armazenada a  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  (C). pH da formulação, considerando todas a média das temperaturas,  $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  (D). O valor de  $p$  foi considerado significativo quando representado por asteriscos, onde \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  e ns: não significativo.

### **6.16. Estabilidade da condutividade elétrica da emulsão a 25 °C e pequenas variações em 4 °C e 40 °C durante 90 dias de armazenamento**

Os gráficos mostram a condutividade elétrica (medida em  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) de amostras ao longo de 90 dias, sob diferentes temperaturas de armazenamento ( $4 \pm 2$  °C,  $25 \pm 2$  °C e  $40 \pm 2$  °C). Cada gráfico representa uma temperatura específica, e os dados são comparados com a amostra inicial (24 horas).

Os valores de condutividade elétrica variaram de 211,3  $\mu\text{S}/\text{cm}$  a 235,67  $\mu\text{S}/\text{cm}$  (**Figura 36D**). Na temperatura de  $4 \pm 2$  °C a condutividade permaneceu estável nos primeiros 30 dias, sem diferenças estatisticamente significativas em relação ao ponto inicial. No entanto, observou-se um aumento estatisticamente significante nos dias 60 e 90 (**Figura 36A**). Apesar dessa variação inicial, a condutividade estabilizou nos últimos 30 dias, sem diferenças significativas entre os dias 60 e 90 (**Figura 36A**). Em temperatura ambiente,  $25 \pm 2$  °C, a condutividade da formulação manteve-se constante ao longo dos 90 dias, sem variações significativas em relação ao ponto inicial (**Figura 36B**). Por outro lado, a  $40 \pm 2$  °C, a condutividade apresentou um aumento até os 60 dias, com diferenças significativas em relação ao ponto inicial (**Figura 36C**). No entanto, assim como observado a  $4 \pm 2$  °C, a condutividade estabilizou nos últimos 30 dias, sem diferenças estatisticamente significativas entre os dias 60 e 90. Na **Figura 36D** não há diferenças estatisticamente significativas na condutividade ao longo do tempo, considerando todas as temperaturas.



**Figura 36.** Variação da condutividade da formulação ao longo de 90 dias em diferentes temperaturas de armazenamento ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e  $40 \pm 2^\circ\text{C}$ ). Condutividade da formulação após 30 dias armazenada a  $4 \pm 2^\circ\text{C}$  (A). Condutividade da formulação após 30 dias armazenada a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  (B). Condutividade da formulação após 30 dias armazenada a  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  (C). Condutividade da formulação, considerando todas a média das temperaturas,  $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  (D). O valor de  $p$  foi considerado significativo quando representado por asteriscos, onde \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  e ns: não significativo.

## 7. DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo inédito revelam o potencial fotossensibilizador de diferentes espécies de *Passiflora* (*P. edulis*, *P. alata* e *P. cincinnata*) contra MRSA, além de caracterizar e avaliar a estabilidade de uma emulsão contendo a fração butanólica purificada de *P. cincinnata* para possível aplicação tópica. Dentre as espécies analisadas, *P. cincinnata* (e sua fração butanólica) foi selecionada para uma investigação aprofundada de sua eficácia como fotossensibilizador contra infecções por MRSA em um modelo murino de senescência. Até onde se tem conhecimento, esta pesquisa é pioneira ao explorar as propriedades fotossensibilizadoras dessas espécies e a aplicação da TFDa em um modelo de senescência, especialmente, em animais com alta concentração de melanina.

A escolha do gênero *Passiflora* se justifica por sua relevância na medicina popular e seu potencial ainda subexplorado na pesquisa sobre atividade antimicrobiana contra microrganismos resistentes. Pertencente à família Passifloraceae, este gênero abrange diversas espécies com histórico de uso medicinal, cujas propriedades farmacológicas - incluindo atividades antioxidantes, analgésicas, antidepressivas, sedativas, ansiolíticas, anti-inflamatórias, antimicrobianas, anti-hipertensivas, hepatoprotetoras e antidiabéticas - foram demonstradas em estudos *in vitro* e *in vivo* (FONSECA et al., 2020; HE et al., 2020). Pesquisas identificaram diversos compostos, principalmente os flavonoides C-glicosídeos, como responsáveis por essas atividades (PEREIRA LEAL et al., 2022).

A literatura científica evidencia que as espécies do gênero *Passiflora* possuem alto teor de flavonoides (DA SILVA FRANCISCHINI et al., 2020; NI et al., 2020), que podem, possivelmente, mediar a atividade fotodinâmica observada neste estudo, uma vez que DOS SANTOS et al. (2019) observaram que extratos ricos em flavonoides podem ser os responsáveis pela ação como FS em *Myrciaria cauliflora* (DE OLIVEIRA et al., 2024; DOS SANTOS et al., 2019a). RIBEIRO et al. (2023) também observou que a própolis verde possui alto teor de flavonoides que podem estar relacionados com a atividade fotodinâmica (RIBEIRO et al., 2023, 2024). Assim, diversos estudos têm explorado extratos naturais contra MRSA, tanto em modelos *in vitro* quanto *in vivo*. Eles trazem à tona o potencial dos bioativos na busca pelo aumento do arsenal de compostos que podem ser promissores contra microrganismos resistentes (DOS SANTOS et al., 2019a, 2020; MUNIZ et al., 2021; RIBEIRO et al., 2023, 2024).

Ainda pouco compreendida, a complexa química dos compostos naturais esconde propriedades fotoativas inexploradas, cujo estudo é essencial para otimizar seu uso em pesquisas farmacêuticas (AZIZ *et al.*, 2023). Substâncias derivadas de fontes naturais estão se tornando mais prontamente disponíveis devido a dispositivos analíticos avançados. Assim, tem-se descoberto novos produtos químicos fotoativos de extratos naturais que podem atuar como FS eficientes. À medida que a identificação de produtos naturais fotoativos aumenta, espera-se que muitos novos FSs naturais sejam descobertos em um futuro próximo (KUBRAK *et al.*, 2022). Esses compostos podem ser furanocumarinas, alcaloides, poliacetilenos e tiofenos, flavonoides, antraquinonas e extratos naturais (AZIZ *et al.*, 2023). Explorar novos compostos naturais como FS ajudará a aumentar a eficácia da TFD como também reduzir possíveis efeitos colaterais dos mesmos (BAGNATO; REQUENA. MICHELE, 2023).

Portanto, pesquisas que busquem desenvolver ou utilizar novos fotossensibilizadores tornam-se fundamentais, uma vez que quanto mais compostos fotoativos, maiores as possibilidades de combate à infecção causada por MRSA (DOS SANTOS *et al.*, 2019b, 2019a). Neste estudo, inicialmente, foram avaliados extratos de diversas espécies de *Passiflora*, com *P. cincinnata* sendo selecionada para estudos *in vivo* mais aprofundados. E, ao analisar o melhor espectro de absorção de luz de espécies de *Passiflora* testadas, foi observado que o espectro de luz azul é o mais próximo da luz visível em que houve absorção de luz, e por esse motivo, foi escolhido para ser analisado neste estudo.

A análise espectrofotométrica UV-Vis revelou um aumento na absorção de todas as espécies de *Passiflora* na faixa da luz azul (a partir de 400 nm), embora os picos de absorção mais proeminentes tenham sido observados na faixa UVA (269,50 nm e 334 nm para *P. cincinnata*). Essa absorção na faixa do visível, mesmo que não represente o pico máximo, é crucial para a atividade fotossensibilizadora, pois indica a capacidade dos compostos presentes nos extratos de absorver luz dentro do espectro terapêutico da fototerapia (DOS SANTOS *et al.*, 2019b, 2020). A menor absorção na região azul observada para *P. edulis* e *P. alata*, em comparação com *P. cincinnata*, exigiu a utilização de concentrações diferenciadas para a varredura. A saturação espectral de *P. cincinnata* nas mesmas concentrações das outras espécies de *Passiflora* pode indicar diferenças na composição fitoquímica, particularmente na concentração de cromóforos que absorvem nesse comprimento de onda (SHAFIKHANI *et al.*, 2023).

Moléculas fotossensíveis que são especificamente excitadas pela luz visível são frequentemente chamadas de “cromóforos”. Como compostos responsáveis pelo fenômeno da cor, as moléculas de pigmento são conhecidas há muito tempo por absorver e refletir seletivamente diferentes comprimentos de onda da luz (SHAFIKHANI *et al.*, 2023). Devido à presença de cromóforos, os compostos farmaceuticamente ativos nas plantas acabam absorvendo mais facilmente a luz. Esses compostos podem ser produzidos pela planta como um mecanismo de proteção contra uma grande dose de luz solar, razão pela qual, por exemplo, são frequentemente colocados em protetores solares e cosméticos para essa finalidade (KUBRAK *et al.*, 2022).

Os ensaios de atividade fotossensibilizadora demonstraram que as espécies de *Passiflora* testadas possuem a capacidade de inativar MRSA mediante exposição à luz, com um aumento notável da atividade sob luz azul, mesmo em concentrações mais baixas. *P. edulis* e *P. alata* apresentaram maior eficácia fotossensibilizadora na concentração de 1000 µg/mL, enquanto a fração butanólica de *P. cincinnata* exibiu atividade significativa em 100 µg/mL. Interessantemente, o extrato bruto de *P. cincinnata* demonstrou atividade em concentrações ainda menores (5-50 µg/mL) que a fração butanólica, sugerindo um possível efeito sinérgico entre os diversos constituintes presentes no extrato bruto. A isoorientina, o composto majoritário na fração butanólica, não apresentou a mesma magnitude de redução bacteriana que o extrato bruto e a fração butanólica, indicando que outros compostos presentes na fração butanólica, ou a combinação deles, podem ser mais relevantes para a atividade fotossensibilizadora observada (SULAIMAN *et al.*, 2022).

A ação sinérgica de bioativos representa uma estratégia promissora para o desenvolvimento de novas aplicações farmacológicas. Em vez de depender de um único composto ativo, a combinação de múltiplos bioativos pode gerar efeitos terapêuticos superiores ao da soma de seus efeitos individuais (EFFERTH; KOCH, 2010; HU; YANG; LAI, 2023). Este fenômeno pode ter ocorrido neste estudo, visto que o extrato bruto de *P. cincinnata* foi mais eficaz que a fração butanólica, que por sua vez superou a atividade da isoorientina isolada. Uma tese de doutorado buscou aprimorar a compreensão da química de *P. cincinnata* por meio de uma investigação fitoquímica. O estudo isolou e identificou compostos-chave, incluindo isoorientina, isovitexina, isoscoparina, isovitexina-2"-O-β-glicopiranósideo, isovitexina-2"-O-β-xilopiranósideo e isoorientina-2-O-β-xilopiranósideo, que podem contribuir para seus efeitos observados. Além disso, o perfil fitoquímico das folhas e caules foi analisado usando HPLC-DAD-IES-ITEMn,

levando à identificação de 19 metabólitos adicionais, principalmente flavonoides e derivados de ácido clorogênico (AMARAL, 2018).

No Brasil, as espécies mais utilizadas na medicina popular são *P. alata* e *P. edulis* (VARGAS *et al.*, 2007). Poucos estudos investigam os possíveis efeitos biológicos dos extratos de *P. cincinnata* (BRANDAÓ *et al.*, 2017). Estes poucos estudos demonstram que os extratos das folhas, cascas e sementes de *P. cincinnata* possuem atividades antimicrobianas e anti-inflamatórias *in vitro*, que são atribuídas aos seus compostos fenólicos (DE LAVOR *et al.*, 2018; SIEBRA *et al.*, 2018). Mais especificamente, o estudo *in vitro* de SIEBRA *et al.* (2018) avaliou a atividade modificadora de antibióticos contra cepas de *S. aureus* usando uma concentração subinibitória do extrato. Os extratos não exibiram atividade antimicrobiana clinicamente relevante, sendo a concentração inibitória mínima (CIM) igual ou superior a 1024 µg/mL.

Na mesma linha, SIEBRA *et al.* (2014), mostraram que a atividade antimicrobiana dos extratos de *P. cincinnata*, extratos hidroalcoólicos (de folhas, caules, cascas, polpa e sementes) não atingiram relevância clínica (SIEBRA *et al.*, 2014). No entanto, o extrato hidroalcoólico de *P. cincinnata* foi apresentado como agente antibacteriano quando associado a antibióticos. Seu perfil de ação foi alterado pela diminuição da concentração inibitória mínima (CIM) dos antibióticos convencionais, sugerindo que pode ser desenvolvido como uma nova ferramenta terapêutica, potencializando aminoglicosídeos e beta-lactâmicos, que são pouco eficazes no tratamento de infecções causadas por MRSA (PEREIRA LEAL *et al.*, 2022; SIEBRA *et al.*, 2018). Em contraste, os resultados *in vitro* mostram que a fração butanólica de *P. cincinnata* fotoativada na concentração de 100 µg/mL reduz significativamente a carga bacteriana. Isso indica que a fotoativação aumenta seu efeito. Isso também se aplica a *P. edulis* e *P. alata*, embora em concentrações dez vezes maiores do que as observadas em *P. cincinnata* fotoativada, o que pode ser atribuído aos compostos bioativos presentes nesta última espécie.

Além disso, foi demonstrado que nenhum dos tipos de *Passiflora* foi citotóxico em células eucarióticas. A ausência de citotoxicidade dos extratos de *P. edulis*, *P. alata* e da fração butanólica e extrato bruto de *P. cincinnata* em cultura de células HUVEC em diversas concentrações é um achado promissor para a segurança de uma futura aplicação *in vivo*. A não toxicidade para células endoteliais humanas sugere que os extratos, nas concentrações testadas, não devem causar danos significativos ao tecido vascular local durante um tratamento fotodinâmico tópico (GENAH, 2022).

Adicionalmente, a avaliação do potencial de membrana de MRSA exposto à fração butanólica não revelou alterações significativas no potencial Zeta, sugerindo que o mecanismo de ação fotodinâmico dos constituintes da fração butanólica não envolve primariamente uma alteração na carga superficial da membrana bacteriana. Isso mostra que, possivelmente, o FS é internalizado. Esses achados vêm ao encontro com dados observados em outros estudos (FAN *et al.*, 2014; LI *et al.*, 2015), como o de RIBEIRO *et al.* (2023), que mostrou a atuação da própolis verde como FS (RIBEIRO *et al.*, 2023).

A fotoativação da fração butanólica de *P. cincinnata* induziu alterações em seu espectro de absorção, com variações na absorbância em comprimentos de onda específicos (269 nm e 334 nm) ao longo do tempo de exposição à luz. Essas mudanças podem indicar que a luz promove modificações nos compostos presentes na fração, possivelmente, através de fotoisomerização, fotodecomposição ou outras reações fotoquímicas (SCAIANO, 2023; ZHU *et al.*, 2024). A cinética dessas alterações, demonstrada pela variação da absorbância em função do tempo, é crucial para otimizar o protocolo de irradiação em futuras aplicações.

A fotoativação pode modular as propriedades da fração, provavelmente, aumentando sua capacidade de gerar EROs ou outros compostos fotoativos (LINGER; LANCEL; PORT, 2023). A análise detalhada dos gráficos, em conjunto com outras técnicas, como Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e Espectrometria de Massas (EM), pode fornecer informações mais precisas sobre os compostos responsáveis pelas mudanças na absorção e sobre o mecanismo de ação da fotoativação (DUARTE; GUILHERME, 2021).

Com tudo que foi exposto, a fração butanólica purificada de *P. cincinnata* foi escolhida para ser utilizada no tratamento infeccioso de MRSA em animais senescentes da linhagem C57BL/6. Embora o extrato bruto, sua fração butanólica e um composto majoritário (isoorientina) tenham sido testados *in vitro*, a fração butanólica foi escolhida para os estudos subsequentes devido à sua composição fitoquímica bem caracterizada (AMARAL, 2018; BARBOSA SANTOS *et al.*, 2021; DE ALBUQUERQUE SIEBRA *et al.*, 2014; LEAL *et al.*, 2020) e aos resultados *in vitro* satisfatórios. De uma forma mais detalhada, optou-se por prosseguir com a fração butanólica purificada por três motivos principais.

Primeiramente, a complexidade do extrato bruto: o extrato bruto, apesar de demonstrar maior eficiência, apresenta uma complexidade molecular que dificulta a

identificação dos compostos responsáveis pela redução de UFC de MRSA. Em segundo lugar, desafios da isoorientina: a isoorientina, embora promissora, apresentou resultados *in vitro* inferiores aos extratos e seu processo de purificação/rendimento mostrou-se complexo. Em terceiro lugar, o potencial da fração butanólica purificada: a fração butanólica demonstrou resultados *in vitro* satisfatórios, possui composição fitoquímica bem caracterizada, além do mais tende a ter um alto teor de flavonoides (AMARAL, 2018; BARBOSA SANTOS *et al.*, 2021; DE ALBUQUERQUE SIEBRA *et al.*, 2014; LEAL *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2023). Além disso, estudos recentes, como o de RIBEIRO *et al.* (2023), corroboram a eficácia de extratos com constituintes que agem sinergicamente, superando compostos isolados em doses/concentrações menores. Portanto, isso traz à tona que os constituintes dos extratos podem atuar sinergicamente, aumentando o poder fotossensibilizador (DOS SANTOS *et al.*, 2019a; RIBEIRO *et al.*, 2023, 2024).

Então, a partir da escolha da fração butanólica de *P. cincinnata* foi realizado o experimento *in vivo* com animais C57BL/6, em um modelo de infecção intradérmica. Além de apresentarem imunossenescência, os animais dessa linhagem poderiam fornecer mais conhecimento sobre as possibilidades de aplicação de terapias à base de luz em indivíduos com grandes quantidades de melanina, como observado no estudo desenvolvido por MUNIZ *et al.* (2021), que utilizou a mesma cepa em um modelo de diabetes *mellitus* tipo 1 de infecção intradérmica e tratado com TFDa. A importância dos estudos de ativação *ex vivo* torna-se evidente, particularmente na compreensão do impacto da melanina na TFD (DOS SANTOS *et al.*, 2019b), estudos limitados examinaram essa interação (CASSIDY; DONNELLY; TUNNEY, 2010). Nesse sentido, SANTOS *et al.* (2019b) justificaram a fotoativação das soluções fora do ambiente corporal dos animais C57Bl/6 devido ao potencial da melanina como agente interferente na TFDa. Assim, o presente trabalho propõe uma adaptação da TFDa para o tratamento de infecções em pacientes com muita melanina, considerando a escassez de estudos avaliando essa técnica nessa população.

A infecção por MRSA associada à senescência é difícil de controlar, pois está relacionada à menor eficácia do sistema imunológico no combate a um processo infeccioso (SHAW; GOLDSTEIN; MONTGOMERY, 2013). Ao avaliar a bioatividade dos extratos de *P. cincinnata* e sua aplicação na TFDa com animais senescentes, nossos achados indicam que o grupo tratado com *P. cincinnata* apresentou menor carga bacteriana e menor infiltrado de células leucocitárias (totais e polimorfonucleares) em

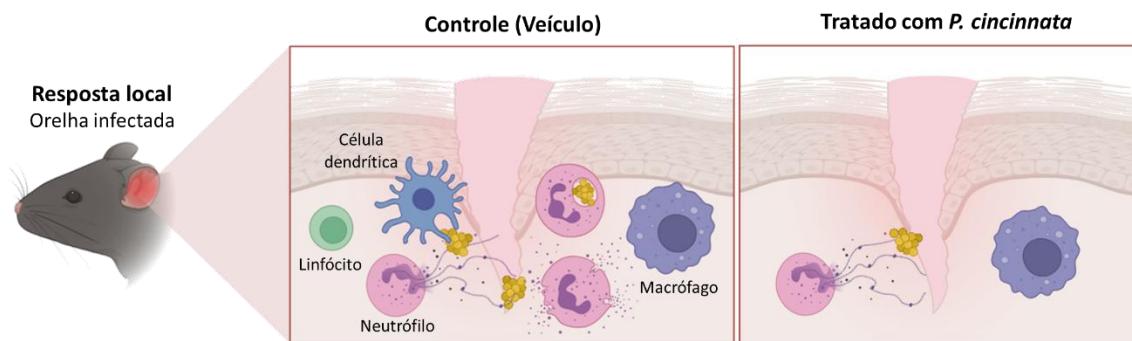
comparação com o grupo controle (Veículo). Houve também uma tendência de menor número de células mononucleares no grupo tratado com *P. cincinnata* e TFDa. Esses achados corroboram a atividade fotossensibilizadora observada *in vitro* e sugerem um efeito terapêutico da *P. cincinnata* fotoativada na redução da infecção por MRSA e na modulação da resposta inflamatória local (**Figura 37**). A menor variação de peso observada nos animais tratados com *P. cincinnata* pode indicar um menor estresse fisiológico associado à infecção e ao tratamento em comparação com o grupo controle.

Os longevos apresentam vários fatores de risco para infecções de pele e tecidos moles. Alterações na consistência da pele e imunossenescênciia predispõem a esses fatores de risco nessa população. Alterações na matriz dérmica, atrofia, senescênciia de células dérmicas, como fibroblastos, diminuição da síntese e quebra acelerada das fibras colágenas dérmicas aumentam a suscetibilidade a infecções cutâneas. Além disso, apresentam alta frequência de condições associadas a fragilidades da pele, como edema e trauma (FALCONE; TISEO, 2023; LEE; HONG; KIM, 2021).

Como a idade avançada contribui para a doença estafilocócica invasiva não é totalmente compreendido. Embora muitos defeitos imunológicos (por exemplo, fagocitose, seção reativa de oxigênio) estejam associados ao envelhecimento, as alterações celulares dependentes da idade fundamentais responsáveis por esses defeitos são desconhecidas. No entanto, é bem sabido que as células de indivíduos longevos têm funções mitocondriais alteradas que podem afetar sua capacidade de responder a estímulos externos, incluindo patógenos (TSENG *et al.*, 2012).

Apesar desses fatos, observou-se que os animais tratados com *P. cincinnata* e TFDa apresentaram menor variação de peso, provavelmente por conterem melhor o processo infeccioso, de forma mais rápida e eficaz (CRIMMINS; FINCH, 2006), sem precisar recrutar tantas células de defesa após 72 horas do processo infeccioso. Esses dados são curiosos, pois outros estudos observam uma infiltração mais significativa de células leucocitárias, principalmente células polimorfonucleares, nos grupos submetidos à TFDa. No entanto, vale ressaltar que foi em um modelo de diabetes (MUNIZ *et al.*, 2021). O *P. cincinnata* provavelmente pode depurar o microrganismo *in situ*, contornando a dificuldade do sistema imunológico senescente em recrutar mais células leucocitárias (DE MARTINIS; MODESTI; GINALDI, 2004). O ponto crítico é que a inflamação exacerbada não seria interessante para conter os microrganismos em indivíduos longevos (SHIVE; PANDIYAN, 2022).

Conforme elucidado na **Figura 37**, a presença de neutrófilos, células de primeira linha na defesa contra infecções bacterianas, indica uma resposta inflamatória aguda em andamento (SWANEY; KALAN, 2021). Macrófagos, com sua capacidade de fagocitose e apresentação de抗ígenos, também contribuem para a resposta imune local. A presença de linfócitos sugere o início de uma resposta imune adaptativa, enquanto as células dendríticas atuam na captura e apresentação de抗ígenos aos linfócitos nos linfonodos regionais, como o linfonodo retromaxilar (MUNIZ *et al.*, 2021; RIBEIRO *et al.*, 2024), mostrado na **Figura 38**.



**Figura 37. Representação esquemática da resposta local na infecção intradérmica por MRSA em modelo murino.** A imagem compara a resposta local na orelha infectada de um modelo murino, em dois grupos distintos: um controle (tratado com veículo) e outro tratado com *P. cincinnata*. A representação esquemática destaca a composição celular infiltrada no local da infecção e sugere diferenças qualitativas e quantitativas na resposta inflamatória entre os grupos. O grupo controle (Veículo) exibe um infiltrado inflamatório intenso, caracterizado pela presença de células dendríticas, linfócitos, neutrófilos e macrófagos na área da infecção. O grupo tratado com *P. cincinnata* demonstra uma redução no infiltrado inflamatório. A presença de neutrófilos, células de primeira linha na defesa contra infecções bacterianas, indica uma resposta inflamatória aguda em andamento. Macrófagos, com sua capacidade de fagocitose e apresentação de抗ígenos, também contribuem para a resposta imune local. A presença de linfócitos sugere o início de uma resposta imune adaptativa, enquanto as células dendríticas atuam na captura e apresentação de抗ígenos aos linfócitos nos linfonodos regionais, como o linfonodo retromaxilar mostrado em outra parte da figura. Imagem elaborada na plataforma BioRender, autoria própria.

A resposta local nos grupos tratados com *P. cincinnata* aparenta ser qualitativamente diferente. Embora ainda haja infiltração de células inflamatórias, há uma menor ativação ou recrutamento de células inflamatórias no local da infecção em resposta ao tratamento com *P. cincinnata*. A análise conjunta dessa representação da resposta local com os dados da resposta sistêmica (níveis de citocinas nos linfonodos) (**Figura 38**) e outros parâmetros avaliados no estudo (carga bacteriana) é fundamental para uma compreensão abrangente do mecanismo de ação do *P. cincinnata* no contexto da infecção estudada.

Uma possível interpretação para as alterações quantitativas de leucócitos para o local de infecção é que o tratamento com *P. cincinnata* pode estar modulando a resposta inflamatória inicial, possivelmente reduzindo o recrutamento de células imunes para o local da infecção ou alterando sua ativação (DOS SANTOS *et al.*, 2019b, 2019a; MUNIZ *et al.*, 2021). Outra possibilidade é que o tratamento esteja influenciando a migração dessas células para os linfonodos regionais para iniciar uma resposta imune adaptativa mais eficiente, o que poderia explicar uma menor concentração delas no local da infecção (CRUZ DE CASAS *et al.*, 2023; WANG *et al.*, 2024). *P. cincinnata* pode possuir propriedades anti-inflamatórias, contribuindo para a modulação da resposta local. Essa redução na inflamação local poderia ser benéfica para limitar o dano tecidual associado à resposta inflamatória excessiva, sem necessariamente comprometer a capacidade do organismo de eliminar o patógeno.

É importante destacar que, após a estimulação da luz, o FS entra em um estado excitado e transferem sua energia para o oxigênio molecular ou nitrogênio presente no ambiente celular. Essa transferência de energia leva à formação de EROs, incluindo radicais hidroxila, peróxido de hidrogênio e oxigênio *singlete* (CORREIA *et al.*, 2021). Devido à sua natureza altamente reativa, as EROs têm meia-vidas muito curtas e são rapidamente degradadas ou neutralizadas no ambiente celular (JOMOVA *et al.*, 2024). A rápida degradação dessas espécies reativas poderia explicar a ausência de diferenças maiores observadas entre o grupo *P. cincinnata* sem fotoativação e o grupo veículo controle.

Portanto, a fotoativação *ex vivo* em animais C57BL/6 pode ter influenciado os resultados. Em detrimento da melanina potencialmente ser capaz de interferir na TFD (CASSIDY; DONNELLY; TUNNEY, 2010; DOS SANTOS *et al.*, 2019b), como dito anteriormente, isso nos levou a optar por uma ativação *ex vivo*. No entanto, em um estudo sobre o resveratrol, SANTOS *et al.* (2019) observaram que o resveratrol fotoativado forma resveratrona, o que poderia aumentar o tempo de ação dos mecanismos oxidativos e induzir a depuração do MRSA, portanto, além das EROs, uma alteração conformacional nas moléculas devido à luz pode ser responsável pela ação de depuração bacteriana.

Outro ponto interessante deste estudo demonstra que os animais senescentes produziram o mesmo nível de citocinas em comparação com os grupos Veículo, *P. cincinnata* e TFDa. Apesar disso e das limitações do pequeno número de animais utilizados, as citocinas se comportam de forma diferente entre os grupos. Outros estudos observaram as diferenças entre a produção das mesmas citocinas aqui analisadas a partir

da terapia fotodinâmica. Ainda assim, eles visavam modelos diferentes, como animais jovens diabéticos ou não, ambas linhagens C57BL/6 (DOS SANTOS *et al.*, 2019b, 2019a, 2020; MUNIZ *et al.*, 2021).

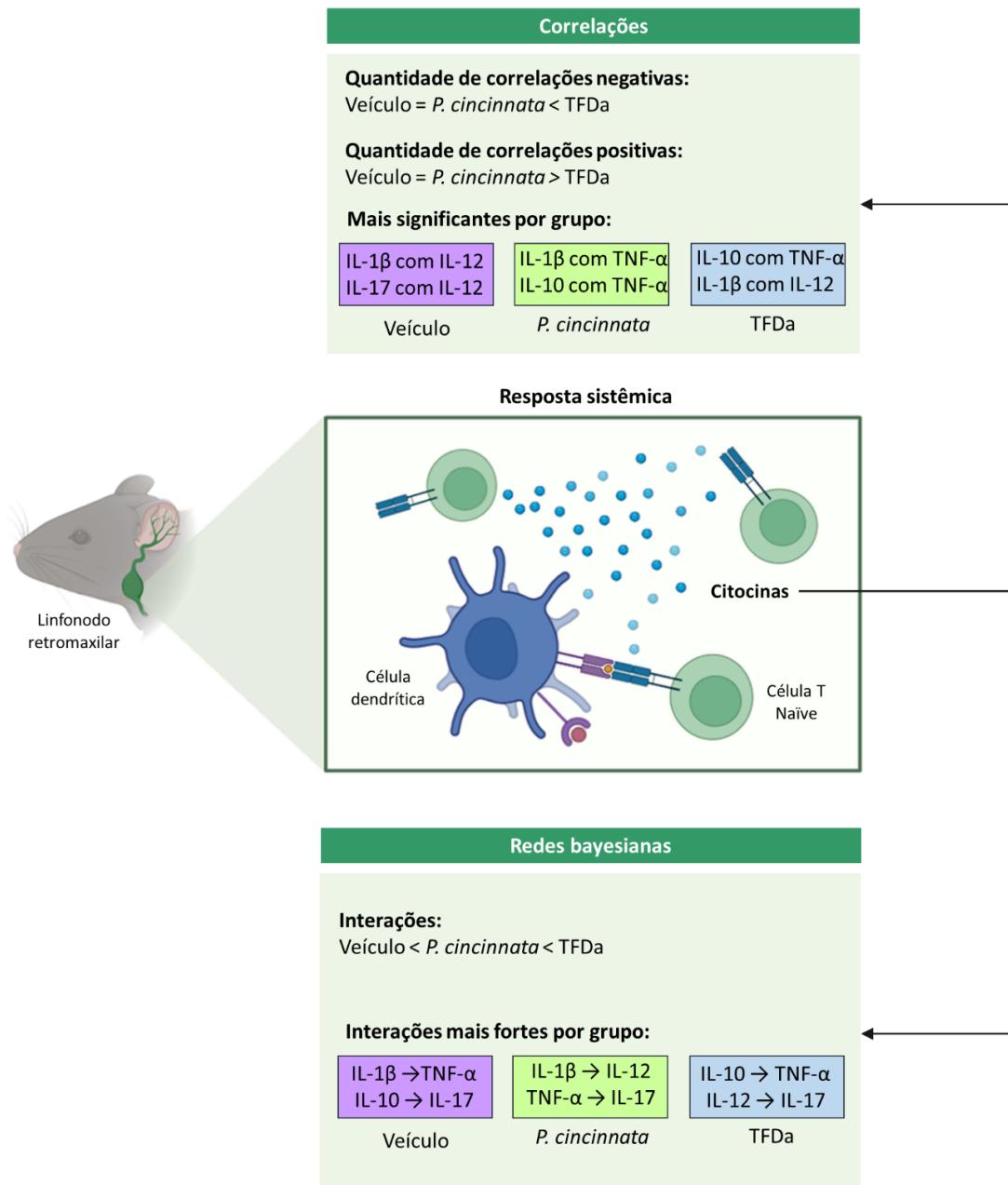
O grupo TFDa exibiu um padrão mais distinto de correlações de citocinas, com um maior número de citocinas exibindo correlações negativas, tanto entre as citocinas pró-inflamatórias quanto com a citocina anti-inflamatória IL-10. A senescência acompanha uma inflamação crônica e estéril de baixo grau, na qual a infecção pode exacerbar esse processo, causando uma desregulação da produção de citocinas anti-inflamatórias, corroborando com mais interações de correlações positivas entre as citocinas analisadas (GONÇALVES *et al.*, 2022), e, consequentemente, um maior desequilíbrio no processo inflamatório. No entanto, parece que o uso de *P. cincinnata* na TFDa superou isso.

Também foram observadas correlações positivas entre IL-10 e TNF- $\alpha$  exclusivamente no grupo TFDa, bem como entre IL-12p70 e IL-17A nos grupos TFDa e *P. cincinnata*, com essas correlações se tornando mais pronunciadas no grupo TFDa. Recentemente, foi demonstrado que o tratamento combinado de IL-10+, IL-12+, TNF- $\alpha$ , diminuiu a expressão do estresse oxidativo, CXCL8 e CXCR1 por meio da mitigação da via inflamatória TNFR1-IL-1R-NF- $\kappa$ B em *S. aureus* (DUTTA; BISHAYI, 2023). Além disso, altos níveis de citocinas pró-inflamatórias, particularmente IL-12, induzem um subconjunto de células Th17, que são produtoras de IL-17 e importantes no recrutamento neutrofilico, essencial na defesa cutânea de *S. aureus* (BELPAIRE; VAN GEEL; SPEECKAERT, 2022a; CHO *et al.*, 2010; VOLPE *et al.*, 2008).

Apesar dos níveis de produção de citocinas serem semelhantes entre os grupos, suas interações demonstraram ser dependentes do contexto experimental/tratamento. Esses achados ressaltam a importância de analisar as interações entre citocinas, mesmo quando seus níveis individuais não apresentam diferenças significativas entre os grupos. Estudos recentes enfatizam que essa abordagem expande a análise para além da identificação de um único biomarcador, utilizando múltiplos marcadores inflamatórios para estabelecer redes de interação complexas. Essa análise integrada é fundamental para compreender a dinâmica da resposta biológica, uma vez que o organismo depende da ação coordenada de diversos sistemas interconectados (GALANTINI *et al.*, 2022).

A análise aprofundada dos efeitos dos tratamentos *P. cincinnata* e TFDa nos níveis de citocinas inflamatórias e imunomoduladoras, em comparação com um grupo controle (Veículo), revela a intrincada complexidade da resposta imunológica. Enquanto os

histogramas oferecem uma visão direta dos níveis individuais de citocinas, as correlações e as redes bayesianas desvendam as relações dinâmicas e interdependências entre essas moléculas sinalizadoras (GONÇALVES *et al.*, 2022). A análise de correlações e redes bayesianas revelou padrões distintos de interação entre as citocinas nos grupos Veículo, *P. cincinnata* e TFDa.



**Figura 38. Análise da resposta sistêmica nos linfonodos retromaxilares no modelo de infecção intradérmica por MRSA.** A imagem revela *insights* importantes sobre a resposta imunológica sistêmica em um modelo experimental de infecção por MRSA, tratado com *P. cincinnata* e terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDa). A investigação concentra-se na dinâmica de citocinas nos linfonodos retromaxilares, um local chave para a orquestração da resposta imune regional e sistêmica. As correlações entre citocinas nos diferentes grupos experimentais (Veículo, *P. cincinnata* e TFDa) indicam a quantidade

de associações negativas e positivas, bem como as mais significativas para cada grupo. A ilustração central demonstra a interação entre uma célula dendrítica, citocinas e uma célula T naïve no linfonodo. A análise das redes bayesianas das citocinas, apresentada na parte inferior direita, mostra a intensidade das interações entre elas para cada grupo experimental. A intensidade dessas interações é comparada entre os grupos, e as associações mais fortes para cada grupo são destacadas. Imagem elaborada na plataforma BioRender, autoria própria.

No grupo *P. cincinnata*, a presença de correlações positivas entre citocinas pró-inflamatórias como IL-12p70 e IL-17A, e IL-12p70 e IL-1 $\beta$ , semelhantes ao grupo TFDa, sugere uma resposta imune coordenada em relação ao tratamento. A ausência dessas correlações no grupo Veículo, juntamente com a presença de outras correlações positivas envolvendo IL-10 (uma citocina imunossupressora e anti-inflamatória), pode indicar uma resposta inflamatória desregulada na ausência de tratamento (KURRA; AKHTAR; SHARMA, 2024; LI *et al.*, 2023a; MATAR *et al.*, 2023). As redes bayesianas reforçaram essas observações, mostrando diferentes padrões de influência entre as citocinas entre os grupos.

As redes bayesianas, em particular, emergem como uma ferramenta poderosa para desvendar as dependências condicionais entre as citocinas, demonstrando como a alteração nos níveis de uma citocina pode influenciar a probabilidade dos níveis de outras. Essa abordagem permite uma compreensão mais profunda das interações complexas e da modulação da resposta imune pelos tratamentos (GONÇALVES *et al.*, 2022). A variabilidade nessas interações, observada nas redes, indica que *P. cincinnata* e TFDa exercem seus efeitos imunomoduladores de maneiras distintas, com implicações significativas para o desenvolvimento de novos tratamentos.

A análise detalhada das interações entre as citocinas, conforme é demonstrado na **Figura 38**, lança luz sobre a complexidade da resposta imunológica e a modulação exercida pelos tratamentos. Os dados de correlações de citocinas demonstram padrões distintos entre os grupos experimentais (Veículo, *P. cincinnata*, e TFDa). No grupo Veículo, observa-se uma quantidade menor de correlações negativas em comparação com os grupos tratados, sugerindo uma rede de citocinas, talvez, menos regulada ou mais homogênea na ausência do tratamento. Em contraste, o grupo TFDa exibe o maior número de correlações negativas, o que pode indicar uma interação mais complexa e potencialmente mais direcionada da resposta inflamatória.

Correlações negativas entre citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, por exemplo, podem refletir mecanismos de contrarregulação importantes para limitar o dano

tecidual excessivo (GUPTA *et al.*, 2021). A análise das correlações positivas revela uma tendência oposta, com o grupo veículo apresentando o maior número dessas associações, seguido por *P. cincinnata* e, por fim, TFDa. Correlações positivas podem indicar vias de sinalização sinérgicas ou a co-expressão de citocinas envolvidas em fases semelhantes da resposta imune. A menor quantidade de correlações positivas no grupo TFDa pode sugerir uma maior especificidade da resposta induzida pelo tratamento.

Ao examinar as correlações mais significativas por grupo, notam-se combinações específicas de citocinas que se destacam em cada condição experimental. No grupo veículo, a correlação entre IL-1 $\beta$  e IL-12, bem como IL-17 e IL-12, pode refletir a ativação de vias Th1 e Th17 em resposta à infecção não tratada (AKHTER *et al.*, 2023; ALVAREZ *et al.*, 2023; GĘBKA *et al.*, 2022). No grupo tratado com *P. cincinnata*, a forte correlação entre IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ , e IL-10 e TNF- $\alpha$ , pode indicar uma tentativa de equilibrar a inflamação através da indução de citocinas pró e anti-inflamatórias (LOPES *et al.*, 2024; ZULHENDRI *et al.*, 2022). O grupo TFDa, por sua vez, apresenta correlações significativas entre IL-10 e TNF- $\alpha$ , e IL-1 $\beta$  e IL-12, sugerindo um perfil de resposta distinto que pode envolver uma interação mais ativa da inflamação e a polarização da resposta imune (BELPAIRE; VAN GEEL; SPEECKAERT, 2022b; KORTEKAAS KROHN *et al.*, 2022).

A representação esquemática da resposta sistêmica, **Figura 38**, ilustra a interação entre uma célula dendrítica (apresentadora de抗ígenos), citocinas e uma célula T naïve. A célula dendrítica, após processar抗ígenos no linfonodo retromaxilar, apresenta-os à célula T naïve na presença de citocinas específicas, direcionando a diferenciação da célula T para diferentes subtipos (por exemplo, Th1, Th2, Th17, Treg) (BOŠNJAK *et al.*, 2022; NARASIMHAN *et al.*, 2025; NELLI *et al.*, 2024; ZANNA *et al.*, 2021). Os padrões de correlação de citocinas observados nos diferentes grupos podem, portanto, influenciar a polarização da resposta de células T e, consequentemente, a eficácia da eliminação do patógeno e a resolução da inflamação.

A análise das redes bayesianas reforça a observação de diferentes padrões de interação entre os grupos. A ordem de complexidade das interações (Veículo < *P. cincinnata* < TFDa) sugere que a TFDa induz uma rede de interações de citocinas mais intrincada. As interações mais fortes por grupo revelam vias de sinalização dominantes em cada condição. No veículo, IL-1 $\beta$  parece influenciar a produção de TNF- $\alpha$  e IL-17, enquanto IL-10 modula IL-17. No grupo *P. cincinnata*, IL-1 $\beta$  influencia TNF- $\alpha$  e IL-12, e TNF- $\alpha$  modula IL-17. O grupo TFDa exibe uma rede com IL-1 $\beta$  influenciando IL-12,

IL-10 influenciando TNF- $\alpha$ , e IL-12 influenciando IL-17. Essas diferenças nas redes de interação sugerem mecanismos de ação distintos para o tratamento com *P. cincinnata* isoladamente e a TFDa.

Assim, os dados apresentados na **Figura 38** indicam que tanto o tratamento com *P. cincinnata* quanto a TFDa interfere na resposta imunológica sistêmica, conforme avaliado pelas interações de citocinas nos linfonodos retromaxilares. A TFDa parece induzir uma resposta mais complexa e regulada, caracterizada por um maior número de correlações negativas e um padrão específico de interações entre citocinas. A compreensão detalhada dessas alterações na rede de citocinas é crucial para elucidar os mecanismos pelos quais *P. cincinnata* e a TFDa exercem seus efeitos terapêuticos no contexto da infecção estudada. Estudos futuros poderiam investigar a cinética dessas citocinas em diferentes momentos da infecção e do tratamento, bem como a diferenciação de subpopulações de células T nos linfonodos, para fornecer uma visão mais completa da resposta imune induzida por essas abordagens.

A análise de agrupamento (dendrogramas) e a Análise de Componentes Principais (PCA) demonstraram a capacidade de distinguir os grupos experimentais com base nas variáveis avaliadas, especialmente na contagem de polimorfonucleares e mononucleares. Os grupos tratados com *P. cincinnata* e TFDa apresentaram maior similaridade entre si, enquanto o grupo Veículo se mostrou distinto, reforçando a eficácia dos tratamentos na modulação da resposta inflamatória e da carga bacteriana. O PCA revelou que os dois primeiros componentes principais explicaram uma parcela significativa da variância dos dados, com as variáveis de perda de peso correlacionando-se positivamente com o PC1 e as variáveis de carga bacteriana e infiltrado leucocitário correlacionando-se negativamente, evidenciando a influência dessas variáveis na distinção dos grupos.

Assim, a análise de PCA demonstra uma clara distinção entre o grupo controle e os grupos tratados com *P. cincinnata* e TFDa, indicando que ambos os tratamentos influenciaram o curso da infecção e a resposta do organismo. O grupo controle se caracteriza por maior carga bacteriana, maior infiltração de células inflamatórias e maior perda de peso. Os grupos tratados, por outro lado, mostram uma tendência a apresentar menor carga bacteriana e um perfil de citocinas distinto. A análise mais detalhada da posição dos vetores das citocinas em relação aos grupos tratados pode fornecer informações valiosas sobre os mecanismos imunomodulatórios específicos de cada tratamento. A separação dos grupos no espaço dos componentes principais sugere que a

PCA é uma ferramenta útil para discriminar os efeitos dos diferentes tratamentos no contexto da infecção experimental.

Dentre os polimorfonucleares, é importante ressaltar o papel dos neutrófilos, principalmente em uma infecção bacteriana ocasionada por MRSA. Os neutrófilos desempenham um papel fundamental na eliminação do MRSA após a terapia fotodinâmica antimicrobiana (DOS SANTOS *et al.*, 2019b, 2019a, 2020; MUNIZ *et al.*, 2021; RIBEIRO *et al.*, 2024). Em animais senescentes, devido às alterações imunológicas associadas à idade, a função dos neutrófilos pode estar comprometida, o que pode influenciar a eficácia da TFDa. Contudo, o processo de imunossenescência em animais senescentes acarreta alterações fenotípicas e funcionais nos neutrófilos, incluindo a atenuação da capacidade quimiotática, a diminuição da eficiência fagocítica, a produção subótima de EROS e a potencial disfunção na formação de NETs (LORD *et al.*, 2001; VAN AVONDT *et al.*, 2023).

No âmbito da TFDa, a integridade funcional dos neutrófilos revela-se essencial para a otimização da resposta terapêutica contra MRSA em animais senescentes. A TFDa, ao induzir dano fototóxico direto nas células bacterianas através da geração de EROS mediante a ativação de um fotossensibilizador por luz de comprimento de onda específico, demanda a subsequente remoção dos detritos bacterianos e a resolução do processo inflamatório local (GRANDI *et al.*, 2022; ILUZ *et al.*, 2018; ROBERTSON; EVANS; ABRAHAMSE, 2009; VECCHIO *et al.*, 2013). Neutrófilos competentes são cruciais para a fagocitose e eliminação das bactérias lesadas pela TFDa, prevenindo a persistência ou recorrência da infecção (TORABI *et al.*, 2021).

Ademais, a interação entre a TFDa e a atividade neutrofílica pode exibir um efeito sinérgico. A lesão bacteriana induzida pela TFDa pode aumentar a susceptibilidade do MRSA à fagocitose pelos neutrófilos, enquanto a liberação de mediadores antimicrobianos pelos neutrófilos pode complementar o efeito bactericida primário da terapia fotodinâmica (NING *et al.*, 2022; RIBEIRO *et al.*, 2024). A modulação da resposta inflamatória desencadeada pela TFDa também depende da ação regulatória dos neutrófilos, prevenindo a exacerbação do dano tecidual, um aspecto particularmente relevante em animais senescentes comumente predispostos a respostas inflamatórias desreguladas (LORD *et al.*, 2001).

Portanto, a eficácia da TFDa no tratamento de infecções por MRSA em animais senescentes está intrinsecamente ligada à capacidade funcional dos neutrófilos.

Estratégias futuras podem se beneficiar da investigação de abordagens que visem modular ou restaurar a função neutrofílica nessa população, potencialmente otimizando os resultados da TFDa e melhorando o prognóstico clínico. A compreensão aprofundada da interação entre a TFDa e a resposta neutrofílica no contexto da imunossenescênciá é fundamental para o desenvolvimento de protocolos de tratamento mais eficazes em um contexto de senescênciá celular associada às infecções por MRSA.

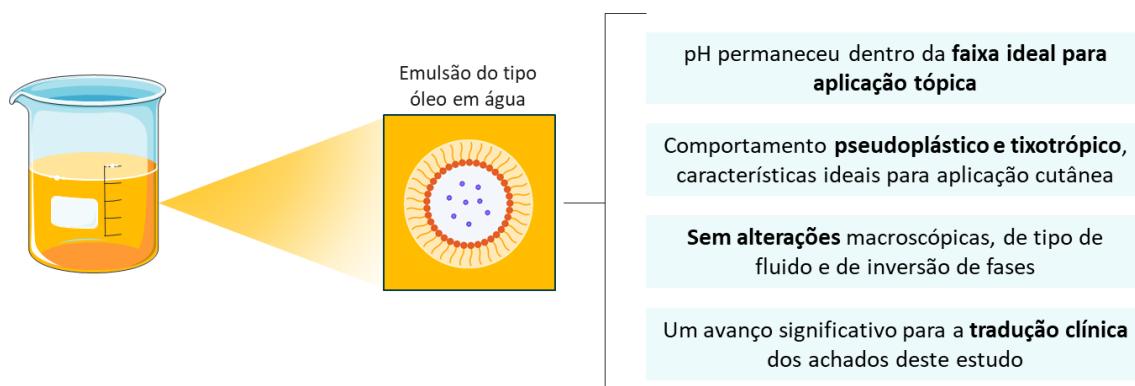
A fim de facilitar a aplicação tópica da fração butanólica de *P. cincinnata*, um passo fundamental para a tradução clínica dos resultados, desenvolveu-se uma emulsão. A formulação foi desenvolvida com Olivem 1000®, um componente auto-emulsificante funcional de origem natural, delineado para formulações do tipo óleo em água (HALLSTAR, 2024). Uma vez que não foram observadas alterações nos parâmetros macroscópicos, separação de fases ou viscosidade após o teste de centrifugação, seguiu-se para avaliação durante 90 dias.

Com as análises reológicas foi possível observar que a emulsão apresentou comportamento não newtoniano, visto que não apresentou relação não linear entre tensão de cisalhamento e taxa de cisalhamento. Os valores dos índices de fluidez foram inferiores a 1,0, indicando comportamento de fluidez pseudoplástica (DAMASCENO *et al.*, 2016). Além disso, a emulsão teve um comportamento tixotrópico, uma característica típica de fluidos não newtonianos, evidenciada pela curva ascendente com valores superiores à curva descendente. Todas essas características citadas são ideais para aplicação cutânea, facilitando a aplicação e promovendo a absorção dos compostos ativos (BANERJEE; THIAGARAJAN; THIAGARAJAN, 2018; REOLON *et al.*, 2024).

A estabilidade da formulação foi avaliada sob diferentes temperaturas de armazenamento ( $4 \pm 2$  °C,  $25 \pm 2$  °C e  $40 \pm 2$  °C) durante 90 dias. Os resultados demonstraram que a temperatura de  $40 \pm 2$  °C ocasionou uma leve alteração na viscosidade e na tensão de cisalhamento, indicando a necessidade de armazenamento em temperaturas mais baixas para preservar as propriedades reológicas da formulação. A análise da viscosidade mínima aparente confirmou a estabilidade da formulação a  $4 \pm 2$  °C, sem alterações significativas em relação ao tempo inicial (24 horas). Por outro lado, o aumento da viscosidade observado a  $40 \pm 2$  °C sugere a ocorrência de perda de água por evaporação em altas temperaturas, como observado por outros estudos (SALEHI; MORTAZAVI; MOGHIMI, 2022; SIMÕES; VEIGA; VITORINO, 2019). Esses achados

são importantes para determinar as condições ideais de armazenamento e manuseio da amostra, dependendo da aplicação desejada.

A condutividade elétrica mostrou-se mais estável a  $25 \pm 2$  °C. As mudanças na condutividade podem ser devidas a reações químicas, degradação ou outros processos que alteram a concentração de íons na amostra (CEKIĆ; SAVIĆ; SAVIĆ, 2023). Apesar dos resultados destacarem a importância do controle da temperatura no armazenamento da formulação para garantir sua estabilidade e eficácia (BADRUDDOZA *et al.*, 2023), as variações de significância estatística não demonstraram alterações que comprometam a formulação, em nenhuma das temperaturas. Isso atesta para o fato de não ter sido observada inversão de fase, nem alteração no tipo de fluido, bem como o fato de não se ter alterações macroscópicas (**Figura 39**). Além disso, o pH da formulação permaneceu dentro da faixa de pH ideal para aplicação tópica (pH da pele: 4,5-5,5) (LUKIĆ; PANTELIĆ; SAVIĆ, 2021), demonstrando a compatibilidade do produto com a pele ao longo do período de análise.



**Figura 39.** Representação esquemática de uma emulsão dos principais resultados obtidos da emulsão. Emulsão do tipo óleo em água com pH ideal, comportamento pseudoplástico e tixotrópico, sem alterações macroscópicas e potencial para tradução clínica. Imagem elaborado com recursos da Plataforma Smart Servier, autoria própria.

Os resultados deste estudo demonstram o potencial fotossensibilizador de extratos de *Passiflora* contra MRSA *in vitro* e *in vivo*, com destaque para a fração butanólica de *P. cincinnata*. O desenvolvimento de uma emulsão estável contendo essa fração representa um avanço significativo para a possível aplicação terapêutica tópica no tratamento de infecções cutâneas por bactérias resistentes. Futuras pesquisas são necessárias para otimizar a formulação, o protocolo de fotoativação e avaliar a eficácia e segurança em modelos *in vivo* mais complexos e, eventualmente, em ensaios clínicos.

## 8. CONCLUSÃO

Este estudo pioneiro investigou a capacidade fotossensibilizadora de extratos de *P. edulis*, *P. alata* e, principalmente, *P. cincinnata*. De modo inédito, demonstrou-se a eficácia desses FS na inativação fotodinâmica de MRSA, evidenciando seu potencial para o desenvolvimento de novos compostos antimicrobianos seguros, dada a ausência de citotoxicidade em células eucarióticas. A TFDa com a fração butanólica de *P. cincinnata*, baseada em bioativos de um produto natural brasileiro, surge como um recurso para tratar infecções cutâneas por MRSA, especialmente em pacientes longevos, oferecendo uma alternativa eficaz à crescente resistência antibacteriana. Em modelo murino de senescência, essa fração controlou eficazmente a infecção, reduzindo a carga bacteriana e a inflamação.

Adicionalmente, o estudo buscou elucidar a localização de ação do FS, sugerindo que a internalização na bactéria, sem alterar significativamente o potencial de membrana, é um fator relevante. No entanto, futuras investigações para elucidar as vias moleculares envolvidas nessa interação são cruciais para otimizar a eficácia terapêutica. Somado à compreensão das vias de atuação do FS, a padronização de uma formulação emulsionada para aplicação tópica, demonstrando estabilidade em temperatura ambiente e propriedades reológicas adequadas, representa um avanço significativo para a tradução clínica desses achados.

É importante salientar que esta pesquisa estabelece as bases para o desenvolvimento de estratégias de TFDa direcionadas usando espécies de *Passiflora* e enfatiza a necessidade de explorar novos FS derivados de plantas pouco pesquisadas. Os resultados apresentados são promissores, pela demonstração da eficácia da TFDa em um modelo de senescência utilizando camundongos da linhagem C57BL/6. A relevância deste achado é ampliada pela consideração da alta concentração de melanina inerente a essa linhagem, um fator frequentemente negligenciado na pesquisa com TFDa, suprindo assim a escassez de estudos prévios com esses animais. Apesar do exposto, estudos adicionais são necessários para avaliar a segurança e eficácia da formulação em modelos pré-clínicos e clínicos, bem como para explorar a sinergia com outros agentes antimicrobianos.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDO, J. M.; SOPKO, N. A.; MILNER, S. M. The applied anatomy of human skin: A model for regeneration. **Wound Medicine**, v. 28, p. 100179, mar. 2020.

ACOSTA, A. C.; COSTA, M. M.; PINHEIRO JUNIOR, J. W.; MOTA, R. A. Fatores de virulência de *Staphylococcus aureus*. **Medicina Veterinária**, v. 11, n. 4, p. 252–269, 2017. Disponível em: <<https://www.journals.ufrpe.br/index.php/medicinaveterinaria/article/view/1955>>. Acesso em: 21 jan. 2025.

AEBISHER, D.; SZPARA, J.; BARTUSIK-AEBISHER, D. Advances in Medicine: Photodynamic Therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 15, p. 8258, 29 jul. 2024.

AIELLO, A.; LIGOTTI, M. E.; GARNICA, M.; ACCARDI, G.; CALABRÒ, A.; POJERO, F.; ARASANZ, H.; BOCANEGRA, A.; BLANCO, E.; CHOCARRO, L.; ECHAIDE, M.; FERNANDEZ-RUBIO, L.; RAMOS, P.; PIÑEIRO-HERMIDA, S.; KOCHAN, G.; ZAREIAN, N.; FARZANEH, F.; ESCORS, D.; CARUSO, C.; CANDORE, G. How Can We Improve Vaccination Response in Old People? Part I: Targeting Immunosenescence of Innate Immunity Cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 17, p. 9880, 31 ago. 2022.

AKHTER, S.; TASNIM, F. M.; ISLAM, M. N.; RAUF, A.; MITRA, S.; EMRAN, T. Bin; ALHUMAYDHI, F. A.; AHMED KHALIL, A.; ALJOHANI, A. S. M.; AL ABDULMONEM, W.; THIRUVENGADAM, M. Role of Th17 and IL-17 Cytokines on Inflammatory and Auto-immune Diseases. **Current Pharmaceutical Design**, v. 29, n. 26, p. 2078–2090, 6 set. 2023. Disponível em: <<https://www.benthamdirect.com/content/journals/cpd/10.2174/1381612829666230904150808>>. Acesso em: 7 abr. 2025.

ALFEI, S.; SCHITO, G. C.; SCHITO, A. M.; ZUCCARI, G. Reactive Oxygen Species (ROS)-Mediated Antibacterial Oxidative Therapies: Available Methods to Generate ROS and a Novel Option Proposal. **International Journal of Molecular Sciences 2024, Vol. 25, Page 7182**, v. 25, n. 13, p. 7182, 29 jun. 2024. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1422-0067/25/13/7182/htm>>. Acesso em: 14 mar. 2025.

AL-JAMAL, A. N.; AL-HUSSAINY, A. F.; MOHAMMED, B. A.; ABBAS, H. H.; KADHIM, I. M.; WARD, Z. H.; MAHAPATRA, D. K.; JOSEPH, T. M.; KIANFAR,

E.; THOMAS, S. Photodynamic Therapy (PDT) in drug delivery: Nano-innovations enhancing treatment outcomes. **Health Sciences Review**, v. 14, p. 100218, mar. 2025.

ALLAMYRADOV, Y.; BEN YOSEF, J.; ANNAMURADOV, B.; ATEYEH, M.; STREET, C.; WHIPPLE, H.; ER, A. O. Photodynamic Therapy Review: Past, Present, Future, Opportunities and Challenges. **Photochem**, v. 4, n. 4, p. 434–461, 1 out. 2024.

ALLISON, R. R.; DOWNIE, G. H.; CUENCA, R.; HU, X. H.; CHILDS, C. J. H.; SIBATA, C. H. Photosensitizers in clinical PDT. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 1, n. 1, p. 27–42, 1 maio 2004. . Acesso em: 20 maio. 2023.

ALMEIDA, P. P.; PEREIRA, Í. S.; RODRIGUES, K. B.; LEAL, L. S.; MARQUES, A. S.; ROSA, L. P.; DA SILVA, F. C.; DA SILVA, R. A. A. Photodynamic therapy controls of *Staphylococcus aureus* intradermal infection in mice. **Lasers in Medical Science**, v. 32, n. 6, p. 1337–1342, 1 ago. 2017. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s10103-017-2247-1>>. Acesso em: 11 jun. 2023.

ALVAREZ, F.; ISTOMINE, R.; DA SILVA LIRA FILHO, A.; AL-AUBODAH, T. A.; HUANG, D.; OKDE, R.; OLIVIER, M.; FRITZ, J. H.; PICCIRILLO, C. A. IL-18 is required for the TH1-adaptation of TREG cells and the selective suppression of TH17 responses in acute and chronic infections. **Mucosal Immunology**, v. 16, n. 4, p. 462–475, 1 ago. 2023.. Acesso em: 7 abr. 2025.

ALVAREZ, N.; SEVILLA, A. Current Advances in Photodynamic Therapy (PDT) and the Future Potential of PDT-Combinatorial Cancer Therapies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 2, p. 1023, 13 jan. 2024.

AMARAL, J. **Passiflora L. (Passifloraceae): estudos fitoquímicos suportados no desenvolvimento de estratégias de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas.** 2018. University of Sao Paulo, 2018. Disponível em: <[https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60138/tde-27062018-115423/publico/Tese\\_Corrigida\\_Completa.pdf](https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60138/tde-27062018-115423/publico/Tese_Corrigida_Completa.pdf)>. Acesso em: 16 dez. 2024.

AMARAL, R. G.; GOMES, S. V. F.; ANDRADE, L. N.; DOS SANTOS, S. A.; SEVERINO, P.; DE ALBUQUERQUE, R. L. C.; SOUTO, E. B.; BRANDÃO, G. C.; SANTOS, S. L.; DAVID, J. M.; CARVALHO, A. A. Cytotoxic, Antitumor and Toxicological Profile of *Passiflora alata* Leaf Extract. **Molecules** **2020**, Vol. 25, Page

**4814**, v. 25, n. 20, p. 4814, 20 out. 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/25/20/4814/htm>>. Acesso em: 15 maio. 2025.

ARÊDE, P.; MILHEIRIÇO, C.; DE LENCASTRE, H.; OLIVEIRA, D. C. The Anti-Repressor MecR2 Promotes the Proteolysis of the *mecA* Repressor and Enables Optimal Expression of β-lactam Resistance in MRSA. **PLoS Pathogens**, v. 8, n. 7, p. e1002816, 26 jul. 2012.

ARÊDE, P.; MINISTRO, J.; OLIVEIRA, D. C. Redefining the Role of the β-Lactamase Locus in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: β-Lactamase Regulators Disrupt the MecI-Mediated Strong Repression on *mecA* and Optimize the Phenotypic Expression of Resistance in Strains with Constitutive *mecA* Expression. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 57, n. 7, p. 3037–3045, jul. 2013.

AYRES, A. S. F. S. J.; SANTOS, W. B.; JUNQUEIRA-AYRES, D. D.; COSTA, G. M.; RAMOS, F. A.; CASTELLANOS, L.; ALVES, J. S. F.; ASTH, L.; MEDEIROS, I. U. de; ZUCOLOTTO, S. M.; GAVIOLI, E. C. Monoaminergic neurotransmission is mediating the antidepressant-like effects of *Passiflora edulis Sims* fo. *edulis*. **Neuroscience Letters**, v. 660, p. 79–85, nov. 2017.

AZIZ, B.; AZIZ, I.; KHURSHID, A.; RAOIFI, E.; ESFAHANI, F. N.; JALILIAN, Z.; MOZAFARI, M. R.; TAGHAVI, E.; IKRAM, M. An Overview of Potential Natural Photosensitizers in Cancer Photodynamic Therapy. **Biomedicines 2023, Vol. 11, Page 224**, v. 11, n. 1, p. 224, 16 jan. 2023. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2227-9059/11/1/224/htm>>. Acesso em: 6 abr. 2025.

BACCARI, S.; VASCA, F.; TIPALDI, M.; IANNELLI, L. Model Predictive Control for Luminous Flux Tracking in Light-Emitting Diodes. **IEEE Transactions on Control Systems Technology**, v. 25, n. 2, p. 695–703, mar. 2017.

BADRUDDOZA, A. Z. M.; YEOH, T.; SHAH, J. C.; WALSH, T. Assessing and Predicting Physical Stability of Emulsion-Based Topical Semisolid Products: A Review. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 112, n. 7, p. 1772–1793, 1 jul. 2023. . Acesso em: 25 mar. 2025.

BAGNATO, V.; REQUENA. MICHELE. Terapia fotodinâmica dermatológica: Programa TFD Brasil. v. 2, 2023.. Acesso em: 23 abr. 2025.

BANERJEE, K.; THIAGARAJAN, N.; THIAGARAJAN, P. Formulation Optimization, Rheological Characterization and Suitability Studies of Polyglucoside-

based Azadirachta indica A. Juss Emollient Cream as a Dermal Base for Sun Protection Application. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 79, n. 6, p. 914–922, 30 jan. 2018. Disponível em: <<https://www.ijpsonline.com/articles/formulation-optimization-rheological-characterization-and-suitability-studies-of-polyglucosidebased-iazadirachta-indicai-a-juss-em-3406.html>>. Acesso em: 25 mar. 2025.

BAPTISTA, M. S.; CADET, J.; GREER, A.; ANDRÉ, A.; THOMAS, A. H. Photosensitization Reactions of Biomolecules: Definition, Targets and Mechanisms. **Photochemistry and Photobiology**, 2021. . Acesso em: 14 mar. 2025.

BARBOSA SANTOS, T.; DE ARAUJO, F. P.; NETO, A. F.; DE FREITAS, S. T.; DE SOUZA ARAÚJO, J.; DE OLIVEIRA VILAR, S. B.; BRITO ARAÚJO, A. J.; LIMA, M. S. Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity of the Pulp of Two Brazilian Passion Fruit Species: Passiflora Cincinnata Mast. And Passiflora Edulis Sims. <https://doi.org/10.1080/15538362.2021.1872050>, v. 21, n. 1, p. 255–269, 2021. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15538362.2021.1872050>>. Acesso em: 21 maio. 2023.

BAROLET, D. Light-Emitting Diodes (LEDs) in Dermatology. **Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery**, v. 27, n. 4, p. 227–238, dez. 2008.

BELPAIRE, A.; VAN GEEL, N.; SPEECKAERT, R. From IL-17 to IFN- $\gamma$  in inflammatory skin disorders: Is transdifferentiation a potential treatment target? **Frontiers in Immunology**, v. 13, 28 jul. 2022a. Disponível em: <<https://pmc/articles/PMC9367984/>>. Acesso em: 24 maio. 2023.

BELPAIRE, A.; VAN GEEL, N.; SPEECKAERT, R. From IL-17 to IFN- $\gamma$  in inflammatory skin disorders: Is transdifferentiation a potential treatment target? **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 932265, 28 jul. 2022b. . Acesso em: 7 abr. 2025.

BLEVE, A.; MOTTA, F.; DURANTE, B.; PANDOLFO, C.; SELMI, C.; SICA, A. Immunosenescence, Inflammaging, and Frailty: Role of Myeloid Cells in Age-Related Diseases. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology 2021 64:2**, v. 64, n. 2, p. 123–144, 15 jan. 2022. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s12016-021-08909-7>>. Acesso em: 20 maio. 2023.

BLOOM, D. E.; CADARETTE, D. Infectious disease threats in the twenty-first century: Strengthening the global response. **Frontiers in Immunology**, v. 10, n. MAR, p. 445106, 28 mar. 2019. Disponível em: <[www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org)>. Acesso em: 8 jan. 2025.

BLUMBERG, P. M.; STROMINGER, J. L. Interaction of penicillin with the bacterial cell: penicillin-binding proteins and penicillin-sensitive enzymes. **Bacteriological Reviews**, v. 38, n. 3, p. 291–335, 1974.

BOCHEVA, G. St.; SLOMINSKI, R. M.; SLOMINSKI, A. T. Immunological Aspects of Skin Aging in Atopic Dermatitis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 11, p. 5729, 27 maio 2021.

BOŠNJAK, B.; DO, K. T. H.; FÖRSTER, R.; HAMMERSCHMIDT, S. I. Imaging dendritic cell functions\*. **Immunological Reviews**, v. 306, n. 1, p. 137–163, 1 mar. 2022. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/imr.13050>>. Acesso em: 7 abr. 2025.

BOUCHER, H. W.; COREY, G. R. Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Clinical Infectious Diseases**, v. 46, n. S5, p. S344–S349, jun. 2008.

BRAGA-SOUTO, R. N.; BORGES, L. A.; CARVALHO, M. D.; TEIXEIRA, M. G.; OLIVEIRA, M. L. P.; FARIA, J. T.; NUNES, E. E.; LIMA, J. P. New insights into the oil from the seeds of Cerrado passion fruit (*Passiflora cincinnata*): physicochemical characterization and stability during storage. **Grasas y Aceites**, v. 75, n. 2, p. 2136–2136, 3 out. 2024. Disponível em: <<https://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/view/2136/3209>>. Acesso em: 15 maio. 2025.

BRANDAÕ, L. E. M.; NÔGA, D. A. M. F.; DIERSCHNABEL, A. L.; CAMPÊLO, C. L. D. C.; MEURER, Y. D. S. R.; LIMA, R. H.; ENGELBERTH, R. C. G. J.; CAVALCANTE, J. S.; LIMA, C. A.; MARCHIORO, M.; ESTEVAM, C. D. S.; SANTOS, J. R.; SILVA, R. H.; RIBEIRO, A. M. Passiflora cincinnata Extract Delays the Development of Motor Signs and Prevents Dopaminergic Loss in a Mice Model of Parkinson's Disease. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine : eCAM**, v. 2017, 2017. Disponível em: <[pmc/articles/PMC5556616/](https://pmc/articles/PMC5556616/)>. Acesso em: 24 maio. 2023.

BROWN, T. M.; KRISHNAMURTHY, K. Histology, Dermis. **StatPearls**, 14 nov. 2022. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535346/>>. Acesso em: 1 mar. 2025.

BRUBAKER, A. L.; RENDON, J. L.; RAMIREZ, L.; CHOUDHRY, M. A.; KOVACS, E. J. Reduced Neutrophil Chemotaxis and Infiltration Contributes to Delayed Resolution of Cutaneous Wound Infection with Advanced Age. **The Journal of Immunology**, v. 190, n. 4, p. 1746–1757, 15 fev. 2013.

BRUUNSGAARD, H.; ANDERSEN-RANBERG, K.; JEUNE, B.; PEDERSEN, A. N.; SKINHOJ, P.; PEDERSEN, B. K. A High Plasma Concentration of TNF- Is Associated With Dementia in Centenarians. **The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 54, n. 7, p. M357–M364, 1 jul. 1999.

CALIXTO, G.; BERNEGOSSI, J.; DE FREITAS, L.; FONTANA, C.; CHORILLI, M. Nanotechnology-Based Drug Delivery Systems for Photodynamic Therapy of Cancer: A Review. **Molecules**, v. 21, n. 3, p. 342, 11 mar. 2016.

CARUSO, C.; LIGOTTI, M. E.; ACCARDI, G.; AIELLO, A.; CANDORE, G. An immunologist's guide to immunosenescence and its treatment. **Expert Review of Clinical Immunology**, v. 18, n. 9, p. 961–981, 2 set. 2022.

CASSIDY, C. M.; DONNELLY, R. F.; TUNNEY, M. M. Effect of sub-lethal challenge with Photodynamic Antimicrobial Chemotherapy (PACT) on the antibiotic susceptibility of clinical bacterial isolates. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 99, n. 1, p. 62–66, 2 abr. 2010. . Acesso em: 19 jun. 2023.

CEKIĆ, N.; SAVIĆ, S.; SAVIĆ, S. Stability evaluation of emulsion-based topical preparations: A valuable potential of dynamicmechanical thermoanalysis (DMTA) test as a rapid rheological alternative to conventional freezethaw test. **Arhiv za farmaciju**, v. 73, n. 5, p. 358–389, 2023. . Acesso em: 26 mar. 2025.

CEVENINI, E.; MONTI, D.; FRANCESCHI, C. Inflamm-ageing. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 16, n. 1, p. 14–20, jan. 2013.

CHAMBERS, E. S.; VUKMANOVIC-STEJIC, M. Skin barrier immunity and ageing. **Immunology**, v. 160, n. 2, p. 116–125, 4 jun. 2020.

CHEUNG, G. Y. C.; BAE, J. S.; OTTO, M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1878688>, v. 12, n. 1, p. 547–569, 2021. Disponível em:

<<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/21505594.2021.1878688>>. Acesso em: 20 maio. 2023.

CHO, J. S.; PIETRAS, E. M.; GARCIA, N. C.; RAMOS, R. I.; FARZAM, D. M.; MONROE, H. R.; MAGORIEN, J. E.; BLAUVELT, A.; KOLLS, J. K.; CHEUNG, A. L.; CHENG, G.; MODLIN, R. L.; MILLER, L. S. IL-17 is essential for host defense against cutaneous *Staphylococcus aureus* infection in mice. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 120, n. 5, p. 1762–1773, 3 maio 2010. Disponível em: <<http://www.jci.org>>. Acesso em: 24 maio. 2023.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing A CLSI supplement for global application. **CLSI supplementary M100**, 2018. Disponível em: <[www.clsi.org](http://www.clsi.org)>. Acesso em: 10 mar. 2025.

COLOMEU, T. C.; DE FIGUEIREDO, D.; DE MATOS DA SILVA, P.; FERNANDES, L. G. R.; ZOLLNER, R. de L. Antiproliferative and Pro-Oxidant Effect of Polyphenols in Aqueous Leaf Extract of *Passiflora alata* Curtis on Activated T Lymphocytes from Non-Obese Diabetic (NOD SHILT/J) Mice. **Antioxidants**, v. 11, n. 8, p. 1503, 30 jul. 2022.

CORREIA, J. H.; RODRIGUES, J. A.; PIMENTA, S.; DONG, T.; YANG, Z. Photodynamic Therapy Review: Principles, Photosensitizers, Applications, and Future Directions. **Pharmaceutics 2021, Vol. 13, Page 1332**, v. 13, n. 9, p. 1332, 25 ago. 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1999-4923/13/9/1332/htm>>. Acesso em: 20 maio. 2023.

COSTA, G. M.; GAZOLA, A. C.; ZUCOLOTTO, S. M.; CASTELLANOS, L.; RAMOS, F. A.; REGINATTO, F. H.; SCHENKEL, E. P. Chemical profiles of traditional preparations of four South American *Passiflora* species by chromatographic and capillary electrophoretic techniques. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 4, p. 451–458, 1 jul. 2016. Acesso em: 20 maio. 2023.

COVRE, L. P.; DE MAEYER, R. P. H.; GOMES, D. C. O.; AKBAR, A. N. The role of senescent T cells in immunopathology. **Aging Cell**, v. 19, n. 12, 9 dez. 2020.

CRAFT, K. M.; NGUYEN, J. M.; BERG, L. J.; TOWNSEND, S. D. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): antibiotic-resistance and the biofilm phenotype. **MedChemComm**, v. 10, n. 8, p. 1231–1241, 2019.

CRIMMINS, E. M.; FINCH, C. E. Infection, inflammation, height, and longevity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 2, p. 498–503, 10 jan. 2006. Disponível em: <<https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.0501470103>>. Acesso em: 24 maio. 2023.

CROOKE, S. N.; OVSYANNIKOVA, I. G.; POLAND, G. A.; KENNEDY, R. B. Immunosenescence: A systems-level overview of immune cell biology and strategies for improving vaccine responses. **Experimental Gerontology**, v. 124, p. 110632, set. 2019.

CRUZ DE CASAS, P.; KNÖPPER, K.; DEY SARKAR, R.; KASTENMÜLLER, W. Same yet different — how lymph node heterogeneity affects immune responses. **Nature Reviews Immunology** 2023 24:5, v. 24, n. 5, p. 358–374, 14 dez. 2023. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41577-023-00965-8>>. Acesso em: 7 abr. 2025.

CUI, Y.-Z.; MAN, X.-Y. Biology of melanocytes in mammals. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 11, 22 nov. 2023.

DAMASCENO, G. A. de B.; SILVA, R. M. A. da C.; FERNANDES, J. M.; OSTROSKY, E. A.; LANGASSNER, S. M. Z.; FERRARI, M. Use of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill extracts from Brazilian Caatinga as an alternative of natural moisturizer in cosmetic formulations. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 52, n. 3, p. 459–470, set. 2016.

DE ALBUQUERQUE SIEBRA, A. L.; SANTIAGO LEMOS, I. C.; DE ARAÚJO DELMONDES, G.; ROLIM DE OLIVEIRA, L.; OLIVEIRA BRITO PEREIRA BEZERRA MARTINS, A.; DE CARVALHO SIEBRA, D.; MELO COUTINHO, H. D.; SABINO ALBUQUERQUE, R.; FIGUEIREDO LEITE, N.; MARTINS DA COSTA, J. G.; ALENCAR DE MENEZES, I. R.; KERNTOPF, M. R. Actividad antimicrobiana y caracterización fitoquímica de los extractos hidroalcohólicos de *Passiflora cincinnata* Mast. (maracujá-do-mato). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 19, n. 4, p. 319–328, 2014. Disponível em: <[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962014000400004&lng=es&nrm=iso&tlang=pt](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962014000400004&lng=es&nrm=iso&tlang=pt)>. Acesso em: 3 abr. 2023.

DE LAVOR, É. M.; LEAL, A. E. B. P.; FERNANDES, A. W. C.; RIBEIRO, F. P. R. de A.; BARBOSA, J. de M.; GAMA E SILVA, M.; TELES, R. B. de A.; OLIVEIRA, L. F. da S.; SILVA, J. C.; ROLIM, L. A.; DE MENEZES, I. R. A.; ALMEIDA, J. R. G. da S. Ethanolic extract of the aerial parts of *Passiflora cincinnata* Mast. (Passifloraceae)

reduces nociceptive and inflammatory events in mice. **Phytomedicine**, v. 47, p. 58–68, 1 ago. 2018. . Acesso em: 21 maio. 2023.

DE MARTINIS, M.; MODESTI, M.; GINALDI, L. Phenotypic and functional changes of circulating monocytes and polymorphonuclear leucocytes from elderly persons. **Immunology and Cell Biology**, v. 82, n. 4, p. 415–420, 1 ago. 2004. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.0818-9641.2004.01242.x>>. Acesso em: 24 maio. 2023.

DE MARTINIS, M.; SIRUFO, M. M.; GINALDI, L. Allergy and Aging: An Old/New Emerging Health Issue. **Aging and disease**, v. 8, n. 2, p. 162, 2017.

DE OLIVEIRA, L. D.; RIBEIRO, A. L. M.; DIAS, S. de O.; DA CRUZ, G. M.; DE MENEZES, R. T.; DE CARVALHO, L. S.; DIAMANTINO, M. G. G.; PEREIRA, T. C.; MARCUCCI, M. C.; ABU HASNA, A. Phytochemical Composition and Antimicrobial and Antibiofilm Effect of Myrciaria cauliflora Hydroethanolic Extract against *Staphylococcus aureus* and *Acinetobacter baumannii*. **Methods and Protocols 2024, Vol. 7, Page 60**, v. 7, n. 4, p. 60, 4 ago. 2024. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2409-9279/7/4/60/htm>>. Acesso em: 15 maio. 2025.

DERESINSKI, S. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: An Evolutionary, Epidemiologic, and Therapeutic Odyssey. **Clinical Infectious Diseases**, v. 40, n. 4, p. 562–573, 15 fev. 2005.

DEVER, L. A. Mechanisms of Bacterial Resistance to Antibiotics. **Archives of Internal Medicine**, v. 151, n. 5, p. 886, 1 maio 1991.

DEY, S.; BISHAYI, B. Riboflavin along with antibiotics balances reactive oxygen species and inflammatory cytokines and controls *Staphylococcus aureus* infection by boosting murine macrophage function and regulates inflammation. **Journal of Inflammation**, v. 13, n. 1, p. 36, 28 dez. 2016.

DIAS, A. P. M.; PINHEIRO, M. G.; AGUIAR-ALVES, F. Características clínicas, resistência e fatores de virulência em *Staphylococcus aureus*. **Acta Scientiae et Technicae**, v. 3, n. 1, 15 nov. 2015. . Acesso em: 21 jan. 2025.

DÍEZ, A. G.; RINCÓN-IGLESIAS, M.; LANCEROS-MÉNDEZ, S.; REGUERA, J.; LIZUNDIA, E. Multicomponent magnetic nanoparticle engineering: the role of structure-property relationship in advanced applications. **Materials Today Chemistry**, v. 26, 1 dez. 2022. . Acesso em: 3 abr. 2025.

DOS SANTOS, D. P.; GALANTINI, M. P. L.; RIBEIRO, I. S.; MUNIZ, I. P. R.; PEREIRA, I. S.; DA SILVA, R. A. A. Photoactivated resveratrol controls intradermal infection by *Staphylococcus aureus* in mice: a pilot study. **Lasers in Medical Science**, v. 35, n. 6, p. 1341–1347, 1 ago. 2020. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s10103-019-02942-x>>. Acesso em: 20 maio. 2023.

DOS SANTOS, D. P.; LOPES, D. P. S.; DE MELO CALADO, S. P.; GONÇALVES, C. V.; MUNIZ, I. P. R.; RIBEIRO, I. S.; GALANTINI, M. P. L.; DA SILVA, R. A. A. Efficacy of photoactivated *Myrciaria cauliflora* extract against *Staphylococcus aureus* infection – A pilot study. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 191, p. 107–115, 1 fev. 2019a. . Acesso em: 20 maio. 2023.

DOS SANTOS, D. P.; SOARES LOPES, D. P.; DE MORAES, R. C.; VIEIRA GONÇALVES, C.; PEREIRA ROSA, L.; DA SILVA ROSA, F. C.; DA SILVA, R. A. A. Photoactivated resveratrol against *Staphylococcus aureus* infection in mice. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 25, p. 227–236, 1 mar. 2019b. . Acesso em: 20 maio. 2023.

DOS SANTOS, G. J.; DEFENDI, R. O.; DÜSMAN, E.; BIFFI, M. T.; BERTON, G. H.; TONIN, A. P. P.; MEURER, E. C.; SUZUKI, R. M.; SÍPOLI, C. C.; TONIN, L. T. D. Valorization of Wastes from the Juice Passion Fruit Production Industry: Extraction of Bioactive Compounds from Seeds, Antioxidant, Photoprotective and Antiproliferative Activities. **Waste and Biomass Valorization**, v. 14, n. 4, p. 1233–1250, 24 abr. 2023.

DREW, W.; WILSON, D. V.; SAPEY, E. Inflammation and neutrophil immunosenescence in health and disease: Targeted treatments to improve clinical outcomes in the elderly. **Experimental Gerontology**, v. 105, p. 70–77, maio 2018.

DUARTE, G. M.; GUILHERME, L. R. Avaliação do Óxido de Ferro como Atenuante para Degradação Fotolítica do Fármaco Montelucaste. **Revista Virtual de Química**, v. 13, n. 4, p. 1069–1081, 8 jun. 2021. Disponível em: <<https://rvq-sub.sbj.org.br/index.php/rvq/article/view/3832>>. Acesso em: 25 mar. 2025.

DUTTA, P.; BISHAYI, B. IL-10 in combination with IL-12 and TNF- $\alpha$  attenuates CXCL8/CXCR1 axis in peritoneal macrophages of mice infected with *Staphylococcus aureus* through the TNFR1-IL-1R-NF- $\kappa$ B pathway. **International Immunopharmacology**, v. 120, p. 110297, 1 jul. 2023. . Acesso em: 24 maio. 2023.

EFFERTH, T.; KOCH, E. Complex Interactions between Phytochemicals. The Multi-Target Therapeutic Concept of Phytotherapy. **Current Drug Targets**, v. 12, n. 1, p. 122–132, 10 dez. 2010. . Acesso em: 8 abr. 2025.

ENRIGHT, M. C.; ROBINSON, D. A.; RANDLE, G.; FEIL, E. J.; GRUNDMANN, H.; SPRATT, B. G. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, n. 11, p. 7687–7692, 28 maio 2002. Disponível em: <<https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.122108599>>. Acesso em: 9 mar. 2025.

FAGIOLO, U.; COSSARIZZA, A.; SCALA, E.; FANALES-BELASIO, E.; ORTOLANI, C.; COZZI, E.; MONTI, D.; FRANCESCHI, C.; PAGANELLI, R. Increased cytokine production in mononuclear cells of healthy elderly people. **European Journal of Immunology**, v. 23, n. 9, p. 2375–2378, 11 set. 1993.

FALCONE, M.; TISEO, G. Skin and soft tissue infections in the elderly. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 36, n. 2, p. 102–108, abr. 2023. Disponível em: <[https://journals.lww.com/co-infectiousdiseases/Fulltext/2023/04000/Skin\\_and\\_soft\\_tissue\\_infections\\_in\\_the\\_elderly.8.aspx](https://journals.lww.com/co-infectiousdiseases/Fulltext/2023/04000/Skin_and_soft_tissue_infections_in_the_elderly.8.aspx)>. Acesso em: 4 jul. 2023.

FAN, H. Y.; NAZARI, M.; RAVAL, G.; KHAN, Z.; PATEL, H.; HEERKLOTZ, H. Utilizing zeta potential measurements to study the effective charge, membrane partitioning, and membrane permeation of the lipopeptide surfactin. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 1838, n. 9, p. 2306–2312, 1 set. 2014. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0005273614000820>>. Acesso em: 25 mar. 2025.

FEEHAN, J.; TRIPODI, N.; APOSTOLOPOULOS, V. The twilight of the immune system: The impact of immunosenescence in aging. **Maturitas**, v. 147, p. 7–13, maio 2021.

FERRUCCI, L.; CORSI, A.; LAURETANI, F.; BANDINELLI, S.; BARTALI, B.; TAUB, D. D.; GURALNIK, J. M.; LONGO, D. L. The origins of age-related proinflammatory state. **Blood**, v. 105, n. 6, p. 2294–2299, 15 mar. 2005.

FESSLER, J.; FICJAN, A.; DUFTNER, C.; DEJACO, C. The Impact of Aging on Regulatory T-Cells. **Frontiers in Immunology**, v. 4, 2013.

FONSECA, A. M. A.; GERALDI, M. V.; JUNIOR, M. R. M.; SILVESTRE, A. J. D.; ROCHA, S. M. Purple passion fruit (*Passiflora edulis* f. *edulis*): A comprehensive review on the nutritional value, phytochemical profile and associated health effects. **Food Research International**, v. 160, p. 111665, out. 2022.

FONSECA, A.; RIBEIRO VENIAL, L.; MAURI BERNARDES, P. **GÊNERO Passiflora E SUA IMPORTÂNCIA: REVISÃO DE LITERATURA**. [s.l: s.n.]

FONSECA, L. R. da; RODRIGUES, R. de A.; RAMOS, A. de S.; DA CRUZ, J. D.; FERREIRA, J. L. P.; SILVA, J. R. de A.; AMARAL, A. C. F. Herbal Medicinal Products from *Passiflora* for Anxiety: An Unexploited Potential. **The Scientific World Journal**, v. 2020, p. 1–18, 20 jul. 2020.

FORECAST, R.; CAMPAGNOLI, F.; SCHMIDT, T. W.; COLE, J. H. Photochemical Upconversion in Solution: The Role of Oxygen and Magnetic Field Response. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 127, n. 7, p. 1794–1800, 23 fev. 2023.

GADIOLI, I. L.; DA CUNHA, M. de S. B.; DE CARVALHO, M. V. O.; COSTA, A. M.; PINELI, L. de L. de O. A systematic review on phenolic compounds in *Passiflora* plants: Exploring biodiversity for food, nutrition, and popular medicine. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1224805>, v. 58, n. 5, p. 785–807, 24 mar. 2017. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408398.2016.1224805>>. Acesso em: 20 maio. 2023.

GALANTINI, M. P. L.; RIBEIRO, I. S.; GONÇALVES, C. V.; MUNIZ, I. P. R.; LIMA, P. H. B.; SANTOS, G. S.; DA SILVA, R. A. A. The sweet fuel of inflammation: New perspectives on the complex web that interconnects diabetes. **Experimental gerontology**, p. 111905, jul. 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35918042/>>. Acesso em: 2 ago. 2022.

GARCIA, L. B.; OLIVEIRA, Y.; LIMA, P.; GUIMARÃES, C.; PINHO, D.; LOPES, N.; NUNES, T.; DAMASCENO, G.; GOMES, A.; JULIANO, A. Unlocking Hidden Treasures: LC-MS/MS Molecular Networks for Exploring Novel *Passiflora* Species with Pharmaceutical Potential. **Chemistry & Biodiversity**, v. 21, n. 12, p. e202400681, 13 dez. 2024. Disponível em: <[doi/pdf/10.1002/cbdv.202400681](https://doi/pdf/10.1002/cbdv.202400681)>. Acesso em: 5 maio. 2025.

GĘBKA, N.; ADAMCZYK, J.; GĘBKA-KĘPIŃSKA, B.; MIZGAŁA-IZWORSKA, E.; HAGER, B. The role of flavonoids in prevention and treatment of selected skin diseases. **J Pre-Clin Clin Res**, v. 16, n. 3, p. 99–107, 2022. Disponível em: <[www.jpccr.eu](http://www.jpccr.eu)>. Acesso em: 7 abr. 2025.

GENAH, S. **Pharmacological modulation of endothelial function during tissue remodeling in physio-pathological conditions**. 2022. 2022.

GHOLAMI, L.; SHAHABI, S.; JAZAERI, M.; HADILOU, M.; FEKRAZAD, R. Clinical applications of antimicrobial photodynamic therapy in dentistry. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, 5 jan. 2023.

GHOOI, R. B.; THATTE, S. M. Inhibition of cell wall synthesis — is this the mechanism of action of penicillins? **Medical Hypotheses**, v. 44, n. 2, p. 127–131, fev. 1995.

GONA, P. N.; MORE, A. F. Bacterial pathogens and climate change. **The Lancet**, v. 400, n. 10369, p. 2161–2163, 17 dez. 2022. Disponível em: <<http://www.thelancet.com/article/S0140673622024242/fulltext>>. Acesso em: 7 jan. 2025.

GONÇALVES, A. S. C.; LEITÃO, M. M.; FERNANDES, J. R.; SAAVEDRA, M. J.; PEREIRA, C.; SIMÕES, M.; BORGES, A. Photodynamic activation of phytochemical-antibiotic combinations for combatting *Staphylococcus aureus* from acute wound infections. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 258, p. 112978, set. 2024.

GONÇALVES, C. V.; RIBEIRO, I. S.; GALANTINI, M. P. L.; MUNIZ, I. P. R.; LIMA, P. H. B.; SANTOS, G. S.; DA SILVA, R. A. A. Inflammaging and body composition: New insights in diabetic and hypertensive elderly men. **Experimental Gerontology**, v. 170, p. 112005, 1 dez. 2022. . Acesso em: 4 jul. 2023.

GRANDI, V.; CORSI, A.; PIMPINELLI, N.; BACCI, S. Cellular Mechanisms in Acute and Chronic Wounds after PDT Therapy: An Update. **Biomedicines**, v. 10, n. 7, p. 1624, 7 jul. 2022.

GRIFFITHS, T. W.; WATSON, R. E. B.; LANGTON, A. K. Skin ageing and topical rejuvenation strategies. **British Journal of Dermatology**, v. 189, n. Supplement\_1, p. i17–i23, 30 out. 2023.

GUERRA, F. E.; BORGOGNA, T. R.; PATEL, D. M.; SWARD, E. W.; VOYICH, J. M. Epic immune battles of history: Neutrophils vs. *Staphylococcus aureus*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, n. JUN, p. 270703, 30 jun. 2017. Disponível em: <[www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org)>. Acesso em: 12 jan. 2025.

GULATI, L. K.; GULATI, G. K.; KUMAR, S. Photochromic materials as a photosensitizer in reversible reactive singlet oxygen generation. **Dyes and Pigments**, v. 199, p. 110104, 1 mar. 2022. . Acesso em: 3 abr. 2025.

GUO, Y.; SONG, G.; SUN, M.; WANG, J.; WANG, Y. Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in *Staphylococcus aureus*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, p. 511382, 17 mar. 2020. Disponível em: <[www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org)>. Acesso em: 19 jan. 2025.

GUPTA, A.; ERAL, H. B.; HATTON, T. A.; DOYLE, P. S. Nanoemulsions: formation, properties and applications. **Soft Matter**, v. 12, n. 11, p. 2826–2841, 8 mar. 2016. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2016/sm/c5sm02958a>>. Acesso em: 3 abr. 2025.

GUPTA, A.; VERMA, H.; JOSHI, D.; SHARMA, P. correlação clínica de biomarcadores pró - inflamatórios e anti - inflamatórios com a regeneração tecidual : uma meta-análise. **Eur. J. Pharm. Med.**, 2021. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/profile/Deepak-Joshi-33/publication/355928317\\_The\\_clinical\\_correlation\\_of\\_pro\\_inflammatory\\_and\\_anti\\_inflammatory\\_biomarkers\\_with\\_tissue\\_regeneration\\_A\\_meta\\_analysis/links/6203979a3b8968353d344306/The-clinical-correlation-of-pro-inflammatory-and-anti-inflammatory-biomarkers-with-tissue-regeneration-A-meta-analysis.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Deepak-Joshi-33/publication/355928317_The_clinical_correlation_of_pro_inflammatory_and_anti_inflammatory_biomarkers_with_tissue_regeneration_A_meta_analysis/links/6203979a3b8968353d344306/The-clinical-correlation-of-pro-inflammatory-and-anti-inflammatory-biomarkers-with-tissue-regeneration-A-meta-analysis.pdf)>. Acesso em: 7 abr. 2025.

GUTKNECHT, N.; EDUARDO, C. de P. **A odontologia e o laser, a atuação do laser na especialidade odontológica**. 1. ed. [s.l.] Quintessence, 2004. 217–240 p.

HALLSTAR. OLIVEM ® 1000 Biomimetic multifunctional self-emulsifier. 2024. . Acesso em: 14 maio. 2025.

HAMBLIN, M. R. Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes. **Current Opinion in Microbiology**, v. 33, p. 67–73, out. 2016.

HARTMAN, B.; TOMASZ, A. Altered penicillin-binding proteins in methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 19, n. 5, p. 726–735, maio 1981.

HASANPOUR, A. H.; SEPIDARKISH, M.; MOLLALO, A.; ARDEKANI, A.; ALMUKHTAR, M.; MECHAAL, A.; HOSSEINI, S. R.; BAYANI, M.; JAVANIAN, M.; ROSTAMI, A. The global prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in residents of elderly care centers: a systematic review and meta-analysis. **Antimicrobial Resistance and Infection Control**, v. 12, n. 1, p. 1–11, 1 dez. 2023. Disponível em: <<https://link.springer.com/articles/10.1186/s13756-023-01210-6>>. Acesso em: 20 maio. 2023.

HE, X.; GAO, X.; XIE, W. Research Progress in Skin Aging and Immunity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 7, p. 4101, 7 abr. 2024.

HE, X.; LUAN, F.; YANG, Y.; WANG, Z.; ZHAO, Z.; FANG, J.; WANG, M.; ZUO, M.; LI, Y. *Passiflora edulis*: An Insight Into Current Researches on Phytochemistry and Pharmacology. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, 20 maio 2020.

HIRAMATSU, K.; CUI, L.; KURODA, M.; ITO, T. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Trends in Microbiology**, v. 9, n. 10, p. 486–493, out. 2001.

HOLANDA, D. K. R.; WURLITZER, N. J.; DIONISIO, A. P.; CAMPOS, A. R.; MOREIRA, R. A.; SOUSA, P. H. M. de; BRITO, E. S. de; RIBEIRO, P. R. V.; IUNES, M. F.; COSTA, A. M. Garlic passion fruit (*Passiflora tenuifila* Killip): Assessment of eventual acute toxicity, anxiolytic, sedative, and anticonvulsant effects using in vivo assays. **Food Research International**, v. 128, p. 108813, fev. 2020.

HOU, Z.; LIU, L.; WEI, J.; XU, B. Progress in the Prevalence, Classification and Drug Resistance Mechanisms of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Infection and Drug Resistance**, v. 16, p. 3271–3292, 2023. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=didr20>>. Acesso em: 21 jan. 2025.

HU, Y.; YANG, L.; LAI, Y. Recent findings regarding the synergistic effects of emodin and its analogs with other bioactive compounds: Insights into new mechanisms. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 162, p. 114585, 1 jun. 2023. . Acesso em: 8 abr. 2025.

HU, Z.; KOPPARAPU, P. K.; DESHMUKH, M.; JARNEBORN, A.; GUPTA, P.; ALI, A.; FEI, Y.; ENGDAHL, C.; PULLERITS, R.; MOHAMMAD, M.; JIN, T. The Impact of Aging and Toll-like Receptor 2 Deficiency on the Clinical Outcomes of *Staphylococcus aureus* Bacteremia. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 228, n. 3, p. 332–342, 11 ago. 2023.

HUA, Y.; TIAN, X.; ZHANG, X.; SONG, G.; LIU, Y.; ZHAO, Y.; GAO, Y.; YIN, F. Applications and challenges of photodynamic therapy in the treatment of skin malignancies. **Frontiers in Pharmacology**, v. 15, 19 set. 2024.

HUANG, J.; FAN, Q.; SHI, L.; SHEN, J.; WANG, H. A novel chlorin derivative Shengtaibufen (STBF) mediated photodynamic therapy combined with iodophor for the treatment of chronic superficial leg wounds infected with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A retrospective clinical study. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 48, p. 104300, ago. 2024.

HUIS IN 'T VELD, R. V.; HEUTS, J.; MA, S.; CRUZ, L. J.; OSSENDORP, F. A.; JAGER, M. J. Current Challenges and Opportunities of Photodynamic Therapy against Cancer. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 2, p. 330, 18 jan. 2023.

HUTCHINGS, M. I.; TRUMAN, A. W.; WILKINSON, B. Antibiotics: past, present and future. **Current Opinion in Microbiology**, v. 51, p. 72–80, out. 2019.

IKUTA, K. S.; SWETSCHINSKI, L. R.; AGUILAR, G. R.; SHARARA, F.; MESTROVIC, T.; GRAY, A. P.; WEAVER, N. D.; WOOL, E. E.; HAN, C.; HAYOON, A. G.; AALI, A.; ABATE, S. M.; ABBASI-KANGEVARI, M.; ABBASI-KANGEVARI, Z.; ABD-ELSALAM, S.; ABEBE, G.; ABEDI, A.; ABHARI, A. P.; ABIDI, H.; ABOAGYE, R. G.; ABSALAN, A.; ALI, H. A.; ACUNA, J. M.; ADANE, T. D.; ADDO, I. Y.; ADEGBOYE, O. A.; ADNAN, M.; ADNANI, Q. E. S.; AFZAL, M. S.; AFZAL, S.; AGHDAM, Z. B.; AHINKORAH, B. O.; AHMAD, A.; AHMAD, A. R.; AHMAD, R.; AHMAD, S.; AHMAD, S.; AHMADI, S.; AHMED, A.; AHMED, H.; AHMED, J. Q.; RASHID, T. A.; AJAMI, M.; AJI, B.; AKBARZADEH-KHIAVI, M.; AKUNNA, C. J.; HAMAD, H. Al; ALAHDAB, F.; AL-ALY, Z.; ALDEYAB, M. A.; ALEMAN, A. V.; ALHALAIQA, F. A. N.; ALHASSAN, R. K.; ALI, B. A.; ALI, L.; ALI, S. S.; ALIMOHAMADI, Y.; ALIPOUR, V.; ALIZADEH, A.; ALJUNID, S. M.; ALLEG, K.; ALMUSTANYIR, S.; AMEYAW, E. K.; AMIT, A. M. L.; ANANDAVELANE, N.; ANCUCLEANU, R.; ANDREI, C. L.; ANDREI, T.; ANGGRAINI, D.; ANSAR, A.; ANYASODOR, A. E.; ARABLOO, J.; ARAVKIN, A. Y.; AREDA, D.; ARIPOV, T.;

ARTAMONOV, A. A.; ARULAPPAN, J.; ARULEBA, R. T.; ASADUZZAMAN, M.; ASHRAF, T.; ATHARI, S. S.; ATLAW, D.; ATTIA, S.; AUSLOOS, M.; AWOKE, T.; QUINTANILLA, B. P. A.; AYANA, T. M.; AZADNAJAFABAD, S.; JAFARI, A. A.; DARSHAN, B.; BADAR, M.; BADIYE, A. D.; BAGHCHEGHI, N.; BAGHERIEH, S.; BAIG, A. A.; BANERJEE, I.; BARAC, A.; BARDHAN, M.; BARONE-ADESI, F.; BARQAWI, H. J.; BARROW, A.; BASKARAN, P.; BASU, S.; BATIHA, A. M. M.; BEDI, N.; BELETE, M. A.; BELGAUMI, U. I.; BENDER, R. G.; BHANDARI, B.; BHANDARI, D.; BHARDWAJ, P.; BHASKAR, S.; BHATTACHARYYA, K.; BHATTARAI, S.; BITARAF, S.; BUONSENKO, D.; BUTT, Z. A.; DOS SANTOS, F. L. C.; CAI, J.; CALINA, D.; CAMARGOS, P.; CÁMERA, L. A.; CÁRDENAS, R.; CEVIK, M.; CHADWICK, J.; CHARAN, J.; CHAURASIA, A.; CHING, P. R.; CHOUDHARI, S. G.; CHOWDHURY, E. K.; CHOWDHURY, F. R.; CHU, D. T.; CHUKWU, I. S.; DADRAS, O.; DAGNAW, F. T.; DAI, X.; DAS, S.; DASTIRIDOU, A.; DEBELA, S. A.; DEMISSE, F. W.; DEMISSIE, S.; DEREJE, D.; DERERE, M.; DESAI, H. D.; DESSALEGN, F. N.; DESSALEGNI, S. A. A.; DESYE, B.; DHADUK, K.; DHIMAL, M.; DHINGRA, S.; DIAO, N.; DIAZ, D.; DJALALINIA, S.; DODANGEH, M.; DONGARWAR, D.; DORA, B. T.; DOROSTKAR, F.; DSOUZA, H. L.; DUBLJANIN, E.; DUNACHIE, S. J.; DUROJAIYE, O. C.; EDINUR, H. A.; EJIGU, H. B.; EKHOLUENETALE, M.; EKUNDAYO, T. C.; EL-ABID, H.; ELHADI, M.; ELMONEM, M. A.; EMAMI, A.; BAIN, L. E.; ENYEW, D. B.; ERKHEMBAYAR, R.; ESHRATI, B.; ETAEE, F.; FAGBAMIGBE, A. F.; FALAHİ, S.; FALLAHZADEH, A.; FARAOON, E. J. A.; FATEHIZADEH, A.; FEKADU, G.; FERNANDES, J. C.; FERRARI, A.; FETENSA, G.; FILIP, I.; FISCHER, F.; FOROUTAN, M.; GAAL, P. A.; GADANYA, M. A.; GAIDHANE, A. M.; GANESAN, B.; GEBREHIWOT, M.; GHANBARI, R.; NOUR, M. G.; GHASHGHAEI, A.; GHOLAMREZANEZHAD, A.; GHOLIZADEH, A.; GOLECHHA, M.; GOLEIJ, P.; GOLINELLI, D.; GOODRIDGE, A.; GUNAWARDANE, D. A.; GUO, Y.; GUPTA, R. Das; GUPTA, S.; GUPTA, V. B.; GUPTA, V. K.; GUTA, A.; HABIBZADEH, P.; AVVAL, A. H.; HALWANI, R.; HANIF, A.; HANNAN, M. A.; HARAPAN, H.; HASSAN, S.; HASSANKHANI, H.; HAYAT, K.; HEIBATI, B.; HEIDARI, G.; HEIDARI, M.; HEIDARI-SOURESHJANI, R.; HERTELIU, C.; HEYI, D. Z.; HEZAM, K.; HOOGAR, P.; HORITA, N.; HOSSAIN, M. M.; HOSSEINZADEH, M.; HOSTIUC, M.; HOSTIUC, S.; HOVEIDAMANESH, S.; HUANG, J.; HUSSAIN, S.; HUSSEIN, N. R.; IBITOYE, S. E.; ILESANMI, O. S.; ILIC, I. M.; ILIC, M. D.; IMAM, M. T.; IMMURANA, M.; INBARAJ, L. R.; IRADUKUNDA,

A.; ISMAIL, N. E.; IWU, C. C. D.; IWU, C. J.; LINDA, M. J.; JAKOVLJEVIC, M.; JAMSHIDI, E.; JAVAHERI, T.; JAVANMARDI, F.; JAVIDNIA, J.; JAYAPAL, S. K.; JAYARAJAH, U.; JEBAI, R.; JHA, R. P.; JOO, T.; JOSEPH, N.; JOUKAR, F.; JOZWIAK, J. J.; KACIMI, S. E. O.; KADASHETTI, V.; KALANKESH, L. R.; KALHOR, R.; KAMAL, V. K.; KANDEL, H.; KAPOOR, N.; KARKHAH, S.; KASSA, B. G.; KASSEBAUM, N. J.; KATOTO, P. D. M. C.; KEYKHAEI, M.; KHAJURIA, H.; KHAN, A.; KHAN, I. A.; KHAN, M.; KHAN, M. N.; KHAN, M. A. B.; KHATATBEH, M. M.; KHATER, M. M.; KASHANI, H. R. K.; KHUBCHANDANI, J.; KIM, H.; KIM, M. S.; KIMOKOTI, R. W.; KISSOON, N.; KOCHHAR, S.; KOMPANI, F.; KOSEN, S.; KOUL, P. A.; LAXMINARAYANA, S. L. K.; LOPEZ, F. K.; KRISHAN, K.; KRISHNAMOORTHY, V.; KULKARNI, V.; KUMAR, N.; KURMI, O. P.; KUTTIKKATTU, A.; KYU, H. H.; LAL, D. K.; LÁM, J.; LANDIRES, I.; LASRADO, S.; LEE, S. W.; LENZI, J.; LEWYCKA, S.; LI, S.; LIM, S. S.; LIU, W.; LODHA, R.; LOFTUS, M. J.; LOHIYA, A.; LORENZOVICI, L.; LOTFI, M.; MAHMOODPOOR, A.; MAHMOUD, M. A.; MAHMOUDI, R.; MAJEED, A.; MAJIDPOOR, J.; MAKKI, A.; MAMO, G. A.; MANLA, Y.; MARTORELL, M.; MATEI, C. N.; MCMANIGAL, B.; NASAB, E. M.; MEHROTRA, R.; MELESE, A.; MENDOZA-CANO, O.; MENEZES, R. G.; MENTIS, A. F. A.; MICHA, G.; MICHALEK, I. M.; DES, A. C. M. G. N.; KOSTOVA, N. M.; MIR, S. A.; MIRGHAFOURVAND, M.; MIRMOEENI, S.; MIRRAKHIMOV, E. M.; MIRZA-AGHAZADEH-ATTARI, M.; MISGANAW, A. S.; MISGANAW, A.; MISRA, S.; MOHAMMADI, E.; MOHAMMADI, M.; MOHAMMADIAN-HAFSHEJANI, A.; MOHAMMED, S.; MOHAN, S.; MOHSENI, M.; MOKDAD, A. H.; MOMTAZMANESH, S.; MONASTA, L.; MOORE, C. E.; MORADI, M.; SARABI, M. M.; MORRISON, S. D.; MOTAGHINEJAD, M.; ISFAHANI, H. M.; KHANEGBAH, A. M.; MOUSAVI-AGHDAS, S. A.; MUBARIK, S.; MULITA, F.; MULU, G. B. B.; MUNRO, S. B.; MUTHUPANDIAN, S.; NAIR, T. S.; NAQVI, A. A.; NARANG, H.; NATTO, Z. S.; NAVeed, M.; NAYAK, B. P.; NAZ, S.; NEGOI, I.; NEJADGHADERI, S. A.; KANDEL, S. N.; NGWA, C. H.; NIAZI, R. K.; DES, A. T. N.; NOROOZI, N.; NOURAEI, H.; NOWROOZI, A.; NUÑEZ-SAMUDIO, V.; NUTOR, J. J.; NZOPUTAM, C. I.; NZOPUTAM, O. J.; OANCEA, B.; OBAIDUR, R. M.; OJHA, V. A.; OKEKUNLE, A. P.; OKONJI, O. C.; OLAGUNJU, A. T.; OLUSANYA, B. O.; BALI, A. O.; OMER, E.; OTSTAVNOV, N.; OUMER, B.; PADUBIDRI, J. R.; PAKSHIR, K.; PALICZ, T.; PANA, A.; PARDHAN, S.; PAREDES, J. L.; PAREKH, U.; PARK, E. C.; PARK, S.; PATHAK, A.; PAUDEL, R.; PAUDEL, U.;

PAWAR, S.; TOROUDI, H. P.; PENG, M.; PENSATO, U.; PEPITO, V. C. F.; PEREIRA, M.; PERES, M. F. P.; PERICO, N.; PETCU, I. R.; PIRACHA, Z. Z.; PODDER, I.; POKHREL, N.; POLURU, R.; POSTMA, M. J.; POURTAHERI, N.; PRASHANT, A.; QATTEA, I.; RABIEE, M.; RABIEE, N.; RADFAR, A.; RAEGHI, S.; RAFIEI, S.; RAGHAV, P. R.; RAHBARNIA, L.; RAHIMI-MOVAGHAR, V.; RAHMAN, M.; RAHMAN, M. A.; RAHMANI, A. M.; RAHMANIAN, V.; RAM, P.; RANJHA, M. M. A. N.; RAO, S. J.; RASHIDI, M. M.; RASUL, A.; RATAN, Z. A.; RAWAF, S.; RAWASSIZADEH, R.; RAZEGHINIA, M. S.; REDWAN, E. M. M.; REGASA, M. T.; REMUZZI, G.; RETA, M. A.; REZAEI, N.; REZAPOUR, A.; RIAD, A.; RIPON, R. K.; RUDD, K. E.; SADDIK, B.; SADEGHIAN, S.; SAEED, U.; SAFAEI, M.; SAFARY, A.; SAFI, S. Z.; SAHEBAZZAMANI, M.; SAHEBKAR, A.; SAHOO, H.; SALAHI, S.; SALAHI, S.; SALARI, H.; SALEHI, S.; KAFIL, H. S.; SAMY, A. M.; SANADGOL, N.; SANKARARAMAN, S.; SANMARCHI, F.; SATHIAN, B.; SAWHNEY, M.; SAYA, G. K.; SENTHILKUMARAN, S.; SEYLANI, A.; SHAH, P. A.; SHAIKH, M. A.; SHAKER, E.; SHAKHMARDANOV, M. Z.; SHAREW, M. M.; SHARIFI-RAZAVI, A.; SHARMA, P.; SHEIKHI, R. A.; SHEIKHY, A.; SHETTY, P. H.; SHIGEMATSU, M.; SHIN, J. II; SHIRZAD-ASKI, H.; SHIVAKUMAR, K. M.; SHOBEIRI, P.; SHOROFI, S. A.; SHRESTHA, S.; SIBHAT, M. M.; SIDEMO, N. B.; SIKDER, M. K.; SILVA, L. M. L. R.; SINGH, J. A.; SINGH, P.; SINGH, S.; SIRAJ, M. S.; SIWAL, S. S.; SKRYABIN, V. Y.; SKRYABINA, A. A.; SOCEA, B.; SOLOMON, D. D.; SONG, Y.; SREERAMAREDDY, C. T.; SULEMAN, M.; ABDULKADER, R. S.; SULTANA, S.; SZÓCSKA, M.; TABATABAEIZADEH, S. A.; TABISH, M.; TAHERI, M.; TAKI, E.; TAN, K. K.; TANDUKAR, S.; TAT, N. Y.; TAT, V. Y.; TEFERA, B. N.; TEFERA, Y. M.; TEMESGEN, G.; TEMSAH, M. H.; THARWAT, S.; THIYAGARAJAN, A.; TLEYJEH, I. I.; TROEGER, C. E.; UMAPATHI, K. K.; UPADHYAY, E.; TAHBAZ, S. V.; VALDEZ, P. R.; VAN DEN EYNDE, J.; VAN DOORN, H. R.; VAZIRI, S.; VERRAS, G. I.; VISWANATHAN, H.; VO, B.; WARIS, A.; WASSIE, G. T.; WICKRAMASINGHE, N. D.; YAGHOUBI, S.; YAHYA, G. A. T. Y.; JABBARI, S. H. Y.; YIGIT, A.; YIGIT, V.; YON, D. K.; YONEMOTO, N.; ZAHIR, M.; ZAMAN, B. A.; ZAMAN, S. Bin; ZANGIABADIAN, M.; ZARE, I.; ZASTROZHIN, M. S.; ZHANG, Z. J.; ZHENG, P.; ZHONG, C.; ZOLADL, M.; ZUMLA, A.; HAY, S. I.; DOLECEK, C.; SARTORIUS, B.; MURRAY, C. J. L.; NAGHAVI, M. Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet*, v. 400, n. 10369, p. 2221–2248, 17 dez. 2022. Disponível em:

<<http://www.thelancet.com/article/S0140673622021857/fulltext>>. Acesso em: 7 jan. 2025.

ILUZ, N.; MAOR, Y.; KELLER, N.; MALIK, Z. The synergistic effect of PDT and oxacillin on clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 50, n. 5, p. 535–551, 1 jul. 2018. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/lsm.22785>>. Acesso em: 7 nov. 2023.

JIANG, W.; LIANG, M.; LEI, Q.; LI, G.; WU, S. The Current Status of Photodynamic Therapy in Cancer Treatment. **Cancers**, v. 15, n. 3, p. 585, 18 jan. 2023.

JOMOVA, K.; ALOMAR, S. Y.; ALWASEL, S. H.; NEPOVIMOVA, E.; KUCA, K.; VALKO, M. Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants. **Archives of Toxicology**, v. 98, n. 5, p. 1323–1367, 14 maio 2024.

KARTIK SHAW; SAHANA MAZUMDER. An Early Year History of Emergence of Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus* in West Bengal: A Review. **International Journal of Life Science and Pharma Research**, 6 jul. 2022.

KAWAKAMI, S.; MORINAGA, M.; TSUKAMOTO-SEN, S.; MORI, S.; MATSUI, Y.; KAWAMA, T. Constituent Characteristics and Functional Properties of Passion Fruit Seed Extract. **Life**, v. 12, n. 1, p. 38, 27 dez. 2021.

KLANG, V.; SCHWARZ, J. C.; MATSKO, N.; REZVANI, E.; EL-HAGIN, N.; WIRTH, M.; VALENTA, C. Semi-solid Sucrose Stearate-Based Emulsions as Dermal Drug Delivery Systems. **Pharmaceutics**, v. 3, n. 2, p. 275, jun. 2011. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3864235/>>. Acesso em: 3 abr. 2025.

KONG, E. F.; JOHNSON, J. K.; JABRA-RIZK, M. A. Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: An Enemy amidst Us. **PLOS Pathogens**, v. 12, n. 10, p. e1005837, 1 out. 2016. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1005837>>. Acesso em: 21 jan. 2025.

KORIEM, K. M. M. Importance of Herba Passiflorae in Medicinal Applications: Review on Experimental and Clinical Pharmacology. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 11, n. 5, p. 12886–12900, 31 jan. 2021.

KOROLEVA, M. Y.; YURTOV, E. V. Nanoemulsions: the properties, methods of preparation and promising applications. **Russian Chemical Reviews**, v. 81, n. 1, p. 21–43, 31 jan. 2012. . Acesso em: 3 abr. 2025.

KORTEKAAS KROHN, I.; AERTS, J. L.; BRECKPOT, K.; GOYVAERTS, C.; KNOL, E.; VAN WIJK, F.; GUTERMUTH, J. T-cell subsets in the skin and their role in inflammatory skin disorders. **Allergy**, v. 77, n. 3, p. 827–842, 1 mar. 2022. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/all.15104>>. Acesso em: 7 abr. 2025.

KUBRAK, T. P.; KOŁODZIEJ, P.; SAWICKI, J.; MAZUR, A.; KOZIOROWSKA, K.; AEBISHER, D. Some Natural Photosensitizers and Their Medicinal Properties for Use in Photodynamic Therapy. **Molecules 2022, Vol. 27, Page 1192**, v. 27, n. 4, p. 1192, 10 fev. 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/27/4/1192/htm>>. Acesso em: 6 abr. 2025.

KUMAR, V.; SHARMA, A. Neutrophils: Cinderella of innate immune system. **International Immunopharmacology**, v. 10, n. 11, p. 1325–1334, nov. 2010.

KURRA, S.; AKHTAR, S.; SHARMA, A. Immune Dysregulation in Skin. **Critical Thinking in Contemporary Dermatology: Cognitive Essays**, p. 147–170, 2024. Disponível em: <[https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-97-0411-8\\_12](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-97-0411-8_12)>. Acesso em: 7 abr. 2025.

KWIATKOWSKI, S.; KNAP, B.; PRZYSTUPSKI, D.; SACZKO, J.; KĘDZIERSKA, E.; KNAP-CZOP, K.; KOTLIŃSKA, J.; MICHEL, O.; KOTOWSKI, K.; KULBACKA, J. Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 106, n. June, p. 1098–1107, 2018.

LAKHUNDI, S.; ZHANG, K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. **Clinical microbiology reviews**, v. 31, n. 4, 1 out. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/>>. Acesso em: 19 jan. 2025.

LEAL, A. E. B. P.; DE OLIVEIRA, A. P.; SANTOS, R. F. dos; SOARES, J. M. D.; LAVOR, E. M. de; PONTES, M. C.; LIMA, J. T. de; SANTOS, A. D. da C.; TOMAZ, J. C.; OLIVEIRA, G. G. de; NETO, F. C.; LOPES, N. P.; ROLIM, L. A.; ALMEIDA, J. R. G. da S. Determination of phenolic compounds, in vitro antioxidant activity and characterization of secondary metabolites in different parts of *Passiflora cincinnata* by

HPLC-DAD-MS/MS analysis. **Natural Product Research**, v. 34, n. 7, p. 995–1001, 2 abr. 2020. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14786419.2018.1548445>>. Acesso em: 20 maio. 2023.

LEE, D. H.; OH, J.-H.; CHUNG, J. H. Glycosaminoglycan and proteoglycan in skin aging. **Journal of Dermatological Science**, v. 83, n. 3, p. 174–181, set. 2016.

LEE, D.; KWON, S.; JANG, S.; PARK, E.; LEE, Y.; KOO, H. Overcoming the obstacles of current photodynamic therapy in tumors using nanoparticles. **Bioactive Materials**, v. 8, p. 20–34, fev. 2022.

LEE, H.; HONG, Y.; KIM, M. Structural and Functional Changes and Possible Molecular Mechanisms in Aged Skin. **International Journal of Molecular Sciences 2021, Vol. 22, Page 12489**, v. 22, n. 22, p. 12489, 19 nov. 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1422-0067/22/22/12489/htm>>. Acesso em: 4 jul. 2023.

LESSA, F. C.; SIEVERT, D. M. Antibiotic Resistance: A Global Problem and the Need to Do More. **Clinical Infectious Diseases**, v. 77, n. Supplement\_1, p. S1–S3, 5 jul. 2023. Disponível em: <<https://dx.doi.org/10.1093/cid/ciad226>>. Acesso em: 8 jan. 2025.

LI, G.; WANG, C.; JIN, B.; SUN, T.; SUN, K.; WANG, S.; FAN, Z. Advances in smart nanotechnology-supported photodynamic therapy for cancer. **Cell Death Discovery**, v. 10, n. 1, p. 466, 11 nov. 2024.

LI, H.; AUWERX, J. Mouse Systems Genetics as a Prelude to Precision Medicine. **Trends in Genetics**, v. 36, n. 4, p. 259–272, abr. 2020.

LI, K.; ZHANG, Y. Y.; JIANG, G. Y.; HOU, Y. J.; ZHANG, B. W.; ZHOU, Q. X.; WANG, X. S. A bivalent cationic dye enabling selective photo-inactivation against Gram-negative bacteria. **Chemical Communications**, v. 51, n. 37, p. 7923–7926, 23 abr. 2015. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2015/cc/c5cc00174a>>. Acesso em: 25 mar. 2025.

LI, R.; YE, J. J.; GAN, L.; ZHANG, M.; SUN, D.; LI, Y.; WANG, T.; CHANG, P. Traumatic inflammatory response: pathophysiological role and clinical value of cytokines. **European Journal of Trauma and Emergency Surgery 2023 50:4**, v. 50, n. 4, p. 1313–1330, 27 dez. 2023a. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00068-023-02388-5>>. Acesso em: 7 abr. 2025.

LI, X.; LI, C.; ZHANG, W.; WANG, Y.; QIAN, P.; HUANG, H. Inflammation and aging: signaling pathways and intervention therapies. **Signal Transduction and Targeted Therapy** 2023 8:1, v. 8, n. 1, p. 1–29, 8 jun. 2023b. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41392-023-01502-8>>. Acesso em: 26 mar. 2025.

LINGER, C.; LANCEL, M.; PORT, M. Evaluation of relative efficiency of PDT photosensitizers in producing hydroxyl radicals and singlet oxygen in aqueous media using a UV-visible spectroscopy pNDA dosage. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 241, p. 112664, 1 abr. 2023. . Acesso em: 25 mar. 2025.

LODHI, R.; J.PATEL, N. Passiflora Alata: Phytopharmacological Review. **AIJR Abstracts**, p. 48, 1 fev. 2023. Disponível em: <<https://books.aijr.org/index.php/press/catalog/book/137/chapter/2018>>. Acesso em: 15 mar. 2025.

LOPES, F. B.; SARANDY, M. M.; NOVAES, R. D.; VALACCHI, G.; GONÇALVES, R. V. OxInflammatory Responses in the Wound Healing Process: A Systematic Review. **Antioxidants**, v. 13, n. 7, p. 823, 1 jul. 2024. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-3921/13/7/823/htm>>. Acesso em: 7 abr. 2025.

LORD, J. M.; BUTCHER, S.; KILLAMPALI, V.; LASCELLES, D.; SALMON, M. Neutrophil ageing and immunesenescence. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 122, n. 14, p. 1521–1535, set. 2001.

LUCERO-PRISNO, D. E.; SHOMUYIWA, D. O.; KOUWENHOVEN, M. B. N.; DORJI, T.; ODEY, G. O.; MIRANDA, A. V.; OGUNKOLA, I. O.; ADEBISI, Y. A.; HUANG, J.; XU, L.; OBNIAL, J. C.; HUDA, A.; THEPANONDH, S.; DAYRIT, M. M.; EVARDONE, S. B.; LAMAWANSA, M. D.; SOLOMON ETHIOPIA, S.; AZIATO, L.; ADONGO, P. B.; SAMAI, M. H.; GARCIA, F. B.; VILLARUZ, J. F.; KARUNATHILAKE, I. M.; LI, H.; AZANZA, P. A.; FINDLAY, I.; WONG, M. C. S. Top 10 public health challenges to track in 2023: Shifting focus beyond a global pandemic. **Public Health Challenges**, v. 2, n. 2, p. e86, 1 jun. 2023. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/phu2.86>>. Acesso em: 8 jan. 2025.

LUKIĆ, M.; PANTELIĆ, I.; SAVIĆ, S. D. Towards Optimal pH of the Skin and Topical Formulations: From the Current State of the Art to Tailored Products. **Cosmetics** 2021, Vol. 8, Page 69, v. 8, n. 3, p. 69, 4 ago. 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2079-9284/8/3/69/htm>>. Acesso em: 25 mar. 2025.

MACKOVA, K.; DA CUNHA, M. G. M. C. M.; KROFTA, L.; ALBERSEN, M.; DEPREST, J. The importance of developing relevant animal models to assess existing and new materials. **Current Opinion in Urology**, v. 29, n. 4, p. 400–406, jul. 2019.

MAHARJAN, P. S.; BHATTARAI, H. K. Singlet Oxygen, Photodynamic Therapy, and Mechanisms of Cancer Cell Death. **Journal of Oncology**, v. 2022, p. 1–20, 25 jun. 2022.

MANCUSO, G.; MIDIRI, A.; GERACE, E.; BIONDO, C. Bacterial antibiotic resistance: the most critical pathogens. **Pathogens**, v. 10, n. 10, p. 1310, 1 out. 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2076-0817/10/10/1310/htm>>. Acesso em: 20 maio. 2023.

MARCOLAN DE MELLO, M.; DE BARROS, P. P.; DE CASSIA BERNARDES, R.; ALVES, S. R.; RAMANZINI, N. P.; FIGUEIREDO-GODOI, L. M. A.; PRADO, A. C. C.; JORGE, A. O. C.; JUNQUEIRA, J. C. Antimicrobial photodynamic therapy against clinical isolates of carbapenem-susceptible and carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Lasers in Medical Science**, 2019.

MARIO VENDITTI; MARCO FALCONE; ALESSANDRA MICOZZI; PAOLO CARFAGNA; FABRIZIO TAGLIETTI; PIETRO F SERRA; PIETRO MARTINO. *Staphylococcus aureus*bacteremia in patients with hematologic malignancies:a retrospective case-control study. **Infectious Disorders**, v. 88, p. 923–230, 2003.

MARTINEZ DE PINILLOS BAYONA, A.; MROZ, P.; THUNSHELLE, C.; HAMBLIN, M. R. Design features for optimization of tetrapyrrole macrocycles as antimicrobial and anticancer photosensitizers. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 89, n. 2, p. 192–206, 15 fev. 2017.

MATAR, D. Y.; NG, B.; DARWISH, O.; WU, M.; ORGILL, D. P.; PANAYI, A. C. Skin Inflammation with a Focus on Wound Healing. **<https://home.liebertpub.com/wound>**, v. 12, n. 5, p. 269–287, 21 fev. 2023. Disponível em: <<https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/wound.2021.0126>>. Acesso em: 7 abr. 2025.

MAWAZI, S. M.; ANN, J.; OTHMAN, N.; KHAN, J.; ALOLAYAN, S. O.; AL THAGFAN, S. S.; KALEEMULLAH, M. A Review of Moisturizers; History, Preparation, Characterization and Applications. **Cosmetics**, v. 9, n. 3, p. 61, 9 jun. 2022.

MCGRATH, J. A.; UITTO, J. Structure and Function of the Skin. *Em: Rook's Textbook of Dermatology*. [s.l.] Wiley, 2024. p. 1–50.

MEEROVICH, G. A.; AKHLYUSTINA, E. V.; TIGANOVA, I. G.; LUKYANETS, E. A.; MAKAROVA, E. A.; TOLORDAVA, E. R.; YUZHAKOVA, O. A.; ROMANISHKIN, I. D.; PHILIPPOVA, N. I.; ZHIZHIMOVA, Yu. S.; ROMANOVA, Yu. M.; LOSCHENOV, V. B.; GINTSBURG, A. L. Novel Polycationic Photosensitizers for Antibacterial Photodynamic Therapy. 2019. Disponível em: <[http://link.springer.com/10.1007/5584\\_2019\\_431](http://link.springer.com/10.1007/5584_2019_431)>.

MENEGUIN, S.; TORRES, E. A.; POLLO, C. F. Fatores associados à infecção por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina em unidade de terapia intensiva. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 73, n. 6, p. e20190483, 7 set. 2020. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/reben/a/MZsTdS38CpT3CCqbQRCLVdP/?lang=pt>>. Acesso em: 9 jan. 2025.

MI, L.; GAO, J.; LIU, Y.; ZHANG, N.; ZHAO, M.; WANG, S.; XU, K. Photodynamic therapy for arthritis: A promising therapeutic strategy. **Rheumatology & Autoimmunity**, v. 3, n. 4, p. 205–219, 26 dez. 2023.

MICHALAK, M.; MAZURKIEWICZ, S.; SZYMCZYK, J.; ZIENTAL, D.; SOBOTTA, Ł. Photodynamic therapy applications – review. **Journal of Medical Science**, 7 ago. 2023.

MINCIULLO, P. L.; CATALANO, A.; MANDRAFFINO, G.; CASCIARO, M.; CRUCITTI, A.; MALTESE, G.; MORABITO, N.; LASCO, A.; GANGEMI, S.; BASILE, G. Inflammaging and Anti-Inflammaging: The Role of Cytokines in Extreme Longevity. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, v. 64, n. 2, p. 111–126, 12 abr. 2016.

MIRZA, F. N.; KHATRI, K. A. The use of lasers in the treatment of skin cancer: A review. **Journal of Cosmetic and Laser Therapy**, v. 19, n. 8, p. 451–458, 17 nov. 2017.

MONTEIRO-RIVIERE, N. A. Structure and Function of Skin. *Em: Toxicology of the Skin*. [s.l.] CRC Press, 2010. p. 15–32.

MONTGOMERY, C. P.; DAVID, M. Z.; DAUM, R. S. Host factors that contribute to recurrent staphylococcal skin infection. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 28, n. 3, p. 253–258, jun. 2015.

MUNIZ, I. P. R.; GALANTINI, M. P. L.; RIBEIRO, I. S.; GONÇALVES, C. V.; DOS SANTOS, D. P.; MOURA, T. C.; SILVA, E. S.; SILVA, N. R.; CIPRIANO, B. P.; CORREIA, T. M. L.; DE JESUS SOARES, T.; DE FREITAS, L. M.; COSTA, D. J.; DA SILVA, R. A. A. Antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) with curcumin controls intradermal infection by *Staphylococcus aureus* in mice with type 1 diabetes mellitus: a pilot study. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 224, p. 112325, 1 nov. 2021.. Acesso em: 20 maio. 2023.

MURAGE, M. W.; AMUHAYA, E. K.; MBATIA, B. N.; MUGE, E. K.; DERESE, S. Drug delivery strategies for porphyrin-based photosensitizers in photodynamic antimicrobial chemotherapy. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, v. 28, n. 07, p. 391–417, 3 jul. 2024. Disponível em: <<https://www.worldscientific.com/doi/10.1142/S1088424624300040>>.

MURRAY, C. J.; IKUTA, K. S.; SHARARA, F.; SWETSCHINSKI, L.; ROBLES AGUILAR, G.; GRAY, A.; HAN, C.; BISIGNANO, C.; RAO, P.; WOOL, E.; JOHNSON, S. C.; BROWNE, A. J.; CHIPETA, M. G.; FELL, F.; HACKETT, S.; HAINES-WOODHOUSE, G.; KASHEF HAMADANI, B. H.; KUMARAN, E. A. P.; MCMANIGAL, B.; AGARWAL, R.; AKECH, S.; ALBERTSON, S.; AMUASI, J.; ANDREWS, J.; ARAVKIN, A.; ASHLEY, E.; BAILEY, F.; BAKER, S.; BASNYAT, B.; BEKKER, A.; BENDER, R.; BETHOU, A.; BIELICKI, J.; BOONKASIDECHA, S.; BUKOSIA, J.; CARVALHEIRO, C.; CASTAÑEDA-ORJUELA, C.; CHANSAMOUTH, V.; CHAURASIA, S.; CHIURCHIÙ, S.; CHOWDHURY, F.; COOK, A. J.; COOPER, B.; CRESSEY, T. R.; CRIOLLO-MORA, E.; CUNNINGHAM, M.; DARBOE, S.; DAY, N. P. J.; DE LUCA, M.; DOKOVA, K.; DRAMOWSKI, A.; DUNACHIE, S. J.; ECKMANNS, T.; EIBACH, D.; EMAMI, A.; FEASEY, N.; FISHER-PEARSON, N.; FORREST, K.; GARRETT, D.; GASTMEIER, P.; GIREF, A. Z.; GREER, R. C.; GUPTA, V.; HALLER, S.; HASELBECK, A.; HAY, S. I.; HOLM, M.; HOPKINS, S.; IREGBU, K. C.; JACOBS, J.; JAROVSKY, D.; JAVANMARDI, F.; KHORANA, M.; KISSOON, N.; KOBESSI, E.; KOSTYANEV, T.; KRAPP, F.; KRUMKAMP, R.; KUMAR, A.; KYU, H. H.; LIM, C.; LIMMATHUROTSAKUL, D.; LOFTUS, M. J.; LUNN, M.; MA, J.; MTURI, N.; MUNERA-HUERTAS, T.; MUSICHA, P.; MUSSI-PINHATA, M. M.; NAKAMURA, T.; NANAVATI, R.; NANGIA, S.; NEWTON, P.; NGOUN, C.; NOVOTNEY, A.; NWAKANMA, D.; OBIERO, C. W.; OLIVAS-MARTINEZ, A.; OLLIARO, P.; OOKO, E.; ORTIZ-BRIZUELA, E.; PELEG, A. Y.; PERRONE, C.;

PLAKKAL, N.; PONCE-DE-LEON, A.; RAAD, M.; RAMDIN, T.; RIDDELL, A.; ROBERTS, T.; ROBOTHAM, J. V.; ROCA, A.; RUDD, K. E.; RUSSELL, N.; SCHNALL, J.; SCOTT, J. A. G.; SHIVAMALLAPPA, M.; SIFUENTES-OSORNIO, J.; STEENKESTE, N.; STEWARDSON, A. J.; STOEVA, T.; TASAK, N.; THAIPRAKONG, A.; THWAITES, G.; TURNER, C.; TURNER, P.; VAN DOORN, H. R.; VELAPHI, S.; VONGPRADITH, A.; VU, H.; WALSH, T.; WANER, S.; WANGRANGSIMAKUL, T.; WOZNIAK, T.; ZHENG, P.; SARTORIUS, B.; LOPEZ, A. D.; STERGACHIS, A.; MOORE, C.; DOLECEK, C.; NAGHAVI, M. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **The Lancet**, v. 399, n. 10325, p. 629–655, 12 fev. 2022. Disponível em: <<http://www.thelancet.com/article/S0140673621027240/fulltext>>. Acesso em: 7 jan. 2025.

NANDHINI, P.; KUMAR, P.; MICKYMARAY, S.; ALOTHAIM, A. S.; SOMASUNDARAM, J.; RAJAN, M. Recent Developments in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Treatment: A Review. **Antibiotics 2022, Vol. 11, Page 606**, v. 11, n. 5, p. 606, 29 abr. 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2079-6382/11/5/606/htm>>. Acesso em: 20 maio. 2023.

NARASIMHAN, H.; RICHTER, M. L.; SHAKIBA, R.; PAPAIOANNOU, N. E.; STEHLE, C.; RAVI RENGARAJAN, K.; ULMERT, I.; KENDIRLI, A.; DE LA ROSA, C.; KUO, P. Y.; ALTMAN, A.; MÜNCH, P.; MAHBOUBI, S.; KÜNTZEL, V.; SAYED, A.; STANGE, E. L.; PES, J.; ULEZKO ANTONOVA, A.; PEREIRA, C. F.; KLEIN, L.; DUDZIAK, D.; COLONNA, M.; TOROW, N.; HORNEF, M. W.; CLAUSEN, B. E.; KERSCHENSTEINER, M.; LAHL, K.; ROMAGNANI, C.; COLOMÉ-TATCHÉ, M.; SCHRAML, B. U. ROR $\gamma$ t-expressing dendritic cells are functionally versatile and evolutionarily conserved antigen-presenting cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 122, n. 9, p. e2417308122, 4 mar. 2025. Disponível em: <<https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.2417308122>>. Acesso em: 7 abr. 2025.

NARDINI, E. F.; ALMEIDA, T. S.; YOSHIMURA, T. M.; RIBEIRO, M. S.; CARDOSO, R. J.; GARCEZ, A. S. The potential of commercially available phytotherapeutic compounds as new photosensitizers for dental antimicrobial PDT: A photochemical and photobiological in vitro study. **Photodiagnosis and Photodynamic**

**Therapy**, v. 27, n. June, p. 248–254, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2019.05.027>>.

NASCIMENTO, R. de P. do; REGUENGO, L. M.; MACHADO, A. P. da F.; MAROSTICA JUNIOR, M. R. The preventive and therapeutic potential of native Brazilian fruits on colorectal cancer. **Food Bioscience**, v. 46, p. 101539, abr. 2022.

NAZRIN, S.; RAHMAN, R.; GOSWAMI, A.; SREE, A.; CHAKRABORTY, P.; SHUNMUGAPERUMAL, T. Macroemulsions and Microparticles: Uncovered Mechanistic Insight and Non-conventional Application Potential. **Current Research & Information on Pharmaceutical Sciences**, v. 17, n. 4, 2023. . Acesso em: 3 abr. 2025.

NELLI, F.; SIGNORELLI, C.; RUGGERI, E.; MAZZOCOLI, L.; LIU, B. Dendritic Cells in Shaping Anti-Tumor T Cell Response. **Cancers 2024, Vol. 16, Page 2211**, v. 16, n. 12, p. 2211, 13 jun. 2024. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2072-6694/16/12/2211/htm>>. Acesso em: 7 abr. 2025.

NELOSKA, L.; DAMEVSKA, K.; NIKOLCHEV, A.; PAVLESKA, L.; PETRESKA-ZOVIC, B.; KOSTOV, M. The Association between Malnutrition and Pressure Ulcers in Elderly in Long-Term Care Facility. **Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences**, v. 4, n. 3, p. 423, 9 set. 2016. Disponível em: <[pmc/articles/PMC5042627/](https://PMC5042627/)>. Acesso em: 4 jul. 2023.

NICKERSON, E. K.; HONGSUWAN, M.; LIMMATHUROTSAKUL, D.; WUTHIEKANUN, V.; SHAH, K. R.; SRISOMANG, P.; MAHAVANAKUL, W.; WACHARAPRECHASGUL, T.; FOWLER, V. G.; WEST, T. E.; TEERAWATANASUK, N.; BECHER, H.; WHITE, N. J.; CHIERAKUL, W.; DAY, N. P.; PEACOCK, S. J. Staphylococcus aureus Bacteraemia in a Tropical Setting: Patient Outcome and Impact of Antibiotic Resistance. **PLOS ONE**, v. 4, n. 1, p. e4308, 30 jan. 2009. Disponível em: <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0004308>>. Acesso em: 9 jan. 2025.

NICULESCU, A.-G.; GRUMEZESCU, A. M. Photodynamic Therapy—An Up-to-Date Review. **Applied Sciences**, v. 11, n. 8, p. 3626, 17 abr. 2021.

NING, X.; HE, G.; ZENG, W.; XIA, Y. The photosensitizer-based therapies enhance the repairing of skin wounds. **Frontiers in Medicine**, v. 9, p. 915548, 11 ago. 2022. . Acesso em: 7 abr. 2025.

NYMAN, E. S.; HYNNINEN, P. H. Research advances in the use of tetrapyrrolic photosensitizers for photodynamic therapy. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 73, n. 1–2, p. 1–28, jan. 2004.

OH, S.-J.; LEE, J. K.; SHIN, O. S. Aging and the Immune System: the Impact of Immunosenescence on Viral Infection, Immunity and Vaccine Immunogenicity. **Immune Network**, v. 19, n. 6, 2019.

OLIVEIRA, D.; BORGES, A.; SIMÕES, M. Staphylococcus aureus Toxins and Their Molecular Activity in Infectious Diseases. **Toxins 2018, Vol. 10, Page 252**, v. 10, n. 6, p. 252, 19 jun. 2018. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2072-6651/10/6/252/htm>>. Acesso em: 19 jan. 2025.

OPEL, D. R.; HAGSTROM, E.; PACE, A. K.; SISTO, K.; HIRANO-ALI, S. A.; DESAI, S.; SWAN, J. Light-emitting Diodes: A Brief Review and Clinical Experience. **The Journal of clinical and aesthetic dermatology**, v. 8, n. 6, p. 36–44, 1 jun. 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26155326/>>. Acesso em: 15 mar. 2025.

OTTO, M. Staphylococcal infections: mechanisms of biofilm maturation and detachment as critical determinants of pathogenicity. **Annual review of medicine**, v. 64, p. 175–188, 14 jan. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22906361/>>. Acesso em: 21 jan. 2025.

PAPA, V.; LI POMI, F.; BORGIA, F.; VACCARO, M.; PIOGGIA, G.; GANGEMI, S. Immunosenescence and Skin: A State of Art of Its Etiopathogenetic Role and Crucial Watershed for Systemic Implications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 9, p. 7956, 27 abr. 2023.

PEREIRA LEAL, A. E. B.; DE LAVOR, É. M.; DE MENEZES BARBOSA, J.; DE MOURA FONTES ARAÚJO, M. T.; DOS SANTOS CERQUEIRA ALVES, C.; DE OLIVEIRA JÚNIOR, R. G.; DE LIMA, Á. A. N.; DA SILVA ALMEIDA, J. R. G. Pharmacological Activities of the Genus Passiflora (Passifloraceae): A Patent Review. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 22, n. 28, p. 2315–2328, 20 ago. 2022. . Acesso em: 23 maio. 2023.

PILKINGTON, S. M.; BULFONE-PAUS, S.; GRIFFITHS, C. E. M.; WATSON, R. E. B. Inflammaging and the Skin. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 141, n. 4, p. 1087–1095, abr. 2021.

PORTELA, I.; JAIN, S.; SEVERINO, P.; PRIEFER, R. Micro- and Nano-Based Transdermal Delivery Systems of Photosensitizing Drugs for the Treatment of Cutaneous Malignancies. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 8, p. 772, 6 ago. 2021.

PRZYGODA, M.; BARTUSIK-AEBISHER, D.; DYNAROWICZ, K.; CIEŚLAR, G.; KAWCZYK-KRUPKA, A.; AEBISHER, D. Cellular Mechanisms of Singlet Oxygen in Photodynamic Therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 23, p. 16890, 29 nov. 2023.

RASHEED, N. A.; HUSSEIN, N. R. **Staphylococcus aureus: An Overview of Discovery, Characteristics, Epidemiology, Virulence Factors and Antimicrobial Sensitivity** Short Title: Methicillin Resistant Staphylococcus aureus: An overview European Journal of Molecular & Clinical Medicine. [s.l.: s.n.].

REGUENGO, L. M.; NASCIMENTO, R. de P. do; MACHADO, A. P. da F.; MAROSTICA JUNIOR, M. R. Signaling pathways and the potential anticarcinogenic effect of native Brazilian fruits on breast cancer. **Food Research International**, v. 155, p. 111117, maio 2022.

REOLON, J. B.; HAMMERSCHMITT, B. K.; SARI, M. H. M.; LAZO, R. E. L.; DE FÁTIMA COBRE, A.; CAPELETTI, M. B.; RIGO, M.; BONINI, J. S.; DA ROSA ABAIDE, A.; PONTAROLO, R.; FERREIRA, L. M. Predictive Modeling of Rheological Behavior in Semisolid Pharmaceutical Formulations Using Computational Tools. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 67, p. e24240050, 28 out. 2024. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/babt/a/WfJfZgK4Gck9rfTfFNsSpMj/>>. Acesso em: 25 mar. 2025.

RIBEIRO, I. S.; MUNIZ, I. P. R.; GALANTINI, M. P. L.; GONÇALVES, C. V.; LIMA, P. H. B.; SILVA, E. S.; SILVA, N. R.; ROSA, F. C. S.; ROSA, L. P.; COSTA, D. J.; AMARAL, J. G.; DA SILVA, R. A. A. Characterization of Brazilian green propolis as a photosensitizer for LED light-induced antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA). **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 22, n. 12, p. 2877–2890, 3 dez. 2023.

RIBEIRO, I. S.; MUNIZ, I. P. R.; GALANTINI, M. P. L.; GONÇALVES, C. V.; LIMA, P. H. B.; SILVA, N. R.; DE OLIVEIRA, S. L.; NUNES, M. S.; NOVAES, A. K. S.; DE OLIVEIRA, M. E. S.; COSTA, D. J.; AMARAL, J. G.; DA SILVA, R. A. A. Antimicrobial photodynamic therapy with Brazilian green propolis controls intradermal

infection induced by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and modulates the inflammatory response in a murine model. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 23, n. 3, p. 561–573, 19 mar. 2024.

RICARDO, G. A.; SILVANA, V. F. G.; MARIA, C. dos S. L.; CLÁUDIA, do Ó. P.; LUCIANA, N. A.; PATRÍCIA, S.; GERALDO, C. B.; LARISSA, M. B.; MILENA, B. P. S.; DANIEL, P. B.; JORGE, M. D.; ADRIANA, A. C. Cytotoxic potential of 14 Passiflora species against cancer cells. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 13, n. 7, p. 157–166, 10 abr. 2019.

ROBERTSON, C. A.; EVANS, D. H.; ABRAHAMSE, H. Photodynamic therapy (PDT): A short review on cellular mechanisms and cancer research applications for PDT. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 96, n. 1, p. 1–8, jul. 2009.

ROMERO, L. C.; DE SOUZA DA CUNHA, M. de L. R. Insights into the epidemiology of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in special populations and at the community-healthcare interface. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 25, n. 6, 1 nov. 2021. Disponível em: <<https://www.bjid.org.br/en-insights-into-epidemiology-community-associated-methicillin-resistant-articulo-S1413867021001057>>. Acesso em: 9 jan. 2025.

RUSSELL-GOLDMAN, E.; MURPHY, G. F. The Pathobiology of Skin Aging. **The American Journal of Pathology**, v. 190, n. 7, p. 1356–1369, jul. 2020.

RYDELL-TÖRMÄNEN, K.; JOHNSON, J. R. The Applicability of Mouse Models to the Study of Human Disease. *Em:* [s.l: s.n.]p. 3–22.

S GUIMARÃES, C.; M LIMA, P.; CLARA B SOUSA, M.; C ARAÚJO, C.; R S CARMO, V.; G BORGES, L.; SILVA, D. B.; F LEITE, M.; A B DAMASCENO, G.; AMARAL, J. G. Eco-friendly Pro-age Cosmetic Using Green Extraction of *Passiflora cincinnata*. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, 17 mar. 2025. Disponível em: <[doi/10.1021/acssuschemeng.4c08320](https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.4c08320)>. Acesso em: 5 maio. 2025.

SAHOO, C. K.; RAO, S. R. M.; SUDHAKAR, M.; HEMA. Challenges of Micro-Emulsion as a Novel Carrier for Drug Delivery. **Research Journal of Pharmaceutical Dosage Forms and Technology**, v. 11, n. 3, p. 227–234, 30 set. 2019. Disponível em: <<https://rjpdft.com/AbstractView.aspx?PID=2019-11-3-14>>. Acesso em: 26 mar. 2025.

SALEEM ALSHAMMARI, M.; ALDAKHIL, A. J.; ALOMAIR, R. M.; ALMUTAIRI, M. T.; ALMANNA, M. A.; ALSHAMMRI, F. M.; ALSHAMMARI, M.

S.; ALHARBI, S. A.; ALMUBARAK, A. A.; OBID, K.; ALRUKI, A. Epidemiology, Pathogenesis, and Management of *Staphylococcus aureus* Infections: Insights and Advances in Resistance Mechanisms. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.25163/angiotherapy.1110060>>. Acesso em: 9 jan. 2025.

SALEHI, N.; MORTAZAVI, S. M.; MOGHIMI, H. Investigating the Changes in Cream Properties Following Topical Application and Their Influence on the Product Efficiency. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research : IJPR**, v. 21, n. 1, p. e123946, 1 jan. 2022. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10024334/>>. Acesso em: 25 mar. 2025.

SANTOS, E. A.; SOUZA, M. M.; ABREU, P. P.; DA CONCEIÇÃO, L. D. H. C. S.; ARAÚJO, I. S.; VIANA, A. P.; DE ALMEIDA, A.-A. F.; FREITAS, J. C. de O. Confirmation and characterization of interspecific hybrids of *Passiflora* L. (Passifloraceae) for ornamental use. **Euphytica**, v. 184, n. 3, p. 389–399, 31 abr. 2012.

SAWANT, A.; KAMATH, S.; KG, H.; KULYADI, G. P. Solid-in-Oil-in-Water Emulsion: An Innovative Paradigm to Improve Drug Stability and Biological Activity. **AAPS PharmSciTech 2021 22:5**, v. 22, n. 5, p. 1–14, 1 jul. 2021. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1208/s12249-021-02074-y>>. Acesso em: 3 abr. 2025.

SCAIANO, J. C. A beginners guide to understanding the mechanisms of photochemical reactions: things you should know if light is one of your reagents. **Chemical Society Reviews**, v. 52, n. 18, p. 6330–6343, 18 set. 2023. Disponível em: <<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2023/cs/d3cs00453h>>. Acesso em: 7 abr. 2025.

SELVARAJAN, R.; OBIZE, C.; SIBANDA, T.; ABIA, A. L. K.; LONG, H. Evolution and Emergence of Antibiotic Resistance in Given Ecosystems: Possible Strategies for Addressing the Challenge of Antibiotic Resistance. **Antibiotics**, v. 12, n. 1, p. 28, 24 dez. 2022.

SHAFIKHANI, H.; BAE, T.; JUSUF, S.; DONG, P.-T. Chromophore-Targeting Precision Antimicrobial Phototherapy. **Cells 2023, Vol. 12, Page 2664**, v. 12, n. 22, p. 2664, 20 nov. 2023. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2073-4409/12/22/2664/htm>>. Acesso em: 6 abr. 2025.

SHAW, A. C.; GOLDSTEIN, D. R.; MONTGOMERY, R. R. Age-dependent dysregulation of innate immunity. **Nature Reviews Immunology** 2013; 13(12), v. 13, n. 12, p. 875–887, 25 out. 2013. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nri3547>>. Acesso em: 24 maio. 2023.

SHIVE, C.; PANDIYAN, P. Inflammation, Immune Senescence, and Dysregulated Immune Regulation in the Elderly. **Frontiers in Aging**, v. 3, 27 abr. 2022. Disponível em: <[/pmc/articles/PMC9261323/](https://PMC9261323/)>. Acesso em: 24 maio. 2023.

SHOAIB, M.; AQIB, A. I.; MUZAMMIL, I.; MAJEEED, N.; BHUTTA, Z. A.; KULYAR, M. F. e A.; FATIMA, M.; ZAHEER, C. N. F.; MUNNEER, A.; MURTAZA, M.; KASHIF, M.; SHAFQAT, F.; PU, W. MRSA compendium of epidemiology, transmission, pathophysiology, treatment, and prevention within one health framework. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 1067284, 10 jan. 2023. . Acesso em: 21 jan. 2025.

SIEBRA, A. L. A.; OLIVEIRA, L. R.; MARTINS, A. O. B. P. B.; SIEBRA, D. C.; ALBUQUERQUE, R. S.; LEMOS, I. C. S.; DELMONDES, G. A.; TINTINO, S. R.; FIGUEREDO, F. G.; DA COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M.; MENEZES, I. R. A.; FELIPE, C. F. B.; KERNTOPF, M. R. Potentiation of antibiotic activity by Passiflora cincinnata Mast. front of strains *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 1, p. 37–43, 1 jan. 2018. . Acesso em: 24 maio. 2023.

SIEBRA, A. L. de A.; LEMOS, I. C. S.; DELMONDES, G. de A.; OLIVEIRA, L. R. de; MARTINS, A. O. B. P. B.; SIEBRA, D. de C.; COUTINHO, H. D. M.; ALBUQUERQUE, R. S.; LEITE, N. F.; COSTA, J. G. M. da; MENEZES, I. R. A. de; KERNTOPF, M. R. Antimicrobial activity and phytochemical characterization of hydroalcoholic extracts of Passiflora cincinnata Mast. (maracujá-do-mato). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 19, n. 4, p. 319–328, 29 dez. 2014. Disponível em: <<http://scielo.sld.cu>>. Acesso em: 23 maio. 2023.

SILVA, J. B. M.; SOUZA, M. I. de; VENDRUSCOLO, E. P.; SILVA, R. S. da; NASCIMENTO, M. P. do; SILVA, A. J. da; OLIVEIRA, M. F. de S.; MELO, J. G. T.; ARAÚJO, G. S.; SILVA, J. A. T. da. POTENCIAL ECONÔMICO E SOCIAL DO MARACUJA-DA-CAATINGA (PASSIFLORA CINCINNATA). *Em:* **Fruticultura: desafios e inovações**. [s.l.] Editora Científica Digital, 2024. p. 67–76.

SIMÕES, A.; VEIGA, F.; VITORINO, C. Developing Cream Formulations: Renewed Interest in an Old Problem. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 108, n. 10,

p. 3240–3251, 1 out. 2019. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/333810454\\_Developing\\_Cream\\_Formulations\\_Renewed\\_Interest\\_in\\_an\\_Old\\_Problem](https://www.researchgate.net/publication/333810454_Developing_Cream_Formulations_Renewed_Interest_in_an_Old_Problem)>. Acesso em: 25 mar. 2025.

SOUTO, E. B.; CANO, A.; MARTINS-GOMES, C.; COUTINHO, T. E.; ZIELIŃSKA, A.; SILVA, A. M. Microemulsions and Nanoemulsions in Skin Drug Delivery. **Bioengineering**, v. 9, n. 4, p. 158, 1 abr. 2022. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9028917/>>. Acesso em: 15 maio. 2025.

SOUZA, R. K. D.; SILVA, M. A. P. da; MENEZES, I. R. A. de; RIBEIRO, D. A.; BEZERRA, L. R.; SOUZA, M. M. de A. Ethnopharmacology of medicinal plants of carrasco, northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 157, p. 99–104, nov. 2014.

STAPLETON, P. D.; TAYLOR, P. W. Methicillin Resistance in *Staphylococcus Aureus*: Mechanisms and Modulation. **Science Progress**, v. 85, n. 1, p. 57–72, 1 fev. 2002.

SUDASINGHE, H. P.; PEIRIS, D. C. Hypoglycemic and hypolipidemic activity of aqueous leaf extract of *Passiflora suberosa* L. **PeerJ**, v. 2018, n. 2, p. e4389, 20 fev. 2018. Disponível em: <<https://peerj.com/articles/4389>>. Acesso em: 15 mar. 2025.

SUK JEONG, M.; KIM, S.-R.; WOO HAN, C.; JIN KIM, H.; BOK JANG, S. New Functional Properties of Passion Fruit Extract on Skin. **Journal of Life Science**, v. 32, n. 2, p. 101–107, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.5352/JLS.2022.32.2.101>>. Acesso em: 15 mar. 2025.

SULAIMAN, C.; GEORGE, B. P.; BALACHANDRAN, I.; ABRAHAMSE, H. Photoactive Herbal Compounds: A Green Approach to Photodynamic Therapy. **Molecules 2022, Vol. 27, Page 5084**, v. 27, n. 16, p. 5084, 10 ago. 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/27/16/5084/htm>>. Acesso em: 6 abr. 2025.

SWANEY, M. H.; KALAN, L. R. Living in your skin: Microbes, molecules, and mechanisms. **Infection and Immunity**, v. 89, n. 4, 1 abr. 2021. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/iai.00695-20>>. Acesso em: 7 abr. 2025.

TAKAO, K.; MIYAKAWA, T. Genomic responses in mouse models greatly mimic human inflammatory diseases. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, n. 4, p. 1167–1172, 27 jan. 2015.

TAL, Y.; ANAVI, S.; REISMAN, M.; SAMACH, A.; TIROSH, O.; TROEN, A. M. The neuroprotective properties of a novel variety of passion fruit. **Journal of Functional Foods**, v. 23, p. 359–369, maio 2016.

TARTARO, G.; MATEOS, H.; SCHIRONE, D.; ANGELICO, R.; PALAZZO, G. Microemulsion Microstructure(s): A Tutorial Review. **Nanomaterials 2020, Vol. 10, Page 1657**, v. 10, n. 9, p. 1657, 24 ago. 2020. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2079-4991/10/9/1657/htm>>. Acesso em: 3 abr. 2025.

THAKUR, R.; SHARMA, A.; VERMA, P.; DEVI, A. A Review on Pharmaceutical Emulsion. **Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development**, v. 11, n. 3, p. 168–172, 30 jun. 2023.

THEODORAKIS, N.; FERETZAKIS, G.; HITAS, C.; KREOUZI, M.; KALANTZI, S.; SPYRIDAKI, A.; KOLLIA, Z.; VERYKIOS, V. S.; NIKOLAOU, M. Immunosenescence: How Aging Increases Susceptibility to Bacterial Infections and Virulence Factors. **Microorganisms**, v. 12, n. 10, p. 2052, 11 out. 2024.

TOMASZ, A. The Mechanism of the Irreversible Antimicrobial Effects of Penicillins: How the Beta-Lactam Antibiotics Kill and Lyse Bacteria. **Annual Review of Microbiology**, v. 33, n. 1, p. 113–137, out. 1979.

TONG, S. Y. C.; DAVIS, J. S.; EICHENBERGER, E.; HOLLAND, T. L.; FOWLER, V. G. Staphylococcus aureus infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 28, n. 3, p. 603–661, 2015. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/cmr.00134-14>>. Acesso em: 15 jan. 2025.

TORABI, S.; JOHARCHI, K.; KALHORI, K. A. M.; SOHRABI, M.; FEKRAZAD, R. Evaluation of antimicrobial photodynamic therapy on wounds infected by Staphylococcus aureus in animal models. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 33, p. 102092, 1 mar. 2021.. Acesso em: 7 abr. 2025.

TSENG, C. W.; KYME, P. A.; ARRUDA, A.; RAMANUJAN, V. K.; TAWACKOLI, W.; LIU, G. Y. Innate Immune Dysfunctions in Aged Mice Facilitate the Systemic Dissemination of Methicillin-Resistant S. aureus. **PLoS ONE**, v. 7, n. 7, p. 41454, 26 jul. 2012. Disponível em: <[pmc/articles/PMC3406035/](https://pmc/articles/PMC3406035/)>. Acesso em: 20 maio. 2023.

TURNER, N. A.; SHARMA-KUINKEL, B. K.; MASKARINEC, S. A.; EICHENBERGER, E. M.; SHAH, P. P.; CARUGATI, M.; HOLLAND, T. L.; FOWLER, V. G. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. **Nature Reviews Microbiology** 2019 17:4, v. 17, n. 4, p. 203–218, 8 fev. 2019. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41579-018-0147-4>>. Acesso em: 20 maio. 2023.

UDDIN, T. M.; CHAKRABORTY, A. J.; KHUSRO, A.; ZIDAN, B. R. M.; MITRA, S.; EMRAN, T. Bin; DHAMA, K.; RIPON, M. K. H.; GAJDÁCS, M.; SAHIBZADA, M. U. K.; HOSSAIN, M. J.; KOIRALA, N. Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. **Journal of Infection and Public Health**, v. 14, n. 12, p. 1750–1766, 1 dez. 2021. . Acesso em: 20 maio. 2023.

VAN AVONDTE, K.; STRECKER, J.; TULOTTA, C.; MINNERUP, J.; SCHULZ, C.; SOEHNLEIN, O. Neutrophils in aging and aging-related pathologies. **Immunological Reviews**, v. 314, n. 1, p. 357–375, 31 mar. 2023.

VARGAS, A. J.; GEREMIAS, D. S.; PROVENSI, G.; FORNARI, P. E.; REGINATTO, F. H.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P.; FRÖDE, T. S. Passiflora alata and Passiflora edulis spray-dried aqueous extracts inhibit inflammation in mouse model of pleurisy. **Fitoterapia**, v. 78, n. 2, p. 112–119, 1 fev. 2007. . Acesso em: 24 maio. 2023.

VARZAKAS, T.; CRUZEIRO REIS, C.; PEREIRA FREITAS, S.; MARGOT ALBANEZ LORENTINO, C.; DA SILVA FERREIRA FAGUNDES, T.; MARTINS DA MATTA, V.; LUIS SOUZA DOS SANTOS, A.; DE LIMA MOREIRA, D.; NORIE KUNIGAMI, C.; PRZYTYK JUNG, E.; DE OLIVEIRA RIBEIRO, L. Bioproducts from Passiflora cincinnata Seeds: The Brazilian Caatinga Passion Fruit. 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/foods12132525>>. Acesso em: 15 mar. 2025.

VECCHIO, D.; DAI, T.; HUANG, L.; FANTETTI, L.; RONCUCCI, G.; HAMBLIN, M. R. Antimicrobial photodynamic therapy with RLP068 kills methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and improves wound healing in a mouse model of infected skin abrasion PDT with RLP068/Cl in infected mouse skin abrasion. **Journal of Biophotonics**, v. 6, n. 9, p. 733–742, 2013.

VENKATESH, V. *Staphylococcus aureus* and MRSA: Do we know the true burden? **Clinical Epidemiology and Global Health**, v. 6, n. 3, p. 103–104, 1 set. 2018.

Disponível em: <<http://www.ceghonline.com/article/S2213398417300726/fulltext>>. Acesso em: 21 jan. 2025.

VERSCHOOR, C. P.; LOUKOV, D.; NAIDOO, A.; PUCHTA, A.; JOHNSTONE, J.; MILLAR, J.; LELIC, A.; NOVAKOWSKI, K. E.; DORRINGTON, M. G.; LOEB, M.; BRAMSON, J. L.; BOWDISH, D. M. E. Circulating TNF and mitochondrial DNA are major determinants of neutrophil phenotype in the advanced-age, frail elderly. **Molecular Immunology**, v. 65, n. 1, p. 148–156, maio 2015.

VESTERGAARD, M.; FREES, D.; INGMER, H. Antibiotic Resistance and the MRSA Problem. **Microbiology Spectrum**, v. 7, n. 2, 12 abr. 2019. Disponível em: <<https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.GPP3-0057-2018>>. Acesso em: 20 maio. 2023.

VO-DINH, T. (ed.). **Biomedical Photonics Handbook**. [s.l.] CRC Press, 2014.

VOLPE, E.; SERVANT, N.; ZOLLINGER, R.; BOGIATZI, S. I.; HUPÉ, P.; BARILLOT, E.; SOUMELIS, V. A critical function for transforming growth factor- $\beta$ , interleukin 23 and proinflammatory cytokines in driving and modulating human TH-17 responses. **Nature Immunology** 2008 9:6, v. 9, n. 6, p. 650–657, 4 maio 2008. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/ni.1613>>. Acesso em: 24 maio. 2023.

WALDMANN, I.; SCHMID, T.; PRINZ, J.; MÜHLEISEN, B.; ZBINDEN, R.; IMHOFF, L.; ACHERMANN, Y. Photodynamic therapy improves skin antisepsis as a prevention strategy in arthroplasty procedures: A pilot study. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 31, p. 101941, set. 2020.

WALLER, J. M.; MAIBACH, H. I. Age and skin structure and function, a quantitative approach (II): protein, glycosaminoglycan, water, and lipid content and structure. **Skin Research and Technology**, v. 12, n. 3, p. 145–154, 4 ago. 2006.

WANG, R.; LAN, C.; KAMEL BENLAGHA, #; OLSEN, N.; CAMARA, S.; MILLER, H.; KUBO, M.; HEEGAARD, S.; LEE, P.; YANG, L.; FORSMAN, H.; LI, X.; ZHAI, Z.; LIU, C. The interaction of innate immune and adaptive immune system. **MedComm**, v. 5, n. 10, p. e714, 1 out. 2024. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/mco2.714>>. Acesso em: 7 abr. 2025.

WERTHEIM, H. F. L.; MELLES, D. C.; VOS, M. C.; VAN LEEUWEN, W.; VAN BELKUM, A.; VERBRUGH, H. A.; NOUWEN, J. L. The role of nasal carriage in Staphylococcus aureus infections. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 5, n. 12, p. 751–

762, 1 dez. 2005. Disponível em:  
<http://www.thelancet.com/article/S1473309905702954/fulltext>. Acesso em: 21 jan. 2025.

WHO. WHO bacterial priority pathogens list, 2024: Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. **Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance**, p. 72, 2024. Disponível em:  
<https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461>. Acesso em: 2 abr. 2025.

WILSON, R. J.; LI, Y.; YANG, G.; ZHAO, C. X. Nanoemulsions for drug delivery. **Particuology**, v. 64, p. 85–97, 1 maio 2022. . Acesso em: 3 abr. 2025.

WONG, T. W.; WU, E. C.; KO, W. C.; LEE, C. C.; HOR, L. I.; HUANG, I. H. Photodynamic inactivation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by indocyanine green and near infrared light. **Dermatologica Sinica**, v. 36, n. 1, p. 8–15, 1 mar. 2018. Disponível em:  
[https://www.researchgate.net/publication/320001000\\_Photodynamic\\_inactivation\\_of\\_methicillin-resistant\\_Staphylococcus\\_aureus\\_by\\_indocyanine\\_green\\_and\\_near\\_infrared\\_light](https://www.researchgate.net/publication/320001000_Photodynamic_inactivation_of_methicillin-resistant_Staphylococcus_aureus_by_indocyanine_green_and_near_infrared_light). Acesso em: 20 maio. 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024**. Disponível em:  
<https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376776/9789240093461-eng.pdf?sequence=1>. Acesso em: 9 jan. 2025.

XU, F.; LU, T. Skin Structure and Skin Blood Flow. *Em: Introduction to Skin Biothermomechanics and Thermal Pain*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2011. p. 7–19.

YOUF, R.; MÜLLER, M.; BALASINI, A.; THÉTIOT, F.; MÜLLER, M.; HASCOËT, A.; JONAS, U.; SCHÖNHERR, H.; LEMERCIER, G.; MONTIER, T.; LE GALL, T. Antimicrobial Photodynamic Therapy: Latest Developments with a Focus on Combinatory Strategies. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 12, p. 1995, 24 nov. 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4923/13/12/1995>.

YOUNUS, L. A.; MAHMOUD, Z. H.; HAMZA, A. A.; ALAZIZ, K. M. A.; ALI, M. L.; YASIN, Y.; JIHAD, W. S.; RASHEED, T.; ALKHAWALDEH, A. K.; ALI, F. K.; KIANFAR, E. Photodynamic therapy in cancer treatment: properties and applications in nanoparticles. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, 2024.

YOUSEF, H.; ALHAJJ, M.; FAKOYA, A. O.; SHARMA, S. **Anatomy, Skin (Integument), Epidermis**.

YU, X.-T.; SUI, S.-Y.; HE, Y.-X.; YU, C.-H.; PENG, Q. Nanomaterials-based photosensitizers and delivery systems for photodynamic cancer therapy. **Biomaterials Advances**, v. 135, p. 212725, abr. 2022. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2772950822000024>>.

ZANNA, M. Y.; YASMIN, A. R.; OMAR, A. R.; ARSHAD, S. S.; MARIATULQABTIAH, A. R.; NUR-FAZILA, S. H.; MAHIZA, M. I. N. Review of Dendritic Cells, Their Role in Clinical Immunology, and Distribution in Various Animal Species. **International Journal of Molecular Sciences 2021, Vol. 22, Page 8044**, v. 22, n. 15, p. 8044, 28 jul. 2021. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1422-0067/22/15/8044/htm>>. Acesso em: 7 abr. 2025.

ZHANG, J.; JIANG, C.; FIGUEIRÓ LONGO, J. P.; AZEVEDO, R. B.; ZHANG, H.; MUEHLMANN, L. A. An updated overview on the development of new photosensitizers for anticancer photodynamic therapy. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 8, n. 2, p. 137–146, mar. 2018.

ZHANG, J.; TAO, S.; HOU, G.; ZHAO, F.; MENG, Q.; TAN, S. Phytochemistry, nutritional composition, health benefits and future prospects of Passiflora: A review. **Food Chemistry**, v. 428, p. 136825, dez. 2023.

ZHAO, L.; CHEN, J.; BAI, B.; SONG, G.; ZHANG, J.; YU, H.; HUANG, S.; WANG, Z.; LU, G. Topical drug delivery strategies for enhancing drug effectiveness by skin barriers, drug delivery systems and individualized dosing. **Frontiers in Pharmacology**, v. 14, p. 1333986, 2024. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10825035/>>. Acesso em: 26 mar. 2025.

ZHU, W. F.; EMPEL, C.; PELLICCIA, S.; KOENIGS, R. M.; PROSCHAK, E.; HERNANDEZ-OLMOS, V. Photochemistry in Medicinal Chemistry and Chemical Biology. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 67, n. 6, p. 4322–4345, 28 mar. 2024.

Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jmedchem.3c02109>>. Acesso em: 7 abr. 2025.

ZULHENDRI, F.; LESMANA, R.; TANDEAN, S.; CHRISTOPER, A.; CHANDRASEKARAN, K.; IRSYAM, I.; SUWANTIKA, A. A.; ABDULAH, R.; WATHONI, N. Recent Update on the Anti-Inflammatory Activities of Propolis. **Molecules** 2022, Vol. 27, Page 8473, v. 27, n. 23, p. 8473, 2 dez. 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/27/23/8473/htm>>. Acesso em: 7 abr. 2025.

## 10. PUBLICAÇÕES DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO

### 10.1. Livros publicados:

- 1- Silva, Robson Amaro Augusto; Galantini, Maria Poliana; Muniz, Igor Pereira Ribeiro; Ribeiro, Israel Souza; **Gonçalves, Caroline Vieira**; Lima, Paulo Henrique Bispo; Santos, Fernanda Castro Pires **Descomplicando a Histotecnologia - Um guia prático para o preparo de lâminas histológicas.** 1. ed. Vitória da Conquista: Edição independente, 2021. v. 1. 58p.

### 10.2. Depósitos de Patentes:

- 1- **Gonçalves, Caroline Vieira**; Amaral, Juliano Geraldo; Damasceno, Gabriel Azevedo B.; Silva, Robson Amaro Augusto da. Composições farmacêuticas contendo extratos da *Passiflora cincinnata* para terapia fotodinâmica antimicrobiana. 2023, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10202300902, título: "**Composições farmacêuticas contendo extratos de *Passiflora cincinnata* para terapia fotodinâmica antimicrobiana**", Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 11/05/2023.
- 2- Lima, Paulinne Moreira; Amaral, Juliano Geraldo; Guimarães, Catarina Silva; Damasceno, Gabriel Azevedo Brito; Leite, Mateus Freire; Silva, Robson Amaro Augusto; Ruela, Andre Luiz Morais; **Gonçalves, Caroline Vieira**. Composições farmacêuticas contendo extrato e óleo de *Coffea arabica* L. 2024, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10202402132, título: "**Composições farmacêuticas contendo extrato e óleo de *Coffea arabica* L.**", Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 14/10/2024.
- 3- **Gonçalves, Caroline Vieira**; Silva, Robson Amaro Augusto da; Damasceno, Gabriel Azevedo B.; Amaral, Juliano Geraldo. Extratos de *Passiflora cincinnata* como fotossensibilizador antimicrobiano em composições farmacêuticas. 2025, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR1020250184966, título: "**Extratos de *Passiflora cincinnata* como fotossensibilizador antimicrobiano em composições farmacêuticas.**", Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 01/09/2025.

### 10.3. Artigos completos publicados em periódicos:

- 1- Santos, Déborah Cruz dos; Ribeiro, Israel Souza; Lopes, Diego Patrick Santos; Pereira, Ítalo Souza; Santos, Denisar Palmito; Muniz, Igor Pereira Ribeiro; Lima, Fernanda Macedo da Silva; Costa, Andressa Antônia Souza; Souza, Daniela da Silva Pires; Calado, Stéfano Pedro de Melo; **Gonçalves, Caroline Vieira**; Galantini, Maria Poliana Leite; Lopes, Danilo Nascimento; Silva, Robson Amaro Augusto da; Santos, Gilvanéia Silva. **Gender-related differences in the modulation of anthropometric, biochemical, and immune markers by physical activity in hypertensive and diabetic individuals.** Anais da Academia Brasileira de Ciências, v. 93, p. 1-13, 2021.
- 2- Muniz, Igor Pereira Ribeiro; Galantini, Maria Poliana Leite; Ribeiro, Israel Souza; **Gonçalves, Caroline Vieira**; Dos Santos, Denisar Palmito; Moura, Tatyana Chagas; Silva, Emely Soares; Silva, Nathalia Rosa; Cipriano, Barbara Porto; Correia, Thiago Macêdo Lopes; de Jesus Soares, Telma; de Freitas, Leandro Martins; Costa, Dirceu Joaquim; da Silva, Robson Amaro Augusto. **Antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) with curcumin controls intradermal infection by *Staphylococcus aureus* in mice with type 1 diabetes mellitus: a pilot study.** Journal of Photochemistry and Photobiology b-biology, v. 1, p. 112325, 2021.
- 3- **Gonçalves, Caroline Vieira**; Ribeiro, Israel Souza; Galantini, Maria Poliana Leite; Muniz, Igor Pereira Ribeiro; Lima, Paulo Henrique Bispo; Santos, Gilvanéia Silva; Da Silva, Robson Amaro Augusto. **Inflammaging and body composition: new insights in diabetic and hypertensive elderly men.** Experimental gerontology, v. 1, p. 112005, 2022.
- 4- Galantini, Maria Poliana Leite; Ribeiro, Israel Souza; **Gonçalves, Caroline Vieira**; Muniz, Igor Pereira Ribeiro; Lima, Paulo Henrique Bispo; Santos, Gilvanéia Silva; Da Silva, Robson Amaro Augusto. **The sweet fuel of inflammation: new perspectives on the complex web that interconnects diabetes.** Experimental gerontology, v. 01, p. 111905, 2022.
- 5- Galantini, Maria Poliana Leite; Leal, Lorena Santos; Rodrigues, Karine Bittencourt; Ribeiro, Israel Souza; Pereira, Italo Souza; **Gonçalves, Caroline Vieira**; Calado, Stéfano Pedro Melo; Santos, Denisar Palmito dos; Muniz, Igor Pereira Ribeiro; Silva, Robson Amaro Augusto da. **Physical activity reduces intradermal bacterial load**

**in a murine model submitted to forced swim training - a pilot study.** Anais da Academia Brasileira de Ciências, v. 94, p. 1-12, 2022.

- 6- Ribeiro, Israel Souza; Muniz, Igor Pereira Ribeiro; Galantini, Maria Poliana Leite; **Gonçalves, Caroline Vieira**; Lima, Paulo Henrique Bispo; Silva, Emely Soares; Silva, Nathalia Rosa; Rosa, Francine Cristina Silva; Rosa, Luciano Pereira; Costa, Dirceu Joaquim; Amaral, Juliano Geraldo; Da Silva, Robson Amaro Augusto. **Characterization of brazilian green propolis as a photosensitizer for led light-induced antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA).** Photochemical & Photobiological Sciences, v. 1, p. 1, 2023.
- 7- Lima, Paulo Henrique Bispo; **Goncalves, Caroline Vieira**; Ribeiro, Israel Souza; Galantini, Maria Poliana Leite; Muniz, Igor Pereira Ribeiro; Santos, Gilvanéia Santos; Silva, Robson Amaro Augusto da. **Diabetes and hypertension in elderly women: interactions between severity and failure to control inflammation.** Anais da Academia Brasileira de Ciências, v. 96, p. 1, 2024.
- 8- Ribeiro, Israel Souza; Muniz, Igor Pereira Ribeiro; Galantini, Maria Poliana Leite; **Gonçalves, Caroline Vieira**; Lima, Paulo Henrique Bispo; Silva, Nathalia Rosa; de Oliveira, Samara Lopes; Nunes, Marlon Silva; Novaes, Amanda Kelle Santos; de Oliveira, Maria Eduarda Santos; Costa, Dirceu Joaquim; Amaral, Juliano Geraldo; da Silva, Robson Amaro Augusto. **Antimicrobial photodynamic therapy with brazilian green propolis controls intradermal infection induced by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and modulates the inflammatory response in a murine model.** Photochemical & Photobiological Sciences, v. 1, p. 1, 2024.
- 9- Muniz, Igor Pereira Ribeiro; Calado, Sthefano Pedro Melo; Ribeiro, Israel Silva; Galantini, Maria Poliana; **Goncalves, Caroline Vieira**; Pereira Rosa, Luciano; Cristina da Silva, Francine; Silva, Robson Amaro Augusto. **Evaluation of different protocols using antimicrobial photodynamic therapy with curcumin and blue led light control of *Escherichia coli* in vitro.** Acta scientiarum. Biological sciences (online), v. 46, p. 01, 2024.
- 10- Lima, Paulinne Moreira; Guimarães, Catarina Silva; **Gonçalves, Caroline Vieira**; Pereira, Caio Cézar, Garcia, Laryana Borges; dos Santos, Isabela Dias; Oliveira, Jayne

Ferreira da Silva; Silva, Micaela Coutinho; Leite, Mateus Freire; Ruela, André Luis Morais; da Silva, Robson Amaro Augusto; Damasceno, Gabriel Azevedo Brito; da Silva, Denise B.; Geraldo, Juliano Amaral. **Synergistic antimicrobial effects of coffee green extract and oil microemulsions enhanced by photodynamic therapy: A strategy against antibiotic resistance.** Journal of Drug Delivery Science and Technology. 2025.

- 11- **Gonçalves, Caroline Vieira;** Galantini, Maria Poliana Leite; Muniz, Igor Pereira Ribeiro; Lima, Paulo Henrique Bispo; Ribeiro, Israel Souza; de Oliveira, Maria Eduarda Santos; de Magalhães, Caio Oliveira Lopes; Flores, Maria Elisa Santos; de Oliveira, Samara Lopes; Guimarães, Catarina Silva; Lima, Paulinne Moreira; Santos, Luísa Carregosa; Lopes, Daiana Silva; Amaral, Juliano Geraldo; da Silva, Robson Amaro Augusto. **Illuminating New Frontiers: Exploring the Photosensitizing Potential of Passiflora Species in Combating Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) and Their Infection in Senescent Mice.** Advanced Biology, v. e00254, p. 1-12, 2025.

**ANEXO 1**

**Livros**

Os autores desse livro empenharam seus melhores esforços para assegurar que as informações e procedimentos apresentados no texto estejam de acordo com os padrões aceitos até a data da publicação. Adicionalmente, os leitores podem buscar por possíveis atualizações da obra em [www.patologiaesaude.com.br](http://www.patologiaesaude.com.br).

Os autores se empenharam para citar adequadamente e dar o devido crédito a todos os detentores de direitos autorais de qualquer material utilizado neste livro, dispondo-se a possíveis acertos posteriores caso a identificação de algum deles tenha sido omitida.

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)**

Descomplicando a histotecnologia [livro eletrônico] : um guia prático para o preparo de lâminas histológicas / Maria Poliana Leite Galantini ... [et al.] ; organização Robson Amaro Augusto da Silva. -- 1. ed. -- Vitória da Conquista, BA : Patologia & Saúde, 2021.  
PDF

Outros autores : Igor Pereira Ribeiro Muniz, Israel Souza Ribeiro, Caroline Vieira Gonçalves, Paulo Henrique Bispo Lima, Fernanda Castro Pires dos Santos.

ISBN 978-65-00-23142-7

1. Biomedicina 2. Histologia patológica - Técnica  
3. Profissionais da saúde - Formação profissional I. Ribeiro, Igor Pereira Ribeiro. II. Ribeiro, Israel Souza. III. Gonçalves, Caroline Vieira. IV. Lima, Paulo Henrique Bispo Lima. V. Santos, Fernanda Castro Pires dos. VI. Silva, Robson Amaro Augusto da.

21-66042

CDD-611.018

**Índices para catálogo sistemático:**

1. Histologia humana : Ciências médicas 611.018

Aline Grazielle Benitez - Bibliotecária - CRB-1/3129

**ANEXO 2**  
**Depósitos de Patentes**



29409162301277409

**Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT****Número do Processo:** BR 10 2023 009022 2**Dados do Depositante (71)**

---

**Depositante 1 de 1****Nome ou Razão Social:** UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**Tipo de Pessoa:** Pessoa Jurídica**CPF/CNPJ:** 15180714000104**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Jurídica:** Instituição de Ensino e Pesquisa**Endereço:** Rua Augusto Viana s/n,**Cidade:** Salvador**Estado:** BA**CEP:** 40-110060**País:** Brasil**Telefone:** (71)32839097**Fax:** (71)32839097**Email:** inova@ufba.br

## Dados do Pedido

---

**Natureza Patente:** 10 - Patente de Invenção (PI)

**Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54):** COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO EXTRATOS DA Passiflora cincinnata PARA TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA

**Resumo:** A presente invenção trata-se de composições farmacêuticas para aplicação tópica, contendo extratos de Passiflora cincinnata. A função destas composições inclui a atividade microbicida. Tal atividade é obtida quando as composições são utilizadas como fotossensibilizantes na Terapia Fotodinâmica antimicrobiana (TFDa). Os extratos da P. cincinnata foram liofilizados e diluídos em água destilada filtrada em membrana de 22mm. Os extratos da P. cincinnata, fração butanólica (FIGURA 2) e o extrato bruto (FIGURA 3), quando ativados pela luz LED azul reduziram significativamente o crescimento de MRSA, mostrando-se eficaz com o uso de baixas concentrações dos extratos. Na FIGURA 4 pode-se ver o rápido decaimento da abs na faixa de melhor absorção do ácido úrico (293 nm), sugerindo que o mecanismo da formação de oxigênio singlete é crucial no processo de diminuição das colônias de MRSA na TFDa com P. cincinnata como fotossensibilizante. A P. cincinnata possui atividade microbicida in situ (FIGURA 5). Entretanto, animais tratados com P. cincinnata fotativada não demonstraram diferenças na carga bacteriana. Isso é facilmente explicado pela rápida formação de oxigênio singlete, que tem curto-prazo de duração (FIGURA 4). A fotativação prévia da P. cincinnata pode ter influenciado na quantidade de oxigênio singlete in situ. Aplicação tópica de P. cincinnata e posterior aplicação da luz, provavelmente, aumentaria sua eficácia.

**Figura a publicar:** 1

---

### PETICIONAMENTO ELETRÔNICO

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 11/05/2023 às 10:21, Petição 870230039310

## Dados do Procurador

---

### Procurador:

**Nome ou Razão Social:** PAULO PIETROBON DE OLIVEIRA GOMES

**Numero OAB:**

**Numero API:**

**CPF/CNPJ:** 18821923894

**Endereço:** Rua Basílio da Gama, 6/8 - Canela

**Cidade:** Salvador

**Estado:** BA

**CEP:** 40110040

**Telefone:** 713283-9095

**Fax:**

**Email:** inova@ufba.br

## Dados do Inventor (72)

---

### Inventor 1 de 4

**Nome:** CAROLINE VIEIRA GONÇALVES

**CPF:** 05106178592

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Física:** Doutorando

**Endereço:** Rua Guilhermino novais

**Cidade:** Vitória da Conquista

**Estado:** BA

**CEP:** 45020-600

**País:** BRASIL

**Telefone:** (77) 988 166647

**Fax:**

**Email:** carlinagoncalvesv@gmail.com

### Inventor 2 de 4

**Nome:** ROBSON AMARO AUGUSTO DA SILVA

**CPF:** 03461482439

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Física:** Professor do ensino superior

**Endereço:** Rua Margarida Maria Alves, 870, Alameda dos Pássaros

**Cidade:** Vitória da Conquista

**Estado:** BA

**CEP:** 45055-610

**País:** BRASIL

**Telefone:** (77) 988 265949

**Fax:**

**Email:** robson.amaro@gmail.com

### Inventor 3 de 4

---

**PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 11/05/2023 às 10:21, Petição 870230039310

**Nome:** JULIANO GERALDO AMARAL  
**CPF:** 03374460674  
**Nacionalidade:** Brasileira  
**Qualificação Física:** Professor do ensino superior  
**Endereço:** Rua da Poesia, 55, Apt. 302, Candeias  
**Cidade:** Vitória da Conquista  
**Estado:** BA  
**CEP:** 45028-390  
**País:** BRASIL  
**Telefone:** (77) 991 992966  
**Fax:**  
**Email:** amaraljg@yahoo.com.br

#### Inventor 4 de 4

**Nome:** GABRIEL AZEVEDO DE BRITO DAMASCENO  
**CPF:** 05191298497  
**Nacionalidade:** Brasileira  
**Qualificação Física:** Professor do ensino superior  
**Endereço:** Rua Paulo Filadelfo, 1667, Torre B2, Ap 404  
**Cidade:** Vitória da Conquista  
**Estado:** BA  
**CEP:** 45028-355  
**País:** BRASIL  
**Telefone:**  
**Fax:**  
**Email:** damasceno.gab@outlook.com

#### Documentos anexados

---

Tipo Anexo	Nome
Relatório Descritivo	2 Relatório descritivo.pdf
Resumo	1 Resumo.pdf
Desenho	3 Desenhos.pdf
Reivindicação	4 Reinvindicações.pdf
Procuração	Procuração 18-01-2022.pdf
Comprovante de pagamento de GRU 200	29409162301277409.pdf

## Acesso ao Patrimônio Genético

---

- Declaração Positiva de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, realizado a partir de 30 de junho de 2000, e que foram cumpridas as determinações da Lei 13.123 de 20 de maio de 2015, informando ainda:

Número da Autorização de AE76E5D

Acesso:

Data da Autorização de Acesso: 12/04/2013

## Declaração de veracidade

---

- Declaro, sob as penas da lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

---

### PETICIONAMENTO ELETRÔNICO

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 11/05/2023 às 10:21, Petição 870230039310



29409162323386421

**Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT****Número do Processo:** BR 10 2024 021323 8**Dados do Depositante (71)**

---

**Depositante 1 de 1****Nome ou Razão Social:** UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**Tipo de Pessoa:** Pessoa Jurídica**CPF/CNPJ:** 15180714000104**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Jurídica:** Instituição de Ensino e Pesquisa**Endereço:** Rua Augusto Viana s/n,**Cidade:** Salvador**Estado:** BA**CEP:** 40-110060**País:** Brasil**Telefone:** (71)32839097**Fax:** (71)32839097**Email:** inova@ufba.br

## Dados do Pedido

---

**Natureza Patente:** 10 - Patente de Invenção (PI)

**Título da Invenção ou Modelo de** COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO EXTRATO E

**Utilidade (54):** ÓLEO DE Coffea arabica L.

**Resumo:** A presente invenção refere-se a composições farmacêuticas contendo óleo e extrato de café verde, com ação microbicida potencializada pela terapia fotodinâmica. As formulações foram preparadas pelo método de emulsificação espontânea, contendo óleo e extrato de café verde, estabilizadas por tensoativos. Os sistemas dispersos obtidos apresentam tamanho de partícula médio na faixa de 1 a 100nm, preferencialmente de 1 a 60nm, PDI abaixo de 0,300, e potencial zeta com valores de -14 a -30 mV, em diferentes temperaturas e testes de estabilidade. Além disso, apresentam o comportamento de fluido newtoniano com viscosidade entre 30 e 32 cP. Ainda, apresentam eficácia no tratamento contra microrganismos em doses menores já reportadas e foram potencializadas quando associadas à terapia fotodinâmica. Tendo concentração mínima inibitória de extrato de café verde de 250 µg/mL e quando fotoativadas, em 125 µg/mL, além de apresentarem atividade mesmo sem o extrato incorporado. Assim a presente invenção revela um produto de baixo custo que estrutura o uso de substâncias derivadas de plantas na indústria farmacêutica, estimulando a bioeconomia e podendo contribuir para a agricultura familiar, considerando a importância econômica do café no Brasil.

**Figura a publicar:** 1

## Dados do Procurador

---

### Procurador:

**Nome ou Razão Social:** HORÁCIO NELSON HASTENREITER FILHO

**Numero OAB:**

**Numero API:**

**CPF/CNPJ:** 01361510781

**Endereço:** RUA BASILIO DA GAMA,06 - CANELA

**Cidade:** Salvador

**Estado:** BA

**CEP:** 40110-040

**Telefone:** 713283-9097

**Fax:**

**Email:** INOVA@UFBA.BR

---

## PETICIONAMENTO ELETRÔNICO

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 14/10/2024 às 14:53, Petição 870240087931

## Dados do Inventor (72)

---

### Inventor 1 de 8

**Nome:** JULIANO GERALDO AMARAL

**CPF:** 03374460674

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Física:** Professor do ensino superior

**Endereço:** Rua da Poesia, 55, Apt. 302, Candeias

**Cidade:** Vitória da CONQUISTA

**Estado:** BA

**CEP:** 45028-390

**País:** BRASIL

**Telefone:** (77) 991 992966

**Fax:**

**Email:** amaraljg@yahoo.com.br

### Inventor 2 de 8

**Nome:** PAULINNE MOREIRA LIMA

**CPF:** 04364671517

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Física:** Enfermeiro de nível superior, nutricionista, farmacêutico e afins

**Endereço:** Rua Amélia Moraes, 19 A, Candeias

**Cidade:** Vitória da Conquista

**Estado:** BA

**CEP:** 45028-678

**País:** BRASIL

**Telefone:** (77) 999 562041

**Fax:**

**Email:** paulinne.lm@gmail.com

### Inventor 3 de 8

---

**PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 14/10/2024 às 14:53, Petição 870240087931

**Nome:** CATARINA SILVA GUIMARÃES  
**CPF:** 85919235535  
**Nacionalidade:** Brasileira  
**Qualificação Física:** Enfermeiro de nível superior, nutricionista, farmacêutico e afins  
**Endereço:** Avenida Braulino Santos, 1170 apt 301, Candeias  
**Cidade:** Vitória da Conquista  
**Estado:** BA  
**CEP:** 45028-170  
**País:** BRASIL  
**Telefone:** (77) 988 020808  
**Fax:**  
**Email:** catarinasguimaraes@hotmail.com

#### Inventor 4 de 8

**Nome:** GABRIEL AZEVEDO DE BRITO DAMASCENO  
**CPF:** 05191298497  
**Nacionalidade:** Brasileira  
**Qualificação Física:** Professor do ensino superior  
**Endereço:** Rua Carlos Alberto Figueredo, 900 - Primavera  
**Cidade:** Vitória da Conquista  
**Estado:** BA  
**CEP:** 45029-268  
**País:** BRASIL  
**Telefone:** (84) 988 448436  
**Fax:**  
**Email:** damasceno.gab@outlook.com

#### Inventor 5 de 8

**Nome:** MATEUS FREIRE LEITE  
**CPF:** 03850902692  
**Nacionalidade:** Brasileira  
**Qualificação Física:** Professor do ensino superior  
**Endereço:** Rua Salomão Barroso, 764, Jardim Vista Alegre  
**Cidade:** Alfenas  
**Estado:** MG  
**CEP:** 31132-040  
**País:** BRASIL  
**Telefone:** (35) 988 717012  
**Fax:**  
**Email:** mateusfl@gmail.com

#### Inventor 6 de 8

**Nome:** ROBSON AMARO AUGUSTO DA SILVA  
**CPF:** 03461482439  
**Nacionalidade:** Brasileira  
**Qualificação Física:** Professor do ensino superior  
**Endereço:** Rua Margarida Maria Alves, 870, Alameda dos Pássaros  
**Cidade:** Vitória da Conquista  
**Estado:** BA  
**CEP:** 45055-610  
**País:** BRASIL  
**Telefone:** (77) 988 265949  
**Fax:**  
**Email:** ramaro@ufba.br

#### Inventor 7 de 8

**Nome:** ANDRÉ LUÍS MORAIS RUELA  
**CPF:** 07001502693  
**Nacionalidade:** Brasileira  
**Qualificação Física:** Professor do ensino superior  
**Endereço:** Avenida Presidente Juscelino Kubitschek  
**Cidade:** Ouro Preto  
**Estado:** MG  
**CEP:** 35402-179  
**País:** BRASIL  
**Telefone:** (38) 988 717012  
**Fax:**  
**Email:** andre.ruela@yahoo.com.br

#### Inventor 8 de 8

**Nome:** CAROLINE VIEIRA GONÇALVES  
**CPF:** 05106178592  
**Nacionalidade:** Brasileira  
**Qualificação Física:** Biólogo, biomédico e afins  
**Endereço:** Rua Guilhermino Novais, 154, Bairro Recreio  
**Cidade:** Vitória da Conquista  
**Estado:** BA  
**CEP:** 45020-600  
**País:** BRASIL  
**Telefone:** (77) 988 166647  
**Fax:**  
**Email:** carolinegoncalvesv@gmail.com

## Documentos anexados

---

Tipo Anexo	Nome
Relatório Descritivo	Relatório descritivo.pdf
Reivindicação	Reivindicações.pdf
Resumo	Resumo.pdf
Desenho	Desenhos patente.pdf
Declaração de período de graça	Certificado de Apresentação BCNP.pdf
Procuração	Procuraçao_H.pdf
Comprovante de pagamento de GRU 200	29409162323386421.pdf

## Acesso ao Patrimônio Genético

---

Declaração Positiva de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, realizado a partir de 30 de junho de 2000, e que foram cumpridas as determinações da Lei 13.123 de 20 de maio de 2015, informando ainda:

Número da Autorização de Acesso: A4142D9

Acesso:

Data da Autorização de Acesso: 13/04/2023

## Declaração de Divulgação Anterior Não Prejudicial

---

Artigo 12 da LPI - Período de Graça.

**PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 14/10/2024 às 14:53, Petição 870240087931

### **Declaração de veracidade**

---

Declaro, sob as penas da lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

---

**PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO** Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 14/10/2024 às 14:53, Petição 870240087931



29409162334523182

**Pedido nacional de invenção; Pedido nacional de modelo de utilidade; Pedido nacional de certificado de adição de invenção; e Entrada na fase nacional do PCT**

**Número do Processo:** BR 10 2025 018496 6

---

**Dados do Depositante (71)**

---

**Depositante 1 de 1**

**Nome ou Razão Social:** UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

**Tipo de Pessoa:** Pessoa Jurídica

**CPF/CNPJ:** 15180714000104

**Nacionalidade:** Brasileira

**Endereço:** Rua Augusto Viana s/n,

**Cidade:** Salvador

**Estado:** BA

**CEP:** 40-110060

**País:** Brasil

**Telefone:** (71)32839097

**Fax:** (71)32839097

**Email:** inova@ufba.br

## Dados do Pedido

---

**Natureza Patente:** 10 - Patente de Invenção (PI)

**Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54):** EXTRATOS DE Passiflora cincinnata COMO

FOTOSSENSIBILIZADOR ANTIMICROBIANO EM COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS

**Resumo:** A presente invenção propõe composições farmacêuticas tópicas contendo extrato de Passiflora cincinnata para uso como fotossensibilizador na Terapia Fotodinâmica antimicrobiana (TFDa). Essa abordagem é uma alternativa promissora para infecções cutâneas bacterianas multirresistentes, como as causadas por Staphylococcus aureus resistente à meticilina (MRSA). Testes in vitro não revelaram citotoxicidade da fração butanólica purificada de P. cincinnata em células HUVEC. Em testes in vivo, os animais tratados com P. cincinnata demonstraram menor variação de peso, e o grupo controle (Veículo, infectado com MRSA) apresentou maior carga bacteriana e maior número de infiltrados totais de células leucocitárias e leucócitos polimorfonucleares em comparação com os grupos tratados com P. cincinnata. A formulação desenvolvida, uma emulsão óleo em água, demonstrou estabilidade físicoquímica e características ideais para aplicação tópica. As variações estatísticas não comprometeram sua integridade, e sua viscosidade mínima aparente variou entre 7495,7339 e 9601,9511 cP. Além disso, a emulsão exibiu comportamento pseudoplástico e tixotrópico, típico de fluidos não newtonianos. As formulações mantiveram sua estabilidade macroscópica após centrifugação e o pH permaneceu na faixa adequada para aplicação cutânea. Assim, esta invenção destaca o potencial inovador das composições farmacêuticas contendo a fração butanólica purificada de Passiflora cincinnata como fotossensibilizante na TFDa, oferecendo uma nova abordagem para o tratamento de infecções resistentes.

**Figura a publicar:** 1

---

### PETICIONAMENTO ELETRÔNICO

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 01/09/2025 às 08:18, Petição 870250077430

**Dados do Procurador**

---

**Procurador:**

**Nome ou Razão Social:** HORÁCIO NELSON HASTENREITER FILHO

**Numero OAB:**

**Numero API:**

**CPF/CNPJ:** 01361510781

**Endereço:** RUA BASILIO DA GAMA,06 - CANELA

**Cidade:** Salvador

**Estado:** BA

**CEP:** 40110-040

**Telefone:** 713283-9097

**Fax:**

**Email:** INOVA@UFBA.BR

## Dados do Inventor (72)

---

### Inventor 1 de 4

**Nome:** CAROLINE VIEIRA GONÇALVES

**CPF:** 05106178592

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Física:** Pesquisador

**Endereço:** Rua Guilhermino Novais, Recreio

**Cidade:** Vitória da Conquista

**Estado:** BA

**CEP:** 45020-600

**País:** BRASIL

**Telefone:** (77) 988 166647

**Fax:**

**Email:** carolinegoncalvesv@gmail.com

### Inventor 2 de 4

**Nome:** ROBSON AMARO AUGUSTO DA SILVA

**CPF:** 03461482439

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Física:** Biólogo, biomédico e afins

**Endereço:** Rua Margarida Maria Alves, 870, Alameda dos Pássaros

**Cidade:** Vitória da Conquista

**Estado:** BA

**CEP:** 45055-610

**País:** BRASIL

**Telefone:** (77) 988 265949

**Fax:**

**Email:** robson.amaro@gmail.com

### Inventor 3 de 4

---

**PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 01/09/2025 às 08:18, Petição 870250077430

**Nome:** JULIANO GERALDO AMARAL  
**CPF:** 03374460674  
**Nacionalidade:** Brasileira  
**Qualificação Física:** Enfermeiro de nível superior, nutricionista, farmacêutico e afins  
**Endereço:** Rua da Poesia, 55, Apt. 302, Candeias  
**Cidade:** Vitória da Conquista  
**Estado:** BA  
**CEP:** 45028-390  
**País:** BRASIL  
**Telefone:** (77) 991 992966  
**Fax:**  
**Email:** amaraljg@yahoo.com.br

#### Inventor 4 de 4

**Nome:** GABRIEL AZEVEDO DE BRITO DAMASCENO  
**CPF:** 05191298497  
**Nacionalidade:** Brasileira  
**Qualificação Física:** Enfermeiro de nível superior, nutricionista, farmacêutico e afins  
**Endereço:** Rua Paulo Filadelfo, 1667, Torre B2, Ap 404, Candeias  
**Cidade:** Vitória da Conquista  
**Estado:** BA  
**CEP:** 45028-355  
**País:** BRASIL  
**Telefone:** (84) 988 448436  
**Fax:**  
**Email:** damasceno.gab@outlook.com

## Documentos anexados

---

Tipo Anexo	Nome
Resumo	Resumo (3).pdf
Desenho	Lista de Figuras (3).pdf
Reivindicação	Reinvindicações (1).pdf
Relatório Descritivo	RELATÓRIO DESCRIPTIVO .pdf
Procuração	Procuração - inpi.pdf
Comprovante de pagamento de GRU 200	29409162334523310.pdf

## Acesso ao Patrimônio Genético

---

Declaração Positiva de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, realizado a partir de 30 de junho de 2000, e que foram cumpridas as determinações da Lei 13.123 de 20 de maio de 2015, informando ainda:

**Número da Autorização de Acesso:** AE76E5D

**Acesso:**

**Data da Autorização de Acesso:** 12/04/2013

## Declaração de veracidade

---

Declaro, sob as penas da lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

---

## PETICIONAMENTO ELETRÔNICO

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 01/09/2025 às 08:18, Petição 870250077430

**ANEXO 3****Artigos**



*An Acad Bras Cienc (2021) 93(Suppl. 4): e20201905 DOI 10.1590/0001-3765202120201905*  
*Anais da Academia Brasileira de Ciências | Annals of the Brazilian Academy of Sciences*  
 Printed ISSN 0001-3765 | Online ISSN 1678-2690  
[www.scielo.br/aabc](http://www.scielo.br/aabc) | [www.fb.com/aabcjournal](http://www.fb.com/aabcjournal)

#### BIOMEDICAL SCIENCES

## Gender-related differences in the modulation of anthropometric, biochemical, and immune markers by physical activity in hypertensive and diabetic individuals

DÉBORAH C. DOS SANTOS, ISRAEL S. RIBEIRO, DIEGO PATRICK S. LOPES, ÍTALO S. PEREIRA, DENISAR P. SANTOS, IGOR P.R. MUNIZ, FERNANDA M. DA SILVA LIMA, ANDRESSA ANTÔNIA S. COSTA, DANIELA DA SILVA P. SOUZA, STÉFANO PEDRO DE MELO CALADO, CAROLINE V. GONÇALVES, MARIA POLIANA L. GALANTINI, DANILo N. LOPES, ROBSON A.A. DA SILVA & GILVANÉIA S. SANTOS

**Abstract:** Systemic arterial hypertension (SAH) and type 2 diabetes mellitus (T2DM) compose the two major noncommunicable chronic inflammatory diseases. Physical activity has been shown as a promising complementary approach to control the systemic inflammation. However, it is still unclear whether this modulation is gender-dependent. The objective of this study was evaluate the gender-related influence of physical activity on the inflammatory response and biochemical profile of individuals with SAH and T2DM. An international physical activity questionnaire was applied to 376 individuals diagnosed with SAH and T2DM in order to access their exercises routine and was evaluated the influence of physical activity in biochemical, anthropometrical, and immunological markers involved in these disorders in men and women. Even though active individuals have exhibited lower serum levels of IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , and IL-17A, the ratios between IL-10 and all inflammatory cytokines were higher in men than in women. Physically active individuals also demonstrated increased HDL/LDL and HDL/VLDL ratios. Moreover, multiple correlations revealed that in active women both IL-10 and TNF- $\alpha$  serum levels positively correlate with fasting glucose levels, and were negatively associated with HDL levels. Our findings suggest that gender-related differences dictate a distinct crosstalk between inflammatory and biochemical markers in physically active individuals.

**Key words:** Systemic arterial hypertension, gender, inflammation, physical activity, type 2 diabetes mellitus.

### INTRODUCTION

Over the years, chronic noncommunicable diseases have been assuming an important role in health-related concerns, and nowadays, they represent the major affecting disorders for the world population (Prince et al. 2015). It is known that, in elderly, cardiovascular diseases, systemic arterial hypertension, cancer,

and diabetes mellitus are the most common pathologies, causing a lower quality of life to these individuals, besides higher assistance costs, and lower life expectancy (Marengoni et al. 2008, Prince et al. 2015). Studies have also been demonstrating an augment in prevalence of chronic noncommunicable diseases in young adults, raising the need to include them in population studies (Chen et al. 2011, Kissela

08/04/25, 23:55

Antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) with curcumin controls intradermal infection by *Staphylococcus aureus* in mice with ...

ScienceDirect®

## Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology

Volume 224, November 2021, 112325

# Antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) with curcumin controls intradermal infection by *Staphylococcus aureus* in mice with type 1 diabetes mellitus: a pilot study

Igor Pereira Ribeiro Muniz <sup>a</sup>, Maria Poliana Leite Galantini <sup>a</sup>, Israel Souza Ribeiro <sup>a,c</sup>,  
Caroline Vieira Gonçalves <sup>a</sup>, Denisar Palmito dos Santos <sup>a</sup>, Tatyana Chagas Moura <sup>a</sup>,  
Emely Soares Silva <sup>a</sup>, Nathalia Rosa Silva <sup>a</sup>, Barbara Porto Cipriano <sup>a</sup>,  
Thiago Macêdo Lopes Correia <sup>a</sup>, Telma de Jesus Soares <sup>a</sup>, Leandro Martins de Freitas <sup>a</sup>,  
Dirceu Joaquim Costa <sup>b</sup>, Robson Amaro Augusto da Silva <sup>a</sup>

Show more

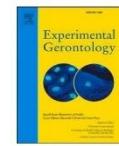
Share Cite

<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2021.112325>

[Get rights and content](#)

### Highlights

- PDT acts to control bacterial load in infected mice with type 1 diabetes.
- PDT using curcumin has therapeutic effect when used to control bacterial load in vivo.
- The expression of inflammatory markers can be modulated by PDT.
- Free radicals production is increased in diabetic organisms when treated with PDT.



## Inflammaging and body composition: New insights in diabetic and hypertensive elderly men

Caroline Vieira Gonçalves<sup>a</sup>, Israel Souza Ribeiro<sup>b</sup>, Maria Poliana Leite Galantini<sup>a</sup>, Igor Pereira Ribeiro Muniz<sup>a</sup>, Paulo Henrique Bispo Lima<sup>a</sup>, Gilvanéia Silva Santos<sup>a</sup>, Robson Amaro Augusto da Silva<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Multidisciplinary Institute of Health, Antônio Telzeira Campus, Federal University of Bahia, 58 Rio de Contas Street, 17 Block, 58 Lot, Candeias, 45.029-094 Vitória da Conquista, Bahia, Brazil

<sup>b</sup> Training Center in Health Sciences, Federal University of Southern Bahia, 58 Joana Angélica Square, São José, 45.988-058 Teixeira de Freitas, Bahia, Brazil

### ARTICLE INFO

Section Editor: Daniela Frasca

**Keywords:**  
Elderly men  
Type 2 diabetes mellitus  
Systemic arterial hypertension  
Body composition  
Inflammation

### ABSTRACT

Age-related changes in the body's physiological responses play a critical role in systemic arterial hypertension (SAH) and type 2 Diabetes mellitus (T2DM). SAH and T2DM have clinically silent low-grade inflammation as a common risk factor. This inflammation has a relevant element, the excess of fatty tissue. In this scenario, little is known about how inflammatory markers interact with each other. Therefore, this work evaluated the interplay among anthropometric, biochemical, and inflammatory markers in the elderly with SAH and T2DM. Men aged 60–80 years old with SAH and T2DM were classified by body mass index (BMI) as eutrophic elderly (EE, 24 individuals) or overweight elderly (OE, 25 individuals). Body composition analysis was performed using bioimpedance. Blood samples were collected to perform inflammatory and biochemical evaluations. The cytokines IL-17A, IL-1β, IFN-γ, TNF-α, and IL-10, were evaluated by ELISA. Triglycerides, total and fractions of cholesterol, and glucose were measured by spectrophotometry. Overweight elderly men had a higher glycemic index and an increase in most anthropometric markers, as well as higher means for all pro-inflammatory cytokines analyzed (IL-17A, IL-1β, IFN-γ, and TNF-α) in comparison to their eutrophic elderly counterparts. However, there was a decrease in IL-10 anti-inflammatory cytokine and IL-10/IL-17A ratio compared to their eutrophic elderly counterparts. Although overweight elderly men have worsening inflammatory parameters, the magnitude of their correlations with anthropometric and biochemical parameters becomes less evident. The Bayesian networks highlight that in the eutrophic elderly, IL-17A and TNF-α are the cytokines most associated with interactions, and most of these interactions occur with biochemical parameters. It is worth highlighting the role of IFN-γ in overweight elderly men. This cytokine influences IL-10 and TNF-α production, contributing to the inflammatory profile exacerbated in this group.

### 1. Introduction

Aging is a complex phenomenon that leads to numerous changes in the body's physiological systems. At the immunological level, it may be associated with a state of low-grade chronic sterile inflammation called inflammaging (Franceschi et al., 2017). Age-related changes in immunological and metabolic responses and the ability to respond to stress play a critical role in systemic arterial hypertension (SAH) and type 2 Diabetes mellitus (T2DM) (Franceschi et al., 2018; Fülop et al., 2016; Pansarasa et al., 2019; Santoro et al., 2020).

The pathophysiology of SAH and T2DM is multifactorial. However,

these diseases have inflammaging as a common risk factor (Gomes et al., 2019). In this case, although older individuals present a less effective immune response, there is an increase in the expression of circulating inflammatory molecules (Karen et al., 2011). Still, there is no precise understanding of the causes of "inflammaging aging". A common finding involves a dysregulation of the cytokine network and its homeostasis. Several common molecular pathways have been identified and appear to be associated with aging and low-grade inflammation (Lopes et al., 2021; Rea et al., 2018; Ribeiro et al., 2021).

Low-grade inflammation is a significant element of excess fatty tissue (Lechi, 2017). Immune system activation is highly related to the

\* Corresponding author.

E-mail addresses: [robson.amaro@gmail.com](mailto:robson.amaro@gmail.com), [ramaro@ufba.br](mailto:ramaro@ufba.br) (R.A.A. da Silva).



## Characterization of Brazilian green propolis as a photosensitizer for LED light-induced antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA)

Israel Souza Ribeiro<sup>1,2</sup> · Igor Pereira Ribeiro Muniz<sup>1</sup> · Maria Poliana Leite Galantini<sup>1</sup> · Caroline Vieira Gonçalves<sup>1</sup> · Paulo Henrique Bispo Lima<sup>1</sup> · Emely Soares Silva<sup>1</sup> · Nathalia Rosa Silva<sup>1</sup> · Francine Cristina Silva Rosa<sup>1</sup> · Luciano Pereira Rosa<sup>1</sup> · Dirceu Joaquim Costa<sup>3</sup> · Juliano Geraldo Amaral<sup>1</sup> · Robson Amaro Augusto da Silva<sup>1</sup>

Received: 22 July 2023 / Accepted: 11 October 2023  
 © The Author(s), under exclusive licence to European Photochemistry Association, European Society for Photobiology 2023

### Abstract

*Staphylococcus aureus* is the primary cause of skin and soft tissue infections. Its significant adaptability and the development of resistance are the main factors linked to its spread and the challenges in its treatment. Antimicrobial photodynamic therapy emerges as a promising alternative. This work aimed to characterize the antimicrobial photodynamic activity of Brazilian green propolis, along with the key bioactive compounds associated with this activity. Initially, a scanning spectrometry was conducted to assess the wavelengths with the potential to activate green propolis. Subsequently, reference strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA ATCC 43300) and vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA ATCC 700699) were exposed to varying concentrations of green propolis: 1 µg/mL, 5 µg/mL, 10 µg/mL, 50 µg / mL and 100 µg/mL and were stimulated by blue, green or red LED light. Finally, high-performance liquid chromatography coupled with a diode array detector and tandem mass spectrometry techniques, along with classic molecular networking analysis, was performed to identify potential bioactive molecules with photodynamic activity. Brazilian green propolis exhibits a pronounced absorption peak and heightened photo-responsiveness when exposed to blue light within the range of 400 nm and 450 nm. This characteristic reveals noteworthy significant photodynamic activity against MRSA and VISA at concentrations from 5 µg/mL. Furthermore, the propolis comprises compounds like curcumin and other flavonoids sourced from flavone, which possess the potential for photodynamic activity and other antimicrobial functions. Consequently, Brazilian green propolis holds promise as an excellent bactericidal agent, displaying a synergistic antibacterial property enhanced by light-induced photodynamic effects.

✉ Robson Amaro Augusto da Silva  
 robson.amaro@gmail.com

<sup>1</sup> Universidade Federal da Bahia, Campus Anísio Teixeira—Instituto Multidisciplinar Em Saúde, Rua Hormílio Barros, 58, Bairro Candeias, CEP: 45.029-094 Vitória da Conquista, Bahia, Brasil

<sup>2</sup> Universidade Federal Do Sul da Bahia, Campus Paulo Freire, 250 Praça Joana Angélica, Bairro São José, 45.988-058 Teixeira de Freitas, Bahia, Brasil

<sup>3</sup> Universidade Estadual Do Sudoeste da Bahia, Campus Vitória da Conquista, Av. Edmundo Silveira Flores, 27-43—Lot. Alto da Boa Vista, CEP: 45029-066 Vitória da Conquista, Bahia, Brasil



#### BIOMEDICAL SCIENCES

## Diabetes and hypertension in elderly women: interactions between severity and failure to control inflammation

PAULO HENRIQUE B. LIMA, CAROLINE V. GONCALVES, ISRAEL S. RIBEIRO,  
 MARIA POLIANA L. GALANTINI, IGOR P.R. MUNIZ, GILVANÉIA S. SANTOS &  
 ROBSON A.A. DA SILVA

**Abstract:** Elderly women are more susceptible to the development of chronic non-communicable diseases. Among these, diabetes *mellitus* (DM) and systemic arterial hypertension (SAH) stand out. This work aimed to carry out an expanded study on the interactions of anthropometric, biochemical and inflammatory parameters associated with the risk of severity in elderly women with hypertension and diabetes. The study involved the evaluation of 126 elderly women with hypertension and diabetes *mellitus*. The women were divided according disease severity (low, moderate, high and very high). Anthropometric data were collected by bioimpedance analysis. The inflammatory and biochemical data were obtained from volunteer blood samples. Waist circumference, waist circumference/height ratio, and systolic and diastolic pressures increased with severity. Biochemical marker levels increased with risk of severity, except HDLc. In the very high risk group, there was a higher IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$  production, however, lower IL-10 levels were observed. The very high risk group showed change values for the IL-10/IL-1 $\beta$ , IL-10/IL-17 and IL-10/TNF- $\alpha$  ratios. The results showed to be extensively altered in the very high risk group, where the inflammatory profile loses its responsiveness. This is the first study that shows an expanded view of the different parameters evaluated in elderly women with hypertension and diabetes.

**Key words:** Diabetes *mellitus*, systemic arterial hypertension, elderly, inflammation.

### INTRODUCTION

Given the metabolic and hormonal changes in women in the postmenopausal period, they are more susceptible to the development of chronic noncommunicable diseases (NCDs) (Orsatti et al. 2008, Steiner et al. 2014). In this scenario, NCDs are long-term and slowly progressive multifactorial diseases, especially heart disease and diabetes *mellitus* (World Health Organization 2014, Malta et al. 2020, Westphal et al. 2021).

In the scenario of NCDs, systemic arterial hypertension and diabetes *mellitus* are interrelated diseases, causing metabolic,

hormonal, inflammatory and blood pressure alterations that configure one of the main risk factors for the development of severe complications such as increased risk and severity of the disease (De Souza et al. 2008).

In this sense, biomarkers can be used as a tool for risk assessment and offer a better understanding of disease processes. In addition, they can provide an objective measure of the severity of the disease, collaborating with future actions in the prediction and stratification of risk groups, contributing to the monitoring of clinical interventions in different groups, such



## Antimicrobial photodynamic therapy with Brazilian green propolis controls intradermal infection induced by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and modulates the inflammatory response in a murine model

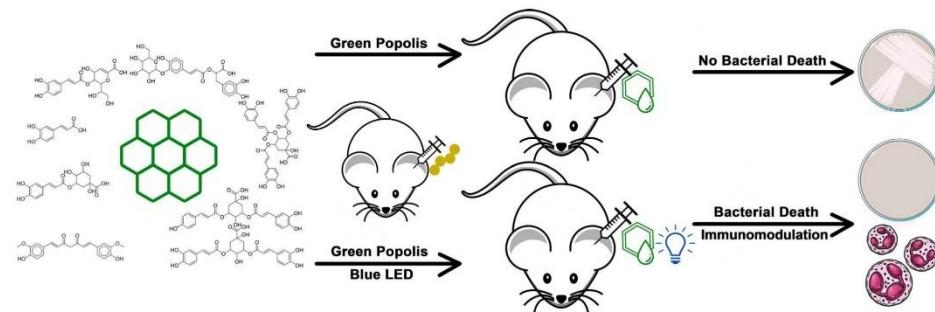
Israel Souza Ribeiro · Igor Pereira Ribeiro Muniz · Maria Poliana Leite Galantini · Caroline Vieira Gonçalves · Paulo Henrique Bispo Lima · Nathalia Rosa Silva, et al. [full author details at the end of the article]

Received: 18 November 2023 / Accepted: 13 January 2024  
 © The Author(s), under exclusive licence to European Photochemistry Association, European Society for Photobiology 2024

### Abstract

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is one of the leading causes of skin and soft tissue infections worldwide. This microorganism has a wide range of antibiotics resistance, a fact that has made the treatment of infections caused by MRSA difficult. In this sense, antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) with natural products has emerged as a good alternative in combating infections caused by antibiotic-resistant microorganisms. The objective of the present study was to evaluate the effects of aPDT with Brazilian green propolis against intradermal MRSA infection in a murine model. Initially, 24 Balb/c mice were infected intradermally in the ears with  $1.5 \times 10^8$  colony-forming units of MRSA 43300. After infection, they were separated into 4 groups (6 animals per group) and treated with the vehicle, only Brazilian green propolis, only blue LED light or with the aPDT protocol (Brazilian green propolis + blue LED light). It was observed in this study that aPDT with Brazilian green propolis reduced the bacterial load at the site of infection. Furthermore, it was able to inhibit weight loss resulting from the infection, as well as modulate the inflammatory response through greater recruitment of polymorphonuclear cells/neutrophils to the infected tissue. Finally, aPDT induced an increase in the cytokines IL-17A and IL-12p70 in the draining retromaxillary lymph node. Thus, aPDT with Brazilian green propolis proved to be effective against intradermal MRSA infection in mice, reducing bacterial load and modulating the immune response in the animals. However, more studies are needed to assess whether such effects are repeated in humans.

### Graphical abstract



**Keywords** Brazilian green propolis · Antimicrobial photodynamic therapy · Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*



#### MICROBIOLOGY

## Physical activity reduces intradermal bacterial load in a murine model submitted to forced swim training – a pilot study

MARIA P.L. GALANTINI, LORENA S. LEAL, KARINE B. RODRIGUES, ISRAEL S. RIBEIRO, ITALO S. PEREIRA, CAROLINE V. GONÇALVES, STÉFANO P.M. CALADO, DENISAR P. DOS SANTOS, IGOR P.R. MUNIZ & ROBSON A.A. DA SILVA

**Abstract:** Regular exercise is beneficial to health. This study evaluated the effects of moderate and intense physical exercise modalities on intradermal infection by *Staphylococcus aureus* in a murine model. Mice that practiced moderate exercise had lower bacterial load on lymph nodes and less inflammatory infiltrate in dermis. They presented greater weight, however, less amount of epididymal fat: the weight was increased while they had fat diminished. A positive correlation was observed between lipid content and bacterial load in mice trained at moderate intensity. Animals that were under high intensity exercises presented superior bacterial load on the lymph nodes, increased neutrophil count and circulating lymphocytes, and had leukocyte recruitment to the dermis augmented, when compared to the ones in moderate exercise. These findings suggest that moderate physical activity modulates the immune response in dermal infection caused by *S. aureus* in a murine model.

**Key words:** infection, mice, physical exercise, *Staphylococcus aureus*.

### INTRODUCTION

Moderate physical exercise represents a resistance factor for the onset of infections by stimulating the immune system protective response (Viana et al. 2014). However, high intensity exercises may lead to increased susceptibility to infectious conditions (Nieman 2007, Priebe et al. 2009). The duration, intensity, and frequency of exercise can directly influence the formulation of a protective response by modulating the number of circulating or recruited leukocytes to the infectious site (Nieman & Nehlsen-Cannarella 1994, Matthews et al. 2002, Escribano et al. 2005, Nieman et al. 2011, Araneda et al. 2016, Lu et al. 2017).

The fluctuation in leukocyte concentration in different body regions is determined by

pathophysiological reactions (Natale et al. 2003). Chronic moderate physical exercise has been associated with an increment in the proliferative response of T lymphocytes and in the number of neutrophils, thus, intensifying antimicrobial and phagocytosis functions (Malm 2004, Yeh et al. 2014, Gomes et al. 2016).

Neutrophils and lymphocytes are key cells in control of infections caused by *Staphylococcus aureus* (Harrington et al. 2005, Sladek & Rysanek 2006, Hill & Imai 2016). Neutrophil recruitment and abscess formation are characteristic of *S. aureus* infections and are required for the pathogen elimination (Kobayashi et al. 2015).

*S. aureus* is a gram-positive bacteria and catalase-positive cocci. This pathogen generally is an unencapsulated bacteria, has approximately 0.5 to 1.5  $\mu\text{m}$  in diameter, is immobile, and

09/04/25, 00:02

The sweet fuel of inflammation: New perspectives on the complex web that interconnects diabetes - ScienceDirect



ScienceDirect®

## Experimental Gerontology

Volume 167, 1 October 2022, 111905

# The sweet fuel of inflammation: New perspectives on the complex web that interconnects diabetes

Maria Poliana Leite Galantini <sup>a</sup>, Israel Souza Ribeiro <sup>a b</sup>, Caroline Vieira Gonçalves <sup>a</sup>,  
Igor Pereira Ribeiro Muniz <sup>a</sup>, Paulo Henrique Bispo Lima <sup>a</sup>, Gilvanéia Silva Santos <sup>a</sup>,  
Robson Amaro Augusto da Silva <sup>a</sup>

Show more

Share Cite

<https://doi.org/10.1016/j.exger.2022.111905>

[Get rights and content](#)

### Highlights

- Pro-inflammatory cytokines increase as the risk of cardiovascular disease increases.
- Interactions between biomarkers are lost as the risk increases.
- Hyperglycemia is the center of inflammation, contributing to increased inflammation and cardiovascular risk.
- Physical activity is able to modulate different systems in search of homeostasis.

### Abstract

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0531556522002133>

1/9



## Evaluation of different protocols using antimicrobial photodynamic therapy with curcumin and blue led light control of *Escherichia coli* in vitro

Igor Pereira Ribeiro Muniz<sup>1,2</sup>, Stefano Pedro de Melo Calado<sup>1</sup>, Israel Souza Ribeiro<sup>1,3</sup>, Maria Poliana Leite Galantini<sup>1</sup>, Caroline Vieira Gonçalves<sup>1</sup>, Luciano Pereira Rosa<sup>1</sup>, Francine Cristina Silva Rosa<sup>1</sup> and Robson Amaro Augusto da Silva<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto Multidisciplinar em Saúde, Campus Anísio Teixeira, Universidade Federal da Bahia, Rua Hormindo Barros, 58, Bairro Candeias, 45029-094, Vitória da Conquista, Bahia, Brazil. <sup>2</sup>Departamento de Ciências da Saúde, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Campus Vitória da Conquista, Vitória da Conquista, Bahia, Brazil. <sup>3</sup>Universidade Federal do Sul da Bahia, Teixeira de Freitas, Bahia, Brazil. \*Author for correspondence. E-mail: robson.amaro@gmail.com

**ABSTRACT.** *Escherichia coli* (*E. coli*) is a gram-negative bacterium extremely relevant in the context of public health, being involved in the development of several diseases worldwide. The main treatment available for infections caused by *E. coli* is the use of antibiotics. However, several strains of this bacterium have shown resistance to available antibiotics, necessitating the development of alternative treatment methodologies. In this scenario, Antimicrobial Photodynamic Therapy (aPDT) emerges as an excellent viable alternative to antibiotic use. This study aimed to standardize protocols based on aPDT utilizing curcumin as photosensitizer activated by blue LED light for the control of *E. coli* *in vitro*. Curcumin solutions of 60, 80, and 100 µg mL<sup>-1</sup> were made and photoactivated by blue LED light with fluencies of 6.6, 13.2, and 19.8 J cm<sup>-2</sup>. *E. coli* (ATCC® 25922™) was cultured for 24 hours at 37 °C. Bacterial suspensions of 1.5 × 10<sup>6</sup> CFU mL<sup>-1</sup> were exposed to aPDT treatments. Control groups were established for each light dose and curcumin concentration. Protocols using 80 and 100 µg mL<sup>-1</sup> curcumin solution with 19.8 J cm<sup>-2</sup> irradiation effectively inhibited bacterial growth, suggesting significant antibacterial activity (p-value < 0.05), and are recommended for this purpose.

**Keywords:** microbiology; photochemotherapy; optics and photonics.

Received on March 20, 2023  
 Accepted on August 22, 2024

### Introduction

*Escherichia coli* is a Gram-negative and aerobic facultative bacillus belonging to Enterobacteriaceae family, commonly found in the microbiota of mammals, and residing commensally in the small intestine (Jang et al., 2017). Although *E. coli* is typically part of the human microbiota, some strains have pathogenic potential and can cause several diseases such as urinary infections, diarrhea, gastrointestinal infections, and extraintestinal infections such as mastitis, meningitis, and sepsis (Balière, Rincé, Delannoy, Fach, & Gourmelon, 2016; Jang et al., 2017). Among pathogenic *E. coli* strains, enteropathogenic (EPEC), uropathogenic (UPEC) and Shiga toxin (STEC) producers are the main strains responsible for disease in humans (Balière et al., 2016). Diarrhea caused by *E. coli* results in approximately 700-800 million cases annually, leading to the death of 300,000 to 500,000 people worldwide each year (Kim, Cho, & Rhee, 2017). Urinary tract infections are also primarily caused by *E. coli* and affect over 150 million people annually in the United States (Flores-Mireles, Walker, Caparon, & Hultgren, 2015).

The conventional treatment for infections caused by *E. coli* consists involves the use of antibiotics. However, due to the misuse of antibiotics, many strains of *E. coli* have developed resistance to available antibiotics by selective genetic pressure and horizontal gene transfer among them (Alekish, Ismail, Albiss, & Nawasrah, 2018). These changes enhance the bacteria's ability to evade and resist these medications, increasing the need for alternative treatments to combat such infections (Martinez, 2014). In this context, many studies have displayed the bactericidal effect of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) and its



## Synergistic antimicrobial effects of coffee green extract and oil microemulsions enhanced by photodynamic therapy: A strategy against antibiotic resistance



Paulinhe M. Lima<sup>a</sup>, Catarina S. Guimarães<sup>a</sup>, Caroline V. Gonçalves<sup>a</sup>, Caio C. Pereira<sup>a</sup>, Laryana B. Garcia<sup>a</sup>, Isabela D. dos Santos<sup>a</sup>, Jayne F.S. Oliveira<sup>a</sup>, Micaela S.C. Silva<sup>a</sup>, Mateus F. Leite<sup>b</sup>, André L.M. Ruela<sup>c</sup>, Robson A.A. da Silva<sup>a</sup>, Gabriel A.B. Damasceno<sup>a</sup>, Denise B. da Silva<sup>d</sup>, Juliano G. Amaral<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal da Bahia, Campus Anísio Teixeira, Instituto Multidisciplinar de Saude, Rua Hormindo Barros, 58, Candeias, Vitória da Conquista, 45029094, Bahia, Brazil

<sup>b</sup> Universidade Federal de Alfenas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Rua Gabriel Monteiro da Silva, Alfenas, Centro, 37130001, Minas Gerais, Brazil

<sup>c</sup> Universidade Federal de Ouro Preto, Escola de Farmácia, Departamento de Farmácia, Morro do Cruzeiro, Bauxita, Ouro Preto, 35400000, Minas Gerais, Brazil

<sup>d</sup> Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição, Av. Costa e Silva, Universitário, 79002970, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil

### ARTICLE INFO

**Keywords:**  
Nanotechnology  
Bioeconomy  
Bioactive compounds  
Pharmaceuticals  
Natural products  
Photosensitizer

### ABSTRACT

Coffee is one of the main tropical crops, with Brazil accounting for more than a third of global production. It contains bioactive compounds such as chlorogenic acids that provide health benefits, such as antimicrobial activity, and is a natural alternative in combating antibiotic resistance, currently one of the major global threats to public health. Additionally, antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) has also emerged as a way to overcome microbial resistance, using photosensitizers, light and oxygen to generate reactive species that eliminate microorganisms. Microemulsions were prepared by the spontaneous emulsification method, containing green coffee oil and extract, stabilized by surfactants. The dispersed systems obtained presented droplet size of approximately 25–60 nm, PDI of 0.088–0.290 and zeta potential of approximately –12 to –25 mV, at different temperatures and stability tests. In addition, they demonstrated Newtonian fluid behavior with a viscosity of approximately 30 cP. Furthermore, they were effective in treating microorganisms at lower doses than previously reported in the literature and were enhanced when associated with photodynamic therapy, acting at a minimum concentration of green coffee extract of 250 µg ml<sup>-1</sup> and when photoactivated, acting at 125 µg ml<sup>-1</sup>, and they also exhibited activity in the absence of the incorporated extract. This study reveals a product that structures the use of plant-derived substances in the pharmaceutical industry, stimulating the bioeconomy and contributing to family farming, considering the economic importance of coffee in Brazil.

### 1. Introduction

Coffee is one of the most important tropical crops worldwide, with its cultivation occupying 1 million hectares of the 1.59 billion ha dedicated to permanent crops worldwide [1]. The earliest substantiated evidence of either coffee drinking or knowledge of the coffee tree is from the 15th century, in the Sufi monasteries of Yemen. In the 16th century, coffee spread throughout the world, with America being one of the last places to receive the coffee seed [2]. Today, Brazil, Vietnam and Colombia are

responsible for about 50 % of the world-coffee production, and Brazil alone responds for more than one third of the global coffee production and exports [3].

The chemical composition of coffee beans depends on the species, variety, and fruit ripeness as well as the environment, bean harvesting methods, and storage conditions [4]. But in general, consists of several bioactive components including chlorogenic acid (CGA), trigonelline, caffeine, diterpenes, such as cafestol and kahweol, fatty acids, sterols, among others [5,6]. Due to the presence of these compounds, coffee not

\* Corresponding author.

E-mail address: amaraljg@yahoo.com.br (J.G. Amaral).

## ANEXO 4

**Artigo com os dados do doutorado publicado na revista *Advanced Biology***

# Illuminating New Frontiers: Exploring the Photosensitizing Potential of *Passiflora* Species in Combating Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Their Infection in Senescent Mice

Caroline Vieira Gonçalves, Maria Poliana Leite Galantini, Igor Pereira Ribeiro Muniz, Paulo Henrique Bispo Lima, Israel Souza Ribeiro, Maria Eduarda Santos de Oliveira, Caio Oliveira Lopes de Magalhães, Maria Elisa Santos Flores, Samara Lopes de Oliveira, Catarina Silva Guimarães, Paulinne Moreira Lima, Luísa Carregosa Santos, Daiana Silva Lopes, Juliano Geraldo Amaral, and Robson Amaro Augusto da Silva\*

Antimicrobial Photodynamic Therapy (aPDT) has become a potential alternative for treating multidrug-resistant bacterial skin infections, such as those caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), which are at high risk in aging individuals. One of the main components of aPDT is an agent known as a photosensitizer (PS). Some plants with high flavonoid content are reported as PS. In the genus *Passiflora*, flavonoids are predominant, but their photosensitizing activity has yet to be described. This study investigates the photosensitizing potential of extracts from *Passiflora edulis*, *Passiflora alata*, and *Passiflora cincinnata*. The butanolic fraction of *P. cincinnata* undergoes *in vivo* evaluation against intradermal MRSA infection in a senescent murine model (C57BL/6). *In vitro* assays determine the photoactivatable concentrations and their cytotoxicity. *In vivo*, MRSA-infected mice are divided into control, *P. cincinnata*-treated, and aPDT-treated groups. Subsequent assessments include cytokine levels, bacterial load, and cellular infiltrate in the ear. The *P. cincinnata*-treated group exhibits improved bacterial control, reduced leukocyte infiltration, and less weight loss. The aPDT group demonstrates a unique cytokine correlation profile, featuring more negative correlations among pro-inflammatory cytokines and interleukin-10. *P. cincinnata* emerges as an effective photosensitizer for aPDT in a senescent model and highlights the potential of underexplored plant-derived photosensitizers.

## 1. Introduction

The elderly represent the population with the highest risk of infections and the worst prognosis for infectious diseases.<sup>[1]</sup> This

includes the high risk of skin and soft tissue infections due to several factors, with multiple comorbidities and skin conditions predisposing them to develop these infections, which are usually caused by *S. aureus*.<sup>[2,3]</sup> An example of these factors is skin thickness, which changes with age, tending to become thinner over time.<sup>[4]</sup> Furthermore, aging reduces the functional capacity of the skin, resulting in the attenuation of its protective effects and immunological dysfunction. Consequently, opportunistic skin infections and the development of chronic wounds, which serve as entry points for infectious agents, are more common in elderly patients.<sup>[5]</sup>

*S. aureus* is a pathogen that causes skin and soft tissue infections as well as serious invasive diseases such as sepsis and endocarditis.<sup>[6]</sup> Despite being one of the first microorganisms to be controlled with the discovery of antibiotics, it has become one of the most important species in the context of hospital and community infections due to its ability to adapt and resist, as is the

case with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).<sup>[7,8]</sup> In parallel with the difficulty in finding effective drugs against MRSA, there is significant concern about infection control in immunosenescent individuals.<sup>[9,10]</sup>

 The ORCID identification number(s) for the author(s) of this article can be found under <https://doi.org/10.1002/adbi.202500254>

© 2025 The Author(s). Advanced Biology published by Wiley-VCH GmbH. This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution License](#), which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

DOI: [10.1002/adbi.202500254](https://doi.org/10.1002/adbi.202500254)

C. V. Gonçalves, M. P. L. Galantini, I. P. R. Muniz, P. H. B. Lima, M. E. S. de Oliveira, C. O. L. de Magalhães, M. E. S. Flores, S. L. de Oliveira, C. S. Guimarães, P. M. Lima, L. C. Santos, D. S. Lopes, J. G. Amaral, R. A. A. da Silva  
Multidisciplinary Institute of Health  
Anísio Teixeira Campus - Federal University of Bahia  
Rio de Contas Street, 58, Candeias, Vitória da Conquista, Bahia CEP:  
45.029-094, Brazil  
E-mail: [ramaro@ufba.br](mailto:ramaro@ufba.br)

In this regard, the World Health Organization (WHO) has identified MRSA as a high priority for the development of new therapeutics.<sup>[11]</sup> New antimicrobials emerged after the discovery of sulfonamides and penicillin in the early 20th century, marking the beginning of the golden age of new-class conquest, which peaked in the mid-1950s.<sup>[12,13]</sup> However, since then, there has been a gradual decline in the discovery and development of new antibiotics, which have not kept pace with the emergence of new resistant strains.<sup>[14]</sup> This factor contributes to its indiscriminate use, culminating in the current antimicrobial resistance crisis.<sup>[15]</sup> Furthermore, most small molecules currently in clinical development or recently approved are modifications of existing chemical structures.<sup>[16]</sup> In the face of this growing threat, researchers have explored various innovative alternatives to combat pathogens such as MRSA. These efforts range from the engineering of materials with novel antibacterial functionalities to the investigation of alternative therapies,<sup>[17–19]</sup> including compounds of natural origin.<sup>[20–22]</sup>

In light of these issues, Antimicrobial Photodynamic Therapy (aPDT) has emerged as a potential alternative for treating multidrug-resistant bacterial infections.<sup>[23]</sup> In the skin, aPDT has been shown to reduce MRSA colonies.<sup>[24–28]</sup> However, no study has aimed at this analysis in a murine model of senescence with intradermal infection. The development of this model is important since the murine model of MRSA infection in senescent mice captures the characteristic clinical finding that elderly individuals are more susceptible to invasive disease after cutaneous infection, which may result from grossly permeable barrier function and decreased innate immunity in these animals.<sup>[29]</sup> Moreover, when combined with aPDT, it could provide necessary guidance for understanding therapies aimed at immunosenescence.<sup>[30–32]</sup>

aPDT employs a combination of photosensitizers with a specific light source, capable of generating molecules that act selectively.<sup>[33]</sup> Therefore, one of the main components of PDT is the chemical agent called photosensitizer (PS).<sup>[34]</sup> For it to be effective, the choice of photosensitizers is crucial. In this regard, studying new compounds is of fundamental importance for identifying new candidates for photosensitizers that may be suitable for controlling infections caused by antibiotic-resistant bacteria.<sup>[35–37]</sup> Recent studies have demonstrated the ability of certain compounds, such as plants with a high flavonoid content, to exhibit antimicrobial photodynamic activity.<sup>[24]</sup>

Phytochemical studies of *Passiflora* have demonstrated the presence of several chemical compounds such as alkaloids, saponins, and cyanogenic acids, the most frequently reported being: Flavonoids C-glycosides.<sup>[38,39]</sup> This is the case of some *Passiflora* species, such as *P. edulis*, *P. alata*, and *P. cincinnata*, with no current description regarding their antimicrobial activity and photosensitizing capacity.<sup>[40]</sup> Among these species, *Passiflora cincinnata* is the least reported in the literature, but it contains flavonoids in its major compounds.<sup>[41]</sup> This is a native species of the Caatinga (a biome exclusive to Brazil) with a wide geographic distribution, and little is known about its bioactive compounds.<sup>[42]</sup>

I. S. Ribeiro

Paulo Freire Campus - Federal University of Southern Bahia  
Joana Angélica Square, São José, 250, Teixeira de Freitas, Bahia CEP:  
45.988-058, Brazil

Given the above, this study aimed to evaluate the photosensitizing activity of *P. edulis*, *P. alata*, and *P. cincinnata* extracts. In this way, we used *P. cincinnata* to assess its use in aPDT against an intradermal infection caused by MRSA in a murine model of senescence using the C57BL/6 lineage.

## 2. Results

### 2.1. The Optimal Absorption of *Passiflora* spp. in the Visible Light Spectrum Was Observed in the Blue Range

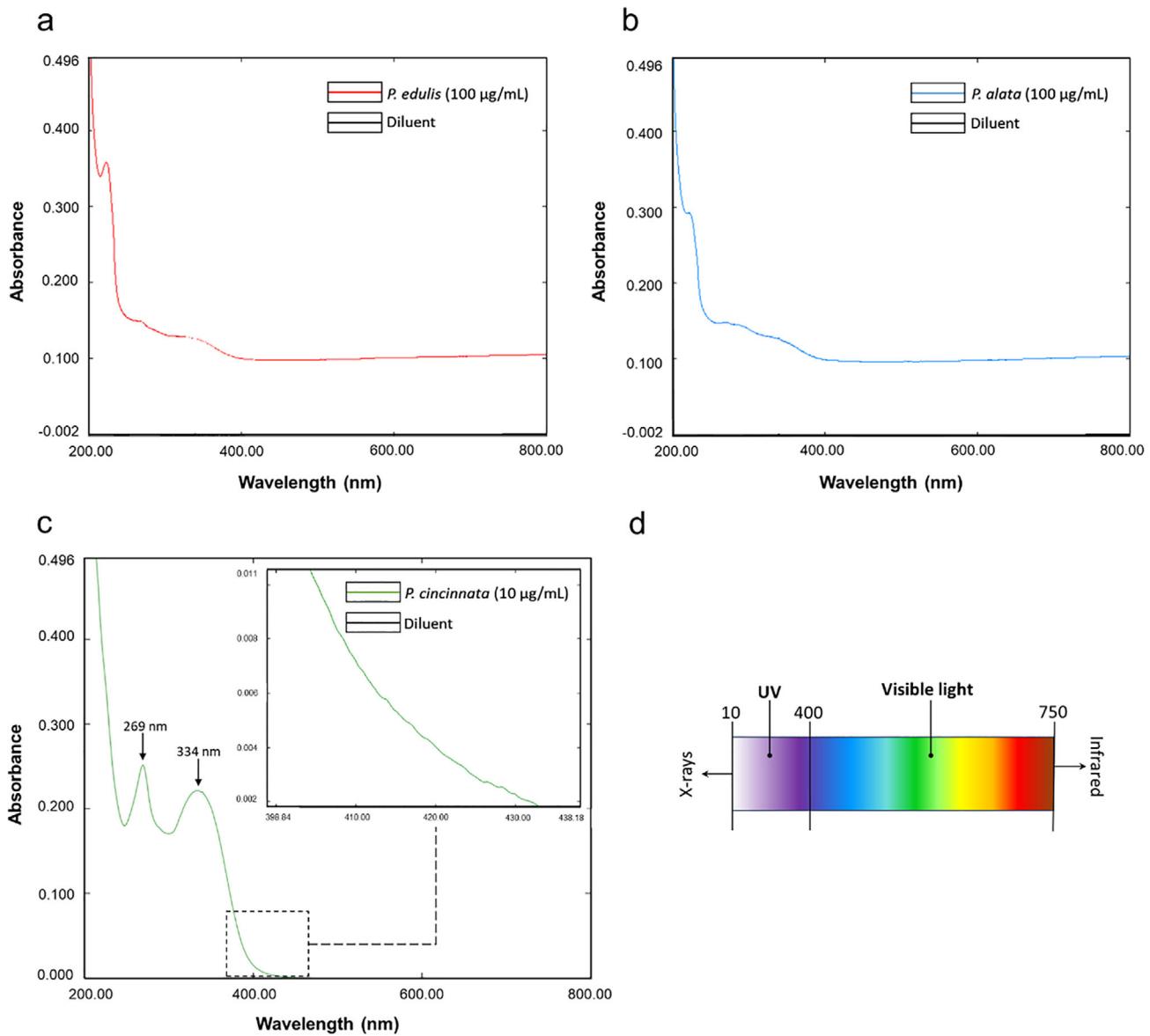
The scanning analysis was performed using a UV-vis absorption spectrophotometer to estimate at which wavelengths the *Passiflora* extracts absorb light, evaluating the interval between 200 and 800 nm. All the species of *Passiflora* tested in the study showed a growing peak in the blue light range, from 400 nm. However, *P. edulis* (Figure 1a) and *P. alata* (Figure 1b) demonstrated a lower absorption in this region compared to *P. cincinnata* (Figure 1c), necessitating their evaluation at different concentrations (concentrations were 100 µg mL<sup>-1</sup> for *P. edulis* and *P. alata*, and 10 µg mL<sup>-1</sup> for *P. cincinnata*). This was due to saturation observed in the *P. cincinnata* graph when tested at 100 µg mL<sup>-1</sup>. For *P. cincinnata*, the highest light absorption peak was observed in the UVA range at 269.50 and 334 nm. Although an increase at 400 nm corresponds to blue light, the most prominent peaks are observed in the UVA range. This does not exclude the possibility of photosensitizing activity within the visible light spectrum (Figure 1d).

### 2.2. Non-Cytotoxic Effects of *Passiflora* Extracts on HUVEC Cells In Vitro

To enable the use of *Passiflora* extracts in vivo, we conducted cytotoxicity tests in HUVEC cell cultures, employing different concentration ranges. HUVEC cells were specifically chosen because they are nucleated, making them a robust model for assessing potential cytotoxic effects. No cytotoxicity was observed for *P. edulis* (Figure 2a), *P. alata* (Figure 2b), *P. cincinnata* (Figure 2c), or their diluents.

### 2.3. *Passiflora* Extracts Tested Have a Photosensitizing Capacity Against MRSA

The results of the assays indicate that various *Passiflora* species exhibit photosensitizing activity against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). This activity was notably enhanced when the extracts were exposed to blue light, particularly at lower concentrations. Specifically: *P. edulis* (Figure 3a) and *P. alata* (Figure 3b) demonstrated a more effective photosensitizing capacity at a concentration of 1000 µg/mL. *P. cincinnata* (Figure 3c,d) exhibited significant photosensitizing activity at a concentration of 100 µg mL<sup>-1</sup>. These findings indicate that different *Passiflora* species vary in their photosensitizing effectiveness, with higher concentrations of *P. edulis* and *P. alata* required to achieve comparable effects to those observed with lower concentrations of *P. cincinnata*.



**Figure 1.** Scanning of *Passiflora* extracts in the UV-vis spectrum, evaluating the interval between 200 and 800 nm. Blue line: *Passiflora* extract. Black line: Diluent (distilled water). a) *P. edulis* scan. b) *P. alata* scan. c) *P. cincinnata* scan. d) Wavelength ranges of electromagnetic radiation.

#### 2.4. Animals with *P. cincinnata* Had Less Weight Variation

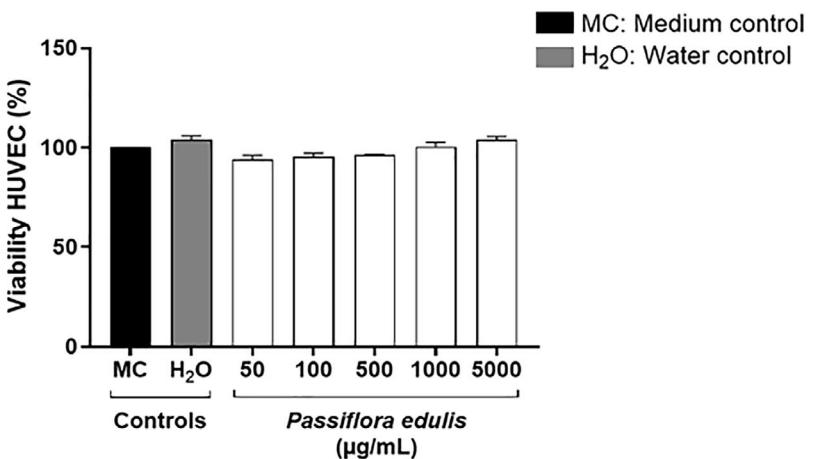
The results detail the evaluation of body weight over time and the Area Under the Curve (AUC) for weight loss in the treatment groups with Vehicle, *P. cincinnata*, and aPDT. Analysis of the percentage of weight loss reveals that the Vehicle group demonstrated the most significant loss, peaking at 48 h post-infection, with a subsequent but limited recovery (Figure 4a). In contrast, the *P. cincinnata*-treated groups exhibited the least weight loss, also peaking at 48 h, followed by a more pronounced and robust recovery by 72 h. These findings are corroborated by the AUC for weight loss, an integrated indicator of the magnitude and duration of weight loss, where lower values denote less total loss. The AUC data reinforce that treatment with *P. cincinnata* was

the most effective in mitigating infection-induced weight loss, as evidenced by both the lower percentage of weight loss over time and the smaller AUC, with statistical significance relative to the Vehicle group (Figure 4b).

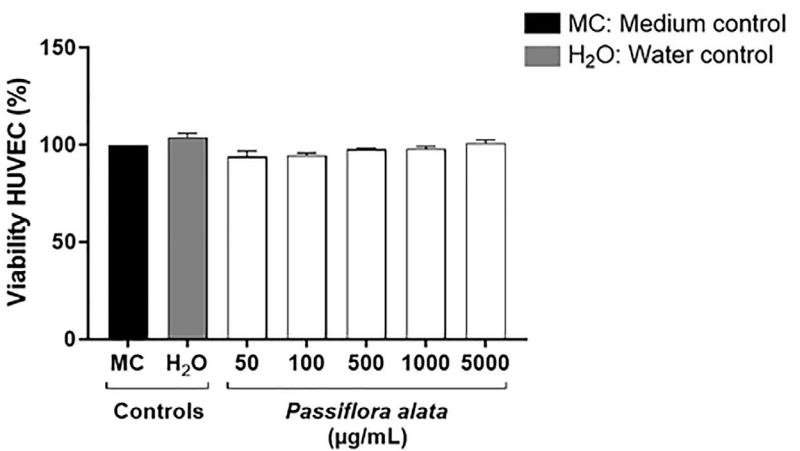
#### 2.5. Control Animals Had a Higher Leukocyte Cell Infiltrate and a Higher Bacterial Load

Animals in the control (Vehicle) group showed a higher bacterial load (Figure 5a) and a greater number of total leukocyte infiltrates (Figure 5b) and polymorphonuclear leukocytes (Figure 5c) compared to the group treated with *P. cincinnata*. There was also an increase in the number of mononuclear cells (Figure 5d) in

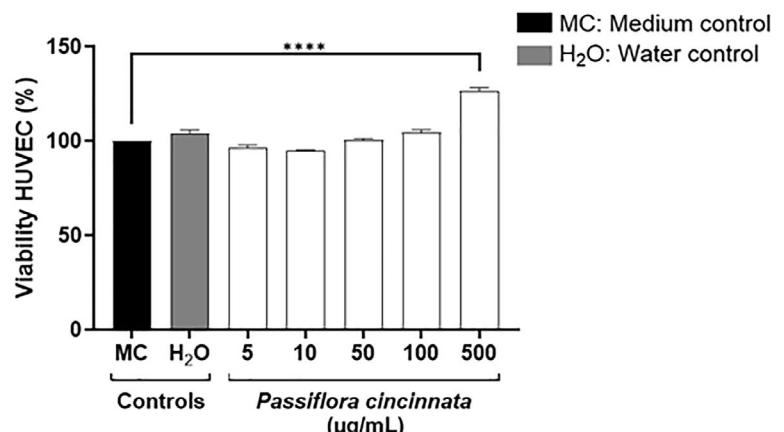
a



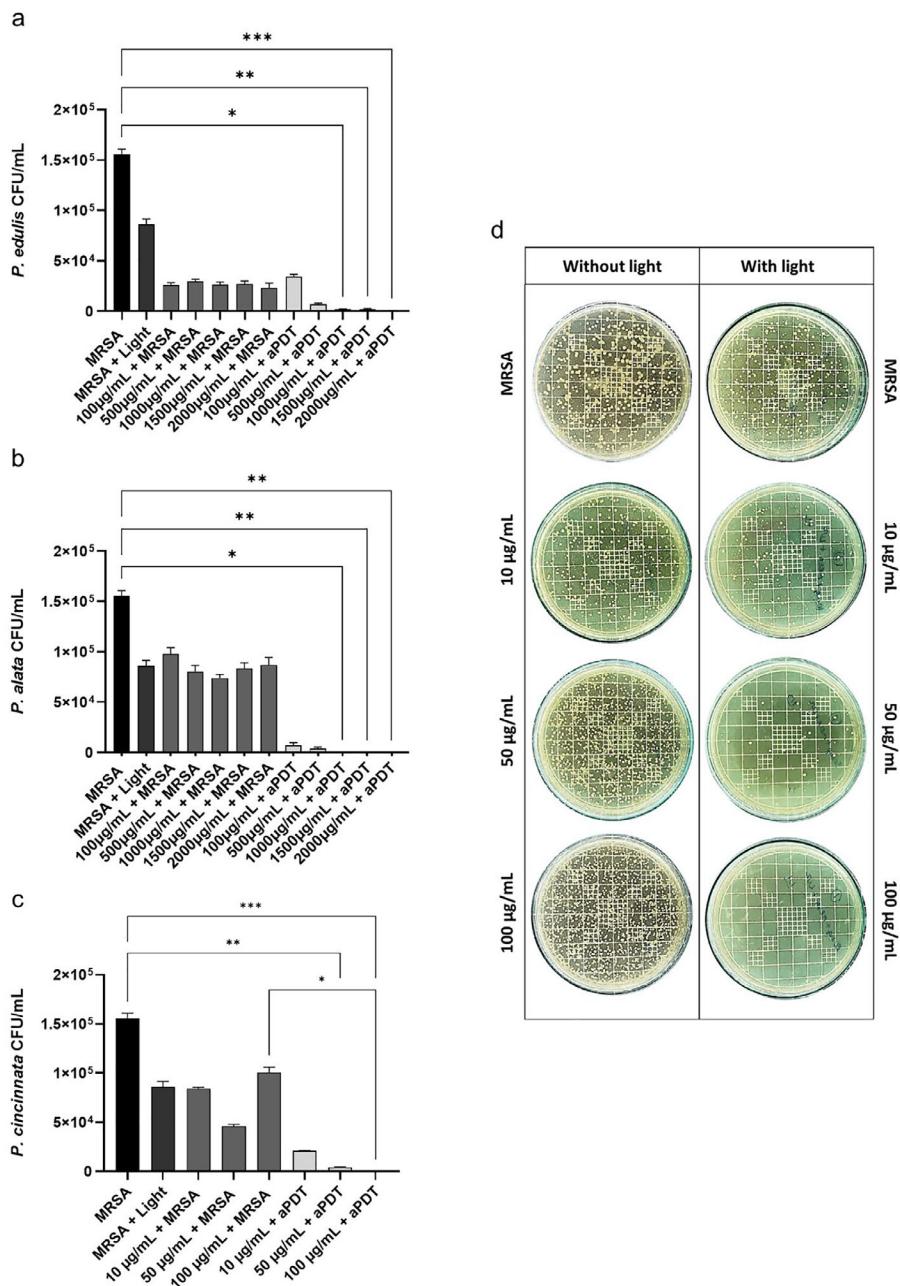
b



c



**Figure 2.** Cytotoxicity evaluation of *Passiflora* extracts in HUVEC cell culture by MTT assay. The HUVEC cells were seeded at  $3 \times 10^4$  per well in 96-well microplates. After treatment, cells were incubated with MTT to assess the viability of the HUVEC cells. a) The *P. edulis* extract. b) The *P. alata* extract. c) The butanolic fraction of *P. cincinnata* extract.

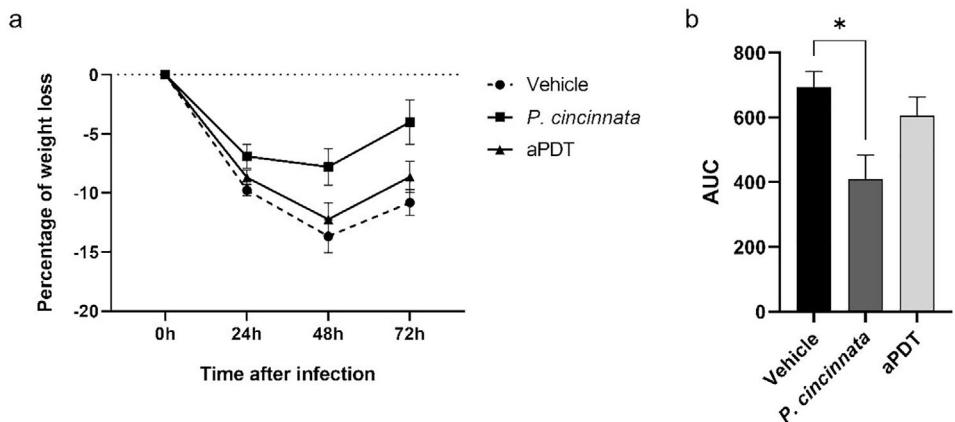


**Figure 3.** In vitro experiment evaluating the photosensitizing activity of *Passiflora* extracts. The *Passiflora* extracts tested were diluted in distilled water and used in concentrations of 2000, 1500, 1000, 500, and 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  for *P. edulis* and *P. alata*. In contrast, they were tested at 100, 50, and 10  $\mu\text{g mL}^{-1}$  for *P. cincinnata*. a) The photosensitizing activity of *P. edulis*. b) The photosensitizing activity of *P. alata*. c) Photosensitizing activity of the butanolic fraction of *P. cincinnata*. d) Culture plate of photosensitizing activity of butanolic fraction of *P. cincinnata*. The *p*-value was considered significant when represented by asterisks, where \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ .

the control group compared to animals treated with *P. cincinnata* and aPDT. In all results, the Vehicle group exhibited a significantly higher count compared to the treatments with the purified butanolic fraction of *P. cincinnata* and aPDT, indicating a reduction in inflammatory cell infiltration in treated animals. Histological images (Figure 5d) show tissue morphology and the presence of inflammatory cells, corroborating the quantitative results.

## 2.6. Cytokine Interacted Differently among Them in Draining Lymph Nodes

We observed that the animals did not have differences in production for all cytokines analyzed: IL-1 $\beta$  (Figure 6a), IL-12p70 (Figure 6b), IL-17A (Figure 6c), IL-10 (Figure 6d), and TNF- $\alpha$  (Figure 6e). In contrast, we observed differences in cytokine correlations among the vehicle (Figure 6f), *P. cincinnata* (Figure 6g),



**Figure 4.** Animal weight after intradermal infection and treatment. a) Weight loss percentage of each animal, considering its initial weight. b) The area under the percentage curve (AUC) for weight loss in each animal, referring to graph A. The *p*-value was considered significant when represented by asterisks, where \**p* < 0.05.

and aPDT (Figure 6b) groups. The positive correlations of IL-12p70 with IL-17 and IL-12p70 with IL-1 $\beta$  are present only in the *P. cincinnata* ( $r = 0.94$  and  $r = 0.99$ ) and aPDT ( $r = 0.88$  and  $r = 0.88$ ) groups, and are absent in the Vehicle group. We also observe the positive correlation of IL-10 with IL-17A in the Vehicle group ( $r = 0.93$ ) and TNF- $\alpha$  with IL-1 $\beta$  ( $r = 1.00$ ). The IL-17A with IL-1 $\beta$  correlates in both the Vehicle ( $r = 0.72$ ) and *P. cincinnata* ( $r = 0.89$ ) groups. In general, the movement of correlations differs between groups; there are more negative correlations in the aPDT group.

### 3. Discussion

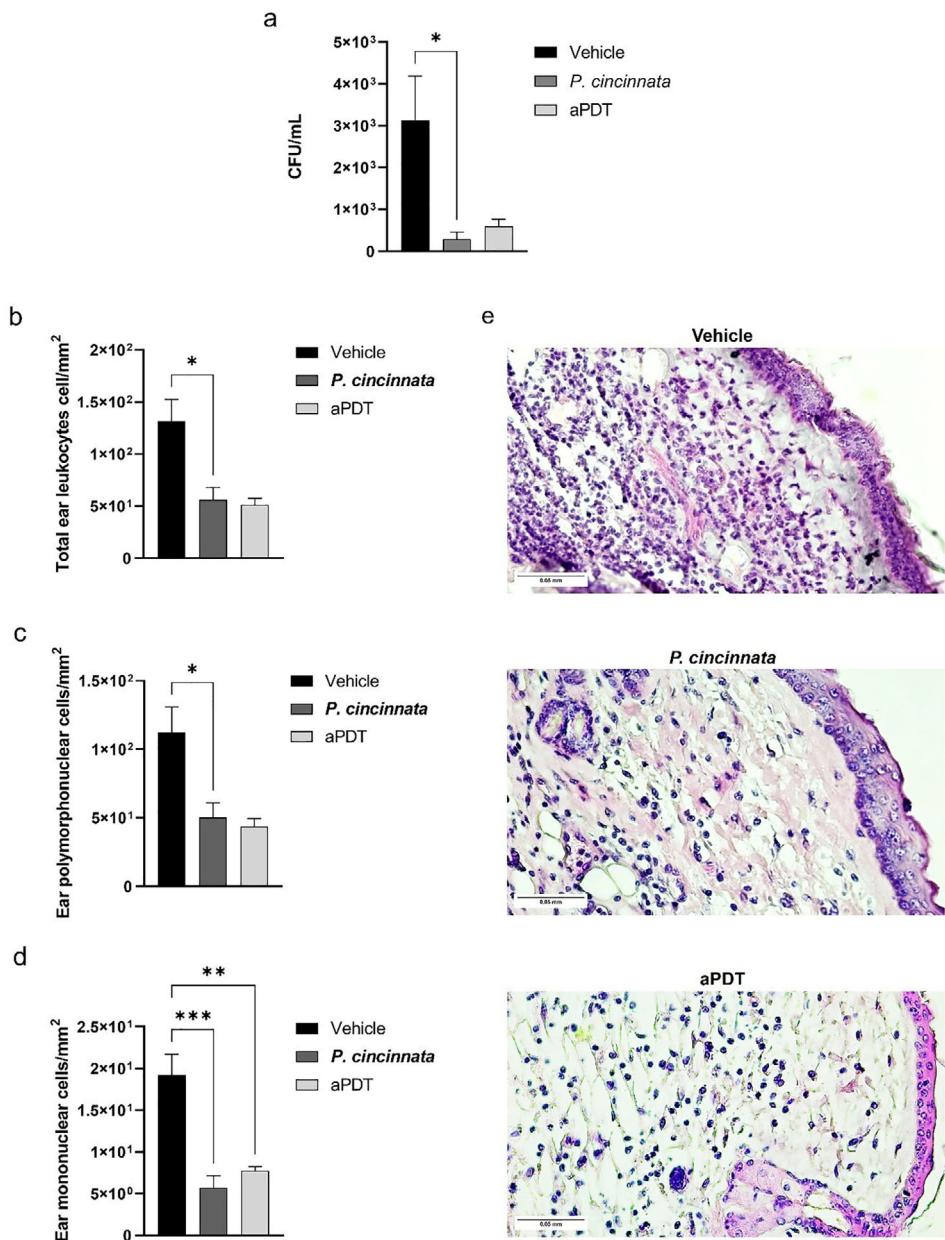
The results of this unprecedented study reveal the photosensitizing potential of different *Passiflora* species (*P. edulis*, *P. alata*, and *P. cincinnata*) against MRSA. Among the species analyzed, *P. cincinnata* (and its butanolic fraction) was selected for an in-depth investigation of its efficacy as a photosensitizer against MRSA infections in a murine senescence model. To our knowledge, this research is pioneering in exploring the photosensitizing properties of these species and the application of aPDT in a senescence model, particularly in animals (C57BL/6) with high melanin concentration.

In response to the challenge of antimicrobial resistance, researchers have explored various alternatives, seeking innovative solutions to combat pathogens such as *S. aureus*. This includes engineering of materials with novel antibacterial functionalities to the investigation of alternative therapies.<sup>[17–19]</sup> Other studies have been dedicated to exploring natural extracts against MRSA, both in vitro and in vivo models. They demonstrate the potential of bioactives in expanding the arsenal of compounds that may be promising against resistant microorganisms. The constituents of the extracts can act synergistically, enhancing the photosensitizing power.<sup>[24,43,44]</sup> Thus, increasing its action at low concentrations as observed by Ribeiro et al. (2023). In this study, we selected a plant genus that has been underexplored in terms of its activity against resistant microorganisms, specifically the *Passiflora* genus. This highlights its substantial potential for further exploration in more detailed research.

*Passiflora* is a genus belonging to the Passifloraceae family, with many species widely used in folk medicine and several pharmacological activities described in the scientific literature. Some biological properties of *Passiflora* have been demonstrated through in vitro and in vivo studies, related to activities such as antioxidant, analgesic, antidepressant, sedative, anxiolytic, anti-inflammatory, antimicrobial, antihypertensive, hepatoprotective, and antidiabetic effects.<sup>[45,46]</sup> Studies have identified several compounds, mainly the flavonoid C-glycosides, responsible for these activities.<sup>[47]</sup> From a search in the literature, it has been shown that species of the genus *Passiflora* have a high content of flavonoids.<sup>[48,49]</sup> Dos Santos et al. (2019) address that, possibly, extracts formed mainly through flavonoids may be responsible for the photodynamic activity of *Myrciaria cauliflora*.

However, no studies have explored the use of *Passiflora* species as photosensitizers. In Brazil, the species most commonly used in folk medicine are *P. alata* and *P. edulis*.<sup>[50]</sup> Therefore, few studies investigate the possible biological effects of *P. cincinnata* extracts.<sup>[51]</sup> Some of these demonstrate that extracts from the leaves, bark, and seeds of *P. cincinnata* have in vitro antimicrobial and anti-inflammatory activities, which are attributed to their phenolic compounds.<sup>[42,52]</sup> More specifically, the in vitro study by Siebra et al. (2018) assessed the antibiotic-modifying activity against *S. aureus* strains using a subinhibitory concentration of the extract. The extracts did not exhibit clinically relevant antimicrobial activity, with the minimum inhibitory concentration (MIC) being equal to or greater than 1024  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

Along the same lines, Siebra et al. (2014) showed that the antimicrobial activity of hydroalcoholic extracts of *P. cincinnata*, (from leaves, stems, bark, pulp, and seeds) did not reach clinical relevance.<sup>[53]</sup> However, the hydroalcoholic extract of *P. cincinnata* was presented as an antibacterial agent when associated with antibiotics. Its action profile was altered by the decrease in the minimum inhibitory concentration (MIC) of conventional antibiotics, suggesting that it can be developed as a new therapeutic weapon, potentiating aminoglycosides and beta-lactams, which are not very effective in the treatment of infections caused by MRSA.<sup>[47,52]</sup> In contrast, our in vitro results show that the butanolic fraction of photoactivated *P. cincinnata* at a concentration of 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$



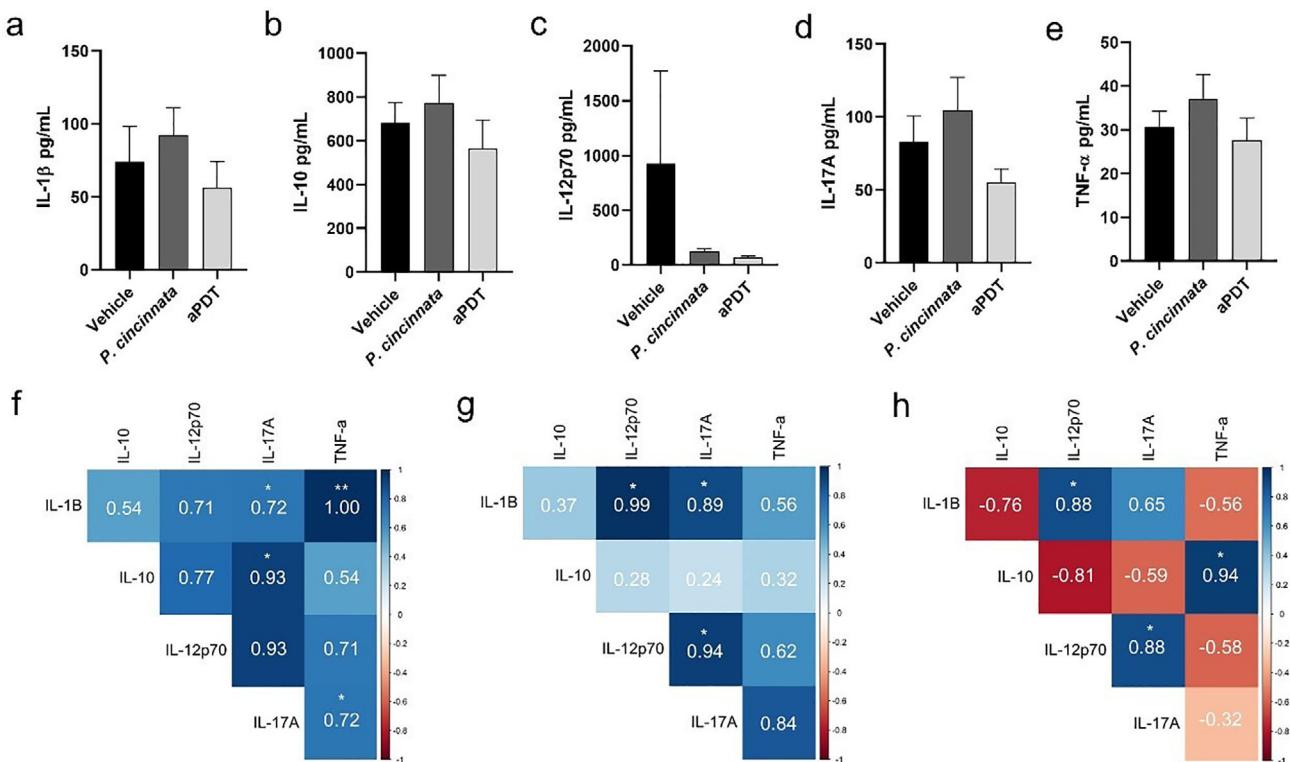
**Figure 5.** Bacterial load and leukocyte cell influx. Ears were sectioned to 4  $\mu$ m, and sections were stained with hematoxylin and eosin. The stained sections were viewed under optical microscopy using a 40X objective. a) Bacterial load of the ear macerate. b) Total count of all leukocyte cells present in the infiltrate. c) The number of polymorphonuclear leukocytes. d) The number of mononuclear leukocytes. e) Representative photomicrographs of the infiltrates taken with the 40X objective representing the vehicle, *P. cincinnata*, and aPDT groups. The p-value was considered significant when represented by asterisks, where \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ .

significantly reduces the bacterial load. This indicates that photoactivation enhances its effect.

This also applies to *P. edulis* and *P. alata*, though at concentrations ten times higher than those observed in photoactivated *P. cincinnata*, which may be attributed to the bioactive compounds present in the latter species. A doctoral thesis sought to enhance the understanding of *P. cincinnata* chemistry through a phytochemical investigation. The study isolated and identified key compounds, including isoorientin, isovitexin, isoscoparin, isovitexin-2"-O- $\beta$ -glucopyranoside, isovitexin-2"-O-

$\beta$ -xylopyranoside, and isoorientin-2-O- $\beta$ -xylopyranoside, which may contribute to its observed effects. Additionally, the phytochemical profile of the leaves and stems was analyzed using HPLC-DAD-IES-ITEMn, leading to the identification of 19 additional metabolites, primarily flavonoids and chlorogenic acid derivatives.<sup>[54]</sup>

Before testing the photosensitising activity, knowing which spectrum we could work with was necessary. By analyzing the best light absorption spectrum of *Passiflora* spp. tested, we found that the blue light spectrum is the closest to visible light in which



**Figure 6.** Cytokine assays in the ear-draining lymph nodes. Lymph nodes were macerated in 1 mL of sterile saline and centrifuged. a) Lymph node supernatant samples were used to measure cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-12p70, IL-17A, IL-10) by ELISA. b) IL-1 $\beta$ . c) IL-12p70. d) IL-17A. e) IL-10. f) Cytokine correlations in the Vehicle group. g) P. cincinnata group cytokine correlations. h) Cytokine correlations in the aPDT group. Corrplot version 0.84 was used for the correlation. Positive correlations were indicated in blue, and negative correlations in red. Darker color tones indicate higher r values. The p-values (p) were indicated based on Spearman or Pearson correlation tests (\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ).

there was light absorption, and for this reason, it was chosen to be analyzed in this study. The *P. cincinnata* showed a higher increasing absorption peak in this range than *P. edulis* and *P. alata*, demonstrating its great relevance in using aPDT. Therefore, research aimed at developing or using new photosensitizers becomes fundamental since the more photoactive compounds, the greater the possibilities for combating the infection caused by MRSA.<sup>[24,27]</sup> Thus, we found that among the species of the genus *Passiflora* studied, *P. cincinnata* stood out for having photosensitizing activity at lower concentrations than *P. edulis* and *P. alata* against MRSA. In addition, it was demonstrated that none of the *Passiflora* spp. tested were cytotoxic to eukaryotic cells.

Thus, *P. cincinnata* was chosen to be used in the infectious treatment of MRSA in senescent animals of the C57BL/6 lineage. Besides having immunosenescence, animals from this lineage could provide more knowledge about the possibilities of applying light-based therapies in individuals with large amounts of melanin, as observed in the study developed by Muniz et al. (2021), which used the same strain in a type 1 diabetes mellitus model of intradermal infection and treated with PDT. The importance of ex vivo activation studies becomes evident, particularly in understanding the impact of melanin on PDT, as limited studies have examined this interaction.<sup>[55]</sup> MRSA infection associated with senescence is challenging to control since it is related to the reduced effectiveness of the immune system in combating an infectious process.<sup>[56]</sup> In assessing the bioactivity of *P. cincinnata*

extracts and their application in aPDT with senescent animals, our findings indicate that treatment with *P. cincinnata* resulted in improved control of bacterial load, reduced leukocyte cell infiltration, and less weight loss throughout the MRSA infection process. Similarly, animals treated with aPDT exhibited trends comparable to those treated with *P. cincinnata* alone.

Aging individuals have several risk factors for skin and soft tissue infections. Changes in skin consistency and immunosenescence predispose this population to these infections. Changes in the dermal matrix, atrophy, senescence of dermal cells such as fibroblasts, and decreased synthesis coupled with accelerated breakdown of dermal collagen fibers increase susceptibility to skin infections. In addition, they have a high frequency of conditions associated with skin fragility, such as edema and trauma.<sup>[1,57]</sup> How advanced age contributes to invasive staphylococcal disease is not yet fully understood. Although many immunological defects (e.g., phagocytosis, oxygen reactive species) are associated with aging, the fundamental age-dependent cellular changes responsible for these defects are unknown. However, it is well known that cells from elderly individuals have altered mitochondrial functions, which may affect their ability to respond to external stimuli, including pathogens.<sup>[29]</sup>

Despite these facts, we observed that the animals treated with *P. cincinnata* and aPDT had less weight variation, probably because they controlled the infectious process better, more quickly and effectively,<sup>[58]</sup> not needing to recruit as many defense cells

after 72 h of the infectious. These data are interesting since other studies observe a more significant infiltration of leukocyte cells, mainly polymorphonuclear cells, in the groups subjected to aPDT, after 72 h of infection. However, it is worth mentioning that it was in a diabetes model.<sup>[25]</sup> The *P. cincinnata* can probably eliminate the microorganism in situ, bypassing the senescent immune system's difficulty in recruiting more leukocyte cells.<sup>[59]</sup> The critical point is that exacerbated inflammation would not be helpful in controlling the microorganisms in older individuals.<sup>[60]</sup>

It is important to highlight that after light stimulation, the PS enter an excited state and transfer their energy to molecular oxygen or nitrogen present in the cellular environment. This energy transfer leads to the formation of reactive oxygen species (ROS), including hydroxyl radicals, hydrogen peroxide, and singlet oxygen.<sup>[33]</sup> Due to their highly reactive nature, ROS have very short half-lives and are rapidly degraded or neutralized in the cellular environment.<sup>[61]</sup> The rapid degradation of these reactive species could explain the observed lack of differences between the *P. cincinnata* group without photoactivation and the control vehicle group. Furthermore, a limitation of our study is the relatively small number of animals used. Therefore, the ex vivo photoactivation in C57BL/6 animals might have influenced the results. Due to melanin's potential ability to interfere with PDT,<sup>[27,55]</sup> as previously stated, this led us to opt for an *ex vivo* activation. Nonetheless, in a study on resveratrol, Santos et al. observed that photoactivated resveratrol forms resveratrone, which could increase the duration of action of oxidative mechanisms and induce the clearance of MRSA, so in addition to ROS, a conformational change in the molecules due to light may be responsible for the bacterial clearance action.

Another interesting point of this study is that senescent animals produced the same cytokine levels as those in Vehicle, *P. cincinnata*, and aPDT groups. Despite this and the limitations of the small number of animals used in this study, cytokine behavior differed among groups. Other studies observed the differences in the production of the same cytokines analyzed here following photodynamic therapy. Still, they focused on different models, like young diabetic animals and young animals, both C57BL/6 lineages.<sup>[24–27]</sup> Furthermore, the aPDT group displayed a more distinct pattern of cytokine correlations, with a higher number of cytokines exhibiting negative correlations - both among the pro-inflammatory cytokines and with the anti-inflammatory cytokine IL-10 (Figure 6h). Senescence is accompanied by chronic and sterile low-grade inflammation, in which the infection can exacerbate this process, causing dysregulation in the production of anti-inflammatory cytokines, corroborating with more positive correlations among the analyzed cytokines,<sup>[62]</sup> and consequently a greater imbalance in the inflammatory process. However, it appears that the use of *P. cincinnata* in PDT has overcome this.

Additionally, positive correlations were observed between IL-10 and TNF- $\alpha$  exclusively in the aPDT group, as well as between IL-12p70 and IL-17A in both the aPDT and *P. cincinnata* groups (Figure 6g,h), with these correlations becoming more pronounced in the aPDT group. It was recently demonstrated that the combined treatment of IL-10+, IL-12+, TNF- $\alpha$ , decreased oxidative stress, CXCL8, and CXCR1 expression through the mitigation of the TNFR1-IL-1R-NF- $\kappa$ B inflammatory pathway in *S. aureus*.<sup>[63]</sup> Furthermore, high levels of proinflammatory cy-

tokines, particularly IL-12, induce a subset of Th17 cells, which are IL-17 producers and are important in neutrophilic recruitment, essential for the cutaneous defense of *S. aureus*.<sup>[64–66]</sup> Although cytokines are produced at the same level between groups, their interaction differs depending on the context/treatment. Recent studies demonstrate that these analyses are not limited to diagnosing a single biomarker, as they use different inflammatory biomarkers and establish a network of interaction between them, demonstrating the importance of expanded analysis since our body depends on the action of the interaction of other systems.<sup>[62,67]</sup>

## 4. Conclusion

This work is of great importance in studying new candidates for photosensitizers, which may be appropriate to control infections caused by antibiotic-resistant bacteria. Here, we demonstrated the photodynamic activity of different species of the genus *Passiflora* tested for the first time, and one of them was highly effective in a senescence model of intradermal infection with MRSA. This research lays the groundwork for developing targeted aPDT strategies using *Passiflora* extracts and emphasizes the need to explore new photosensitizers derived from under-researched plants. Our results are promising, primarily because little is known about how aPDT acts in a model of senescence using black mice and bring to light *P. cincinnata* as an important photosensitizer.

## 5. Experimental Section

**Collection and Preparation of the Plant Material:** A population of *P. cincinnata* was identified and collected near the Southwest Bahia State University, Bem Querer Road, Km-04 - 3293, located in the municipality of Vitória da Conquista, Bahia (Latitude: 14° 53' 3.975" South, Longitude: 40° 47' 59.137" West). The *P. cincinnata* leaves were dried at 40 °C for 72 h in a circulating air oven. After drying, the leaves were crushed in a knife mill, yielding approximately 270 g of dry and crushed powder. Permission to access and study the genetic heritage (AE76E5D) was obtained through registration in the National System for the Management of Genetic Heritage and Associated Traditional Knowledge – SisGen/Brazil.

***P. cincinnata* Extract Preparation and Partition:** The dried and crushed leaves were subjected to maceration with 70% ethanol for 48 h, preceded by an ultrasound bath for 15 min at room temperature. Then, the material was filtered, the precipitate was resuspended in 70% ethanol and submitted to an ultrasound bath, and rested for 48 h. This procedure was repeated once more, and after 48 h, the extract was filtered and concentrated using a rotary evaporator. Part of the crude extract (10 grams) was suspended in 166.7 mL of hexane, homogenized in an ultrasonic bath, and filtered through a filtration system using qualitative filter paper, 80 grams and 11 cm in diameter (Qualy). The precipitate was resuspended in 166.7 mL of methanol: water (MeOH: H<sub>2</sub>O) (7:3 v/v) and partitioned with dichloromethane (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) (3 × 83 mL). 133.3 mL of H<sub>2</sub>O was added to the MeOH: H<sub>2</sub>O phase, and ethyl acetate (AcOEt) (3 × 83 mL) was partitioned. The 66.7 mL of H<sub>2</sub>O was added to the MeOH: H<sub>2</sub>O phase, and n-butanol (BuOH) (4 × 83 mL) was partitioned. The BuOH phase was concentrated under reduced pressure, yielding the BuOH extract (1.7308 g = 17.3%). Part of the BuOH fraction (700 mg diluted in 3 mL of methanol at a time) was applied to a chromatographic column containing Sephadex LH – 20 (42 cm in height by 3.5 cm in diameter) and packed with methanol (MeOH). This sample was eluted with MeOH, maintaining a flow rate of ≈1.5 mL min<sup>-1</sup>. After eluting the dead volume (90 mL), a subfraction of ≈60 mL was collected, concentrated in a rotary evaporator, lyophilized, and stored in the refrigerator (4 °C).

*P. edulis* and *P. alata* Extract: The *P. edulis* extract was obtained from the supplier Organic Compoundi LTDA (CNPJ: 18.186.547/0001-99), manufacturer batch: 21k25-FL00-00000. The *P. alata* extract from provider SM Empreendimentos Farmacêuticos LTDA (CNPJ: 44.015.477/0005-40), manufacturer batch: 2 201 026. Both extracts are derived from the leaves of *Passiflora*.

**Scanning of *P. edulis*, *P. alata*, and *P. cincinnata* Extracts by UV-vis:** To estimate at which wavelengths *P. edulis*, *P. alata*, and *P. cincinnata* extracts absorb light, a scanning analysis was performed using a molecular absorption spectrophotometer (UV-1800 Shimadzu/UV Spectrophotometer), evaluating the interval between 200 and 800 nm. The *P. alata* and *P. edulis* extracts were scanned at 100 µg mL<sup>-1</sup> concentration, while *P. cincinnata* in 10 µg mL<sup>-1</sup>, both diluted in distilled water, using the spectrum function.

**Passiflora Cytotoxicity Assay by MTT in HUVEC:** The human umbilical vein endothelial cell line (HUVEC) was obtained from the American Type Culture Collection (ATCC). HUVECs were cultivated in RPMI 1640 medium supplemented with 10% fetal bovine serum, 2 mM L-glutamine, 2 mM sodium pyruvate, 1 mM non-essential amino acids, 100 U mL<sup>-1</sup> penicillin, and 100 µg mL<sup>-1</sup> of streptomycin at 37 °C in 5% CO<sub>2</sub>. HUVECs were seeded at 3 × 10<sup>4</sup> per well in 96-well microplates to assess cytotoxicity. After 24 h, a new medium containing *P. edulis* (2000, 1500, 1000, 500 or 100 µg mL<sup>-1</sup>), *P. alata* (2000, 1500, 1000, 500, and 100 µg mL<sup>-1</sup>), and *P. cincinnata* (500, 100, 50, 10, and 5 µg mL<sup>-1</sup>) or medium and diluent controls (distilled water) was added and incubated at 37 °C and 5% CO<sub>2</sub> for 24 h. After treatment, cells were incubated with MTT (5 mg mL<sup>-1</sup>, 20 µL per well (MTT: 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) for 3 h at 37 °C. Then, 100 µL per well of PBS containing 10% SDS and 0.01 M HCl (18 h, 37 °C, and 5% CO<sub>2</sub>) was added. The absorbance was read in a multiwell scanning spectrophotometer (Multi-skano GO Microplate Spectrophotometer –Thermo Scientific) at 570 nm. The IC<sub>50</sub> value, representing the *Passiflora* extracts concentrations that decrease viability to 50% (IC<sub>50</sub>), was calculated from the concentration-response curve.

**Bacterial Load:** The bacterial load was determined by spectrophotometry, as described by dos Santos et al. (2020; 2019; 2019b). The reference strain, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* 43 300 (MRSA 43 300) was used in the experiment. At the time of culture, the samples were thawed at room temperature, plated on BHI Agar culture medium (Brain Heart Infusion, pH 7.4, HIMEDIA), and taken to the incubator (Prolab) for 18–24 h at 37 °C.

**In Vitro aPDT Experimental Design:** *P. edulis* and *P. alata* were diluted in distilled water and used in concentrations of 2000, 1500, 1000, 500, and 100 µg mL<sup>-1</sup>. At the same time, they were tested at concentrations of 100, 50, and 10 µg mL<sup>-1</sup> for *P. cincinnata*. These concentrations were defined after screening a wide range of concentrations for each species of *Passiflora*. To evaluate the *Passiflora* extracts' photodynamic effect, 10 µL, containing 1.5 × 10<sup>6</sup> CFU (Colony-forming units) of MRSA was added to the 24 wells of the culture plates. Without blue LED light, the bacteria were solubilized in 990 µL of saline in the control group. In the group containing *Passiflora* extracts, 10 µL of MRSA + 10 µL of extract (at the specified concentrations) + 980 µL of sterile saline were placed in each well. Light control groups also received 10 µL of MRSA + 990 µL of saline + incidence of blue LED light (450 ± 20 nm) for 20 min and MRSA alone (without incidence of light and extract). Regarding the treatment groups, each group received 10 µL of MRSA + 10 µL of extract (at the indicated concentrations) + 980 µL of saline + exposure to blue LED light 20 min (56.4 J cm<sup>-2</sup>). After the addition of all components, a pre-irradiation time of 5 min was respected in all groups. After that, 10 µL from each well was plated on BHI plates and incubated in an oven for 18–24 h at 37 °C. CFU quantification was performed using a colony counter (CP-600 Plus).

**Animals:** Sixteen C57BL/6 mice, ≈2 years old, were used in this experiment. The use of the C57BL/6 mouse lineage in aPDT is justified by its high melanin concentration, an aspect often overlooked in aPDT investigations. This choice aims to address the limited number of previous aPDT studies conducted in this animal lineage. However, despite this gap, some studies have already standardized the intradermal infection model for MRSA and aPDT in C57BL/6 mice, providing the methodological basis

for the development of this work.<sup>[25,27]</sup> The animals were housed in the vivarium of the Federal University of Bahia - Multidisciplinary Institute in Health - Campus Anísio Teixeira, in an environment at a temperature of 25 °C, with a photoperiod of 12h:12 h light/dark, with food and water provided ad libitum. The Committee for Ethics in the Use of Animals (CEUA) IMS-CAT UFBA approved all animal use procedures under protocol number 113/2022.

**In Vivo aPDT Experimental Design:** The animals were divided into three groups (*n* = 5–6 per group), with both ears inoculated with MRSA, as follows: 1) Control animals (*n* = 6) infected with 10<sup>8</sup> CFU of MRSA in 10 µL; 2) Control animals (*n* = 5) infected with 10<sup>8</sup> CFU of MRSA with butanolic fraction of *P. cincinnata* (without photoactivation); 3) Animals (*n* = 5) infected with 10<sup>8</sup> CFU of MRSA subjected to PDT treatment photosensitizing butanolic fraction of *P. cincinnata* at a concentration of 100 µg in 10 µL (concentration defined based on in vitro tests). All procedures were performed with animals anesthetized using xylazine and ketamine at 10 and 50 mg kg<sup>-1</sup> doses. After 24 h of infection, aPDT animals were treated with butanolic fraction *P. cincinnata* intradermally (10 µL containing 100 µg) in both ears, previously photoactivated (ex vivo) with blue LED light (450 nm) for 180 s (13.5 J cm<sup>-2</sup>), with the equipment positioned 1 cm from the microtube, according to the protocol for *ex vivo* activation developed by Muniz et al. (2021). The animals in the MRSA control group were exposed to the stimulus with 10 µL of the vehicle. On the other hand, the PS control animals were treated with the butanolic fraction *P. cincinnata* (100 µg in 10 µL) without light activation. The entire procedure was performed with the animals anesthetized using xylazine and ketamine at 10 and 50 mg kg<sup>-1</sup>. After 72 h of infection, the animals were euthanized for the collection of lymph nodes and ears. The euthanasia of the animals was performed by deepening anesthesia with xylazine and ketamine at doses of 100 and 500 mg kg<sup>-1</sup>, respectively.

**Weighing of the Animals:** The animals were weighed on an analytical balance during all experiment days at the same hour. The weights were recorded, and the percentage of weight loss was calculated based on the initial weight of each animal.

**Ear Bacterial Load:** The right ears were collected and macerated in 1 mL of sterile saline, and then plated using 50 µL in 20 mL of BHI medium with oxacillin (6 µg mL<sup>-1</sup>). The plates were incubated in an oven for 18–24 h at 37 °C. CFU quantification was performed using a colony counter (CP-600 Plus).

**Histopathology:** The left ears of the animals were collected after predefined times at the euthanasia points of the animals and were immediately fixed in methacarn (70% methanol, 20% chloroform, and 10% glacial acetic acid). After processing and hydration, the ears were embedded in paraffin and sectioned (4 µm) in a microtome. Sections were stained with hematoxylin and eosin. The stained sections were visualized under optical microscopy (Nikon Eclipse Ei), and the morphometric analysis was performed on photomicrographs of 20 fields per slide, obtained with the PrimeCam Intervision software (Prime Life Science), using a 40X objective.

**Cytokine Concentration:** Retromaxillary lymph nodes from the mice were collected for cytokine concentration. Lymph nodes were macerated in 1 mL of sterile saline and centrifuged (1500 rpm at 4 °C for 10 min). The supernatant was collected and stored at a temperature of –80 °C for cytokine measurement (TNF-α, IL-1β, IL-12p70, IL-17A, IL-10) quantified according to the manufacturer's instructions (Invitrogen - ThermoFisher).

**Statistical Analyses:** Statistical analyses were performed using the GraphPad-Prism version 9.1.0 program (GraphPad Software). The Shapiro-Wilk test was used to assess normality. Based on the data distribution, multiple comparisons were performed through the appropriate test (parametric - Ordinary One-way ANOVA or non-parametric - Kruskal-Wallis), with its referred post-test (in which different groups will be evaluated and compared to each other), Tukey or Dunn. Numerical variables were expressed as the mean ± standard error. Statistical differences were considered significant when *p* < 0.05, using a 95% confidence interval. Multivariate analyses were performed using RStudio version 1.2.5001© 2009–2019 RStudio, Inc. Corrplot version 0.84 was used for correlation, and *p* (*p*) values were indicated based on Spearman or Pearson rank correlation tests (*p* < 0.05; *p* < 0.01; *p* < 0.001).

**Ethics Approval:** The Committee for Ethics in the Use of Animals (CEUA) IMS-CAT UFBA approved all animal use procedures under protocol number 113/2022.

## Acknowledgements

The authors are grateful for financial assistance from research funding agencies in Brazil: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB, Brazil), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brazil), and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brazil). This work was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brazil) under grant number 405 884/2021-4.

## Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

## Author Contributions

C.V.G. performed conceptualization, validation, formal analysis, investigation, writing - original draft, and writing - review & editing. M.P.L.G. performed validation, methodology, and investigation. P.H.B.L., I.P.R.M., and I.S.R. performed validation, methodology, and investigation. M.E.S.D.O., C.O.L.d.M., S.L.d.O., and M.E.S.F. performed validation and methodology. C.S.G., L.C.S., and P.M.L. performed validation, methodology, and resources. D.S.L. performed conceptualization, methodology, formal analysis, and data curation. J.G.A. performed conceptualization, methodology, resources, and supervision. R.A.A.d.S. performed term, conceptualization, data curation, methodology, resources, supervision, project administration, and funding acquisition.

## Data Availability Statement

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

## Keywords

antimicrobial photodynamic therapy, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Passiflora cincinnata*, senescence

Received: April 16, 2025

Revised: August 5, 2025

Published online:

- [1] M. Falcone, G. Tiseo, *Curr. Opin. Infect. Dis.* **2023**, *36*, 102.
- [2] M. Venditti, M. Falcone, A. Micozzi, P. Carfagna, F. Taglietti, P. F. Serra, P. Martino, *Infectious Disorders* **2003**, *88*, 923.
- [3] L. Neloska, K. Damevska, A. Nikolchev, L. Pavleska, B. Petreska-Zovic, M. Kostov, *Open Access Maced J Med Sci* **2023**, *4*, 423.
- [4] H. Yousef, M. Alhajj, A. O. Fakoya, S. Sharma, In: *Anatomy, Skin (Integument) Epidermis 2024, StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*, **2025**, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470464/>.
- [5] E. Russell-Goldman, G. F. Murphy, *Am J Pathol* **2020**, *190*, 1356.
- [6] G. Y. C. Cheung, J. S. Bae, M. Otto, *Virulence* **2023**, *12*, 547.
- [7] N. A. Turner, B. K. Sharma-Kuinkel, S. A. Maskarinec, E. M. Eichenberger, P. P. Shah, M. Carugati, T. L. Holland, V. G. Fowler, *Nat. Rev. Microbiol.* **2023**, *17*, 203.
- [8] P. Nandhini, P. Kumar, S. Mickymaray, A. S. Alothaim, J. Somasundaram, M. Rajan, *Antibiotics* **2022**, *11*, 606.
- [9] A. H. Hasanzadeh, M. Sepidarkish, A. Mollalo, A. Ardekani, M. Almukhtar, A. Mechaal, S. R. Hosseini, M. Bayani, M. Javanian, A. Rostami, *Antimicrob Resist Infect Control* **2023**, *12*, 4.
- [10] A. Bleve, F. Motta, B. Durante, C. Pandolfo, C. Selmi, S. A. Immunosenescence, *Clin. Rev. Allergy Immunol.* **2023**, *64*, 123.
- [11] World Health Organization, WHO Bacterial Priority Pathogens List, <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376776/9789240093461-eng.pdf?sequence=1>, Jan 9 **2025**.
- [12] T. M. Uddin, A. J. Chakraborty, A. Khusro, B. R. M. Zidan, S. Mitra, T. B. Emran, K. Dhama, Md. K. H. Ripon, M. Gajdács, M. U. K. Sahibzada, Md. J. Hossain, N. Koirala, *J Infect Public Health* **2021**, *14*, 1750.
- [13] G. Mancuso, A. Midiri, E. Gerace, C. Biondo, *Pathogens* **2023**, *10*, 1310.
- [14] R. Selvarajan, C. Obize, T. Sibanda, A. L. K. Abia, H. Long, *Antibiotics* **2022**, *12*, 28.
- [15] M. I. Hutchings, A. W. Truman, B. Wilkinson, *Curr. Opin. Microbiol.* **2019**, *51*, 72.
- [16] M. Vestergaard, D. Frees, H. Ingmer, *Microbiol Spectr* **2019**, *7*.
- [17] M. Younis, T. A. Tabish, C. Firdharini, M. Aslam, M. Khair, D. H. Anjum, X. Yan, M. Abbas, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2025**.
- [18] M. Tasleem, A. M. Matouk, M. Abbas, *ChemBioChem* **2025**, *26*, 202500122.
- [19] N. Saeed, A. Atiq, F. Rafiq, I. Khan, M. Atiq, M. Saleem, D. H. Anjum, Z. Usman, M. Abbas, *Sci. Rep.* **2024**, *14*, 26398.
- [20] H. K. Sharma, P. Gupta, D. Nagpal, M. Mukherjee, V. S. Parmar, *Fototerapia* **2023**, *168*, 105554.
- [21] M. O. Falade, P. M. Duffin, M. O. Falade, *Natural Compounds Targeting ABC Transporters and MecA to Combat MRSA Antibiotic Resistance*, Jun **2025**, <https://www.preprints.org/manuscript/202501.1771/v1>.
- [22] M. Kashi, M. Noei, Z. Chegini, A. Shariati, *Front. Pharmacol.* **2024**, *15*, 1491363.
- [23] T. W. Wong, E. C. Wu, W. C. Ko, C. C. Lee, L. I. Hor, I. H. Huang, *Dermatologica Sinica* **2018**, *36*, 8.
- [24] D. P. dos Santos, D. P. S. Lopes, S. P. de Melo Calado, C. V. Gonçalves, I. P. R. Muniz, I. S. Ribeiro, M. P. L. Galantini, R. A. A. da Silva, *J Photochem Photobiol B* **2019**, *191*, 107.
- [25] I. P. R. Muniz, M. P. L. Galantini, I. S. Ribeiro, C. V. Gonçalves, D. P. dos Santos, T. C. Moura, E. S. Silva, N. R. Silva, B. P. Cipriano, T. M. L. Correia, T. de Jesus Soares, L. M. de Freitas, D. J. Costa, R. A. A. da Silva, *J Photochem Photobiol B* **2021**, *224*, 112325.
- [26] D. P. dos Santos, M. P. L. Galantini, I. S. Ribeiro, I. P. R. Muniz, I. S. Pereira, R. A. A. da Silva, *Lasers Med Sci* **2020**, *35*, 1341.
- [27] D. P. dos Santos, D. P. Soares Lopes, R. C. de Moraes, C. Vieira Gonçalves, L. Pereira Rosa, F. C. da Silva Rosa, R. A. da Silva, *Photodiagnosis Photodyn Ther* **2019**, *25*, 227.
- [28] P. P. Almeida, I. S. Pereira, K. B. Rodrigues, L. S. Leal, A. S. Marques, L. P. Rosa, F. C. da Silva, R. A. A. da Silva, *Lasers Med Sci* **2017**, *32*, 1337.
- [29] C. W. Tseng, P. A. Kyme, A. Arruda, V. K. Ramanujan, W. Tawackoli, G. Y. Liu, *PLoS One* **2012**, *7*, 41454.
- [30] I. Waldmann, T. Schmid, J. Prinz, B. Mühlleisen, R. Zbinden, L. Imhof, Y. Achermann, *Photodiagnosis Photodyn Ther* **2020**, *31*, 101941.
- [31] J. Huang, Q. Fan, L. Shi, J. Shen, H. Wang, *Photodiagnosis Photodyn Ther* **2024**, *48*, 104300.
- [32] A. S. C. Gonçalves, M. M. Leitão, J. R. Fernandes, M. J. Saavedra, C. Pereira, M. Simões, A. Borges, *J Photochem Photobiol B* **2024**, *258*, 112978.
- [33] J. H. Correia, J. A. Rodrigues, S. Pimenta, T. Dong, Z. Yang, *Pharmaceutics* **2021**, *13*, 1332.
- [34] R. R. Allison, G. H. Downie, R. Cuenca, X. H. Hu, C. J. H. Childs, C. H. Sibata, *Photodiagnosis Photodyn Ther* **2004**, *1*, 27.
- [35] H. Abrahamse, M. R. Hamblin, *Biochem. J.* **2016**, *473*, 347.

- [36] E. Polat, K. Kang, *Biomedicines* **2021**, *9*, 584.
- [37] M. J. Garland, C. M. Cassidy, D. Woolfson, R. F. Donnelly, *Future Med Chem* **2009**, *1*, 667.
- [38] G. M. Costa, A. C. Gazola, S. M. Zucolotto, L. Castellanos, F. A. Ramos, F. H. Reginatto, E. P. Schenkel, *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2016**, *26*, 451.
- [39] I. L. Gadioli, S. B. M. da Cunha, M. V. O. de Carvalho, A. M. Costa, L. Pineli, L. L. O. de Pineli, *Crit Rev Food Sci Nutr* **2017**, *58*, 785.
- [40] T. Barbosa Santos, F. P. de Araujo, A. F. Neto, S. T. de Freitas, J. de Souza Araújo, O. de, S. B. Vilar, A. J. Brito Araújo, M. S. Lima, *International Journal of Fruit Science* **2021**, *21*, 255.
- [41] A. E. B. P. Leal, A. P. de Oliveira, R. F. D. Santos, J. M. D. Soares, E. M. D. Lavor, M. C. Pontes, J. T. D. Lima, A. D. D. Santos, J. C. Tomaz, G. G. D. Oliveira, F. C. Neto, N. P. Lopes, L. A. Rolim, J. R. G. D. Almeida, *Nat. Prod. Res.* **2020**, *34*, 995.
- [42] É. M. de Lavor, A. E. B. P. Leal, A. W. C. Fernandes, F. P. R. D. A. Ribeiro, J. M. De Barbosa, M. Gama e Silva, R. B. D. A. Teles, L. F. D. S. Oliveira, J. C. Silva, L. A. Rolim, I. R. A. de Menezes, J. R. G. D. S. Almeida, *Phytomedicine* **2018**, *47*, 58.
- [43] I. S. Ribeiro, I. P. R. Muniz, M. P. L. Galantini, C. V. Gonçalves, P. H. B. Lima, E. S. Silva, N. R. Silva, F. C. Rosa, L. P. Rosa, D. J. Costa, J. G. Amaral, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2023**, *22*, 2877.
- [44] I. S. Ribeiro, I. P. R. Muniz, M. P. L. Galantini, C. V. Gonçalves, P. H. B. Lima, N. R. Silva, S. L. de Oliveira, M. S. Nunes, A. K. Novaes, M. E. de Oliveira, D. J. Costa, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2024**, *23*, 561.
- [45] L. R. da Fonseca, R. A. Rodrigues, A. S. Ramos, J. D. da Cruz, J. L. P. Ferreira, J. R. A. Silva, A. C. F. Amaral, *Scientific World Journal* **2020**.
- [46] X. He, F. Luan, Y. Yang, Z. Wang, Z. Zhao, J. Fang, M. Wang, M. Zuo, Y. Li, *Front Pharmacol* **2020**, *11*, 617.
- [47] A. E. B. Pereira Leal, É. M. de Lavor, J. de Menezes Barbosa, M. T. de Moura Fontes Araújo, C. dos Santos Cerqueira Alves, R. G. de Oliveira Júnior, Á. A. N. de Lima, J. R. G. da Silva Almeida, *Curr. Top. Med. Chem.* **2022**, *22*, 2315.
- [48] Y. W. Ni, K. H. Lin, K. H. Chen, C. W. Wu, C. Y. Sen, *Plants* **2020**, *9*, 633.
- [49] D. Da Silva Francischini, A. P. Lopes, M. L. Segatto, A. M. Stahl, V. G. Zuin, *BMC Chem* **2020**, *14*, 1.
- [50] A. J. Vargas, D. S. Geremias, G. Provensi, P. E. Fornari, F. H. Reginatto, G. Gosmann, E. P. Schenkel, T. S. Fröde, *Fitoterapia* **2007**, *78*, 112.
- [51] L. E. M. Brandaõ, D. A. M. F. Nôga, A. L. Dierschnabel, C. L. D. C. Campêlo, Y. D. S. R. Meurer, R. H. Lima, R. C. G. J. Engelberth, J. S. Cavalcante, C. A. Lima, M. Marchioro, C. D. S. Estevam, J. R. Santos, J. R. Silva, A. M. Ribeiro, *Evid Based Complement Alternat Med* **2017**.
- [52] A. L. A. Siebra, L. R. Oliveira, A. O. B. P. B. Martins, D. C. Siebra, R. S. Albuquerque, I. C. S. Lemos, G. A. Delmondes, S. R. Tintino, F. G. Figueiredo, J. G. M. da Costa, H. D. M. Coutinho, I. R. A. Menezes, C. F. B. Felipe, M. R. Kerntopf, *Saudi J Biol Sci* **2018**, *25*, 37.
- [53] A. A. L. de Siebra, I. C. S. Lemos, A. G. de Delmondes, L. R. de Oliveira, A. O. B. P. B. Martins, C. D. de Siebra, H. D. M. Coutinho, R. S. Albuquerque, N. F. Leite, J. G. M. da Costa, I. R. A. de Menezes, M. R. Kerntopf, *Revista Cubana de Plantas Medicinales* **2014**, *19*, 319.
- [54] S. C. Guimarães, M. P. Lima, C. B. M. Sousa, C. C. Araújo, R. S. V. Carmo, G. L. Borges, D. B. Silva, F. M. Leite, A. B. G. Damasceno, J. G. Amaral, *ACS Sustain Chem Eng* **2025**, *13*, 3907.
- [55] C. M. Cassidy, R. F. Donnelly, M. M. Tunney, *J Photochem Photobiol B* **2010**, *99*, 62.
- [56] A. C. Shaw, D. R. Goldstein, R. R. Montgomery, *Nat. Rev. Immunol.* **2013**, *13*, 12.
- [57] H. Lee, Y. Hong, M. Kim, *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 12489.
- [58] E. M. Crimmins, C. E. Finch, *Proc Natl Acad Sci U S A* **2005**, *103*, 498.
- [59] M. De Martinis, M. Modesti, L. Ginaldi, *Immunol. Cell Biol.* **2004**, *82*, 415.
- [60] C. Shive, P. Pandiyan, *Frontiers in Aging* **2022**, *3*, 840827.
- [61] K. Jomova, S. Y. Alomar, S. H. Alwasel, E. Nepovimova, K. Kuca, M. Valko, *Arch. Toxicol.* **2024**, *98*, 1323.
- [62] C. V. Gonçalves, I. S. Ribeiro, M. P. L. Galantini, I. P. R. Muniz, P. H. B. Lima, G. S. Santos, R. A. A. da Silva, *Exp. Gerontol.* **2022**, *170*, 112005.
- [63] P. Dutta, B. Bishayi, *Int. Immunopharmacol.* **2023**, *120*, 110297.
- [64] J. S. Cho, E. M. Pietras, N. C. Garcia, R. I. Ramos, D. M. Farzam, H. R. Monroe, J. E. Magorien, A. Blauvelt, J. K. Kolls, A. L. Cheung, G. Cheng, R. L. Modlin, L. S. Miller, *J. Clin. Invest.* **2010**, *120*, 1762.
- [65] E. Volpe, N. Servant, R. Zollinger, S. I. Bogiatzi, P. Hupé, E. Barillot, V. Soumelis, *Nat. Immunol.* **2008**, *9*, 650.
- [66] A. Belpaire, N. van Geel, R. Speeckaert, *Front Immunol* **2022**, *13*, 932265.
- [67] M. P. L. Galantini, I. S. Ribeiro, C. V. Gonçalves, I. P. R. Muniz, P. H. B. Lima, G. S. Santos, R. A. da Silva, *Exp. Gerontol.* **2022**, *167*, 111905.

**ANEXO 5**  
**Cadastro SisGen**



**Ministério do Meio Ambiente  
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

**Certidão  
Cadastro nº AE76E5D**

Declaramos, nos termos do art. 41 do Decreto nº 8.772/2016, que o cadastro de acesso ao patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado, abaixo identificado e resumido, no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado foi submetido ao procedimento administrativo de verificação e não foi objeto de requerimentos admitidos de verificação de indícios de irregularidades ou, caso tenha sido, o requerimento de verificação não foi acatado pelo CGen.

Número do cadastro: **AE76E5D**  
Usuário: **UFBA**  
CPF/CNPJ: **15.180.714/0001-04**  
Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**  
Finalidade do Acesso: **Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico**

**Espécie**

**Passiflora cincinnata**

**Passiflora edulis**

**Passiflora incarnata**

**Passiflora alata**

Título da Atividade: **Estudo químico e desenvolvimento de produtos com espécies do gênero Passiflora L.**

**Equipe**

<b>Juliano Geraldo Amaral</b>	<b>Universidade Federal da Bahia</b>
<b>Catarina Silva Guimarães</b>	<b>Universidade Federal da Bahia</b>
<b>Caroline Vieira Gonçalves</b>	<b>Universidade Federal da Bahia</b>
<b>Robson Amaro Augusto da Silva</b>	<b>Universidade Federal da Bahia</b>
<b>Gabriel Azevedo De Brito Damasceno</b>	<b>Universidade Federal da Bahia</b>

Data do Cadastro: **12/04/2023 12:02:08**

Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético  
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **10:31 de 07/08/2025**.



**SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO  
DO PATRIMÔNIO GENÉTICO  
E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL  
ASSOCIADO - SISGEN**

**ANEXO 6**  
**Aprovação do CEUA**



**Universidade Federal da Bahia  
Instituto Multidisciplinar em Saúde - Campus Anísio Teixeira  
COMISSÃO DE ÉTICA EM USO DE ANIMAIS  
(CEUA - IMS/CAT - UFBA)**



**PROJETO DE PESQUISA - Protocolo 113/2022 - Apreciação em 08/03/2023 – Aprovado sem restrições**

**Título:** Ação fotossensibilizante do extrato de espécies vegetais contra *Staphylococcus Aureus* resistente à meticilina em modelo murino de senescência.

**Protocolo:** 113/2022

**Pesquisador:** Robson Amaro Augusto da Silva

**Instituição:** Instituto Multidisciplinar em Saúde - Campus Anísio Teixeira – UFBA

**CERTIFICADO**

A Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA - IMS/CAT - UFBA) certifica que o projeto de pesquisa "**Ação fotossensibilizante do extrato de espécies vegetais contra *Staphylococcus Aureus* resistente à meticilina em modelo murino de senescência**", Protocolo nº 113/2022, do pesquisador **Robson Amaro Augusto da Silva**, que foi submetido à avaliação desta Comissão, está de acordo com os princípios éticos da experimentação animal e foi **aprovado** na 43ª Reunião Ordinária do dia 20 de dezembro de 2022.

**CERTIFICATE**

The Committee on Ethics in Animal Use (CEUA - IMS / CAT - UFBA) certifies that the research project "**Photosensitizing action of plant species extract against methicillin-resistant *Staphylococcus Aureus* in a murine model of senescence**" Protocol nº 113/2022 of the researcher **Robson Amaro Augusto da Silva** who was submitted to the evaluation of this Commission is in accordance with the ethical principles of animal experimentation and was approved at the 43th ordinary meeting on 12/20/2022.

Vitória da Conquista, 08 de março de 2023.

Leandro Martins de Freitas  
Vice – Coordenador  
CEUA - IMS/CAT – UFBA