

## TERAPIA FOTODIÂMICA ANTIMICROBIANA MEDIADA POR AZUL DE METILENO NO CONTROLE DE BACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA EM ALIMENTOS

Caroline Volpato Senhorini (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Jane Martha Graton Mikcha (Orientador). E-mail: jmcmmikcha@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Maringá, PR.

**Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas /Microbiologia Aplicada.**

**Palavras-chave:** Patógenos de origem alimentar; Inativação fotodinâmica; Contaminação de alimentos.

### RESUMO

A contaminação microbiana de alimentos gera impactos sociais, ambientais e na saúde, representando um desafio para a cadeia de produção. A terapia fotodinâmica antimicrobiana é uma tecnologia não térmica estudada na inativação de microrganismos em diversas áreas, requerendo a ação de uma substância fotossensibilizadora ativada por luz visível em comprimento de onda adequado, gerando espécies reativas de oxigênio que causam a morte dos microrganismos. O azul de metileno é um corante seguro e efetivo como fotossensibilizador, além de aprovado pela *Food and Drug Administration*. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito antibacteriano da terapia fotodinâmica utilizando azul de metileno como fotossensibilizador e um sistema de LED a 660 nm (vermelho) como fonte de iluminação. As bactérias utilizadas foram: *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. As culturas bacterianas foram tratadas com azul de metileno nas concentrações 0,05%, 0,01% e 0,001% com 30 minutos de iluminação. Foi determinada a viabilidade celular por contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC/mL) dos grupos tratados comparados aos controles. A TFD promoveu redução total de *S. aureus* ( $7,7\log_{10}$  UFC/mL) e *P. aeruginosa* ( $7,6\log_{10}$  UFC/mL). Para *S. Typhimurium*, a redução foi de  $3,5\log$  UFC/mL na concentração de 0,01% e de  $6,0\log_{10}$  UFC/mL nas concentrações 0,005% e 0,001%. Conclui-se que a TFD mediada pelo azul de metileno apresenta elevada eficácia contra *S. aureus* e *P. aeruginosa* e *S. Typhimurium*.

### INTRODUÇÃO

A contaminação microbiana de alimentos é um problema mundial que causa grandes perdas para a indústria e gera altos custos aos serviços de saúde, podendo ocorrer em qualquer etapa da cadeia produtiva, do campo à mesa, e diversos tipos de alimentos são sujeitos à contaminação microbiana, o que representa não somente um risco à saúde dos consumidores, mas também prejuízos econômicos e ambientais (CDC, 2024).

As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) ou doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHAs) representam uma importante preocupação, sendo resultantes da ingestão de produtos alimentícios contaminados com microrganismos patogênicos e/ou suas toxinas ou produtos químicos (Franco e Landgraf, 2023). Os patógenos comumente envolvidos são *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., e *Listeria monocytogenes* (CDC, 2024).

Outra grande preocupação é a deterioração dos alimentos, que é uma das maiores causas de perda de alimentos produzidos no mundo, esse desperdício, além de trazer prejuízos financeiros às empresas, impacta negativamente a sustentabilidade dos sistemas alimentares, diminui a disponibilidade, gera menos lucros e eleva os preços. (Fispal Tecnologia, 2023).

Atualmente, várias tecnologias convencionais são usadas para controlar a contaminação microbiológica dos alimentos. No entanto, a qualidade dos alimentos pode ser afetada, principalmente, pela perda de nutrientes e alterações sensoriais. Nesse sentido há uma necessidade de novas técnicas que sejam eficazes no controle de microrganismos indesejáveis em alimentos e mantenha as características dos alimentos.

Uma ferramenta emergente para o controle de microrganismos em alimentos é a terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDa) (Zhu et al., 2021). A aplicação da TFDa em produtos alimentícios é uma alternativa promissora aos métodos térmicos e químicos convencionais usados para controlar os microrganismos nos alimentos, pois não promove alterações na matriz alimentar, preservando as características nutricionais e sensoriais. Além disso, a TFDa é caracterizada por alta seletividade, baixo custo e rápida morte microbiana, além de permitir aplicações repetitivas pois não promove resistência bacteriana (Prado-Silva et al., 2022).

A TFDa se mostrou promissora e eficaz contra uma ampla gama de bactérias transmitidas por alimentos (Saraiva et al. 2023; Prazad et al. 2024). A técnica utiliza luz visível para ativar um fotossensibilizador na presença de oxigênio, gerando espécies reativas de oxigênio (ROS) que inativam microrganismos por estresse oxidativo.

O azul de metileno, destaca-se como fotossensibilizador pelo amplo espectro de absorção, alta produção de ROS, baixo custo, baixa toxicidade, além de ser solúvel em água e aprovado pelo FDA. Sua eficácia tem sido demonstrada contra vários microrganismos incluindo bactérias Gram positivas e Gram negativas, fungos e vírus, o que a torna uma alternativa promissora na área de alimentos (Fabio et al. 2023). Sendo assim, considerando que a TFDa demonstrou resultados promissores e eficazes contra diversas bactérias transmitidas por alimentos, este estudo avaliou o efeito antibacteriano da terapia fotodinâmica empregando azul de metileno como fotossensibilizador e um sistema de LED vermelho (660 nm) como fonte de iluminação.

## MATERIAIS E MÉTODOS

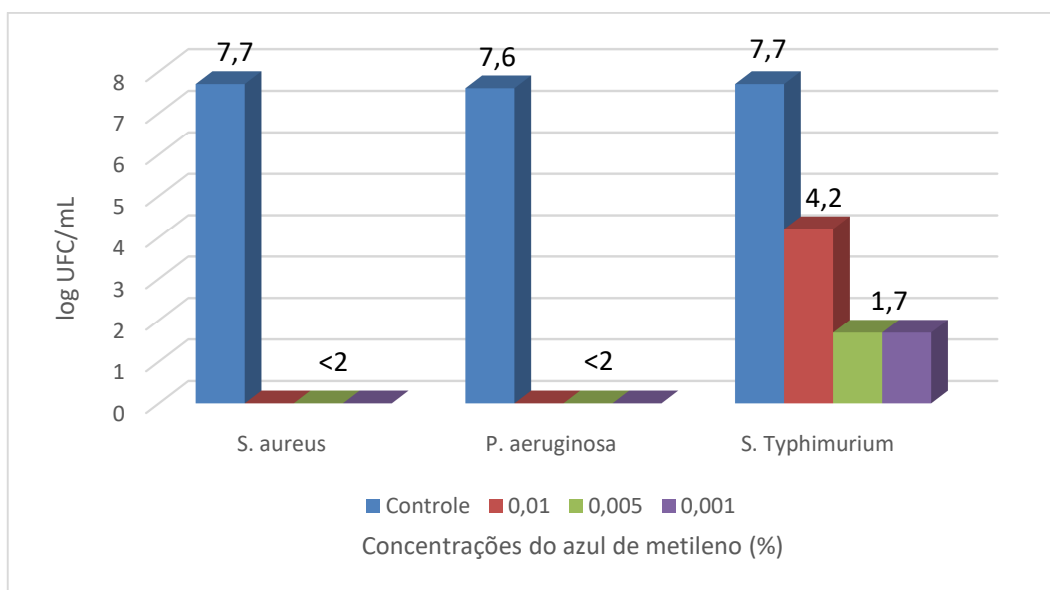
Foi preparada uma solução estoque de azul de metileno (0,5 mg/mL em solução salina 0,9%) e, para os ensaios, foi diluída à 0,01%, 0,005% e 0,001%. As bactérias

*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 foram cultivadas e padronizadas em  $10^7$  UFC/mL. Para o controle foi utilizado o inóculo bacteriano adicionado à salina, sem o fotossensibilizador e incubado por 30 minutos no escuro, sem a ação da luz. Os testes foram realizados em microplacas de 96 poços, adicionando diferentes concentrações do fotossensibilizador e o inóculo bacteriano, incubados no escuro por 30 minutos e iluminados com sistema LED vermelho (660 nm, 16 mW/cm<sup>2</sup>) por 30 minutos. Após a iluminação, foram realizadas diluições e, em seguida, as amostras foram semeadas em Ágar Tryptic Soy (TSA) e incubadas a 37 °C por 24 h. A eficácia foi avaliada pela redução da viabilidade celular em comparação ao controle sem tratamento.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação da viabilidade celular demonstrou redução total do crescimento bacteriano para *S. aureus* e *P. aeruginosa* após a utilização da terapia fotodinâmica mediada pelo azul de metileno, permanecendo abaixo do limite de detecção da técnica. Para *S. aureus*, a contagem inicial no controle foi de  $7,7\log_{10}$  UFC/mL, enquanto no grupo tratado não foram detectadas colônias viáveis (redução de  $7,7\log_{10}$  UFC/mL). De forma semelhante, *P. aeruginosa* apresentou contagem de  $7,6\log_{10}$  UFC/mL no controle, sendo observada uma redução completa no grupo tratado ( $7,6\log_{10}$  UFC/mL) (Figura 1).

Já na análise da viabilidade celular de *S. Typhimurium*, observou-se que o grupo controle apresentou contagem de  $7,7\log$  UFC/mL. Quando submetida à TFD mediada pelo azul de metileno na concentração de 0,01%, houve redução para  $4,2\log_{10}$  UFC/mL. Reduções ainda mais expressivas foram observadas nas concentrações de 0,005% e 0,001%, ambas resultando em valores de  $1,7\log_{10}$  UFC/mL (redução de  $\sim 6\log_{10}$  UFC/mL) (Figura 1).



**Figura 1** – Contagem de Unidades Formadoras de Colônias por mililitro (UFC/mL) de diferentes bactérias utilizando terapia fotodinâmica mediada pelo azul de metileno em diferentes concentrações

### CONCLUSÕES

Os resultados da análise da redução da viabilidade celular, em comparação ao controle, evidenciam elevada eficácia da terapia fotodinâmica mediada pelo azul de metileno contra *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *S. Typhimurium*.

### AGRADECIMENTOS

Expresso minha gratidão ao CNPq pelo apoio financeiro, à Universidade Estadual de Maringá (UEM) pelo suporte institucional e ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos da UEM pelo auxílio durante a realização deste projeto.

### REFERÊNCIAS

CDC, CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Food Safety**. 2024. Acesso em: 23 de maio de 2024.

CORREIA et al. Photodynamic Therapy Review: Principles, Photosensitizers, Applications, and Future Directions. **Pharmaceutics**, 13(9), 1332, 2021. Acesso em: 23 de maio de 2024.

FABIO et al. Antimicrobial photodynamic therapy and the advances impacted by the association with nanoparticles. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 80. 2023. Acesso em: 23 de maio de 2024.

FISPAL, Tecnologia. Deterioração de alimentos: desafios para as indústrias alimentícias no Brasil. **Food Connection**. 2023. Acesso em 23 de maio de 2024.

FRANCO, Bernadette Dora Gombossy de Melo; LANDGRAF, Mariza. Microbiologia dos alimentos. **Editora Atheneu**, 2 ed. 2023. LAW et al. Photodynamic Action of Curcumin and Methylene Blue against Bacteria and SARSCoV-2—A Review. **Pharmaceutics** (Basel). 2023. Acesso em 23 de maio de 2024.

PRASAD et al. Photodynamic Inactivation Foodborne Bacteria: Screening of 32 Potential Photosensitizers. **Foods**, v. 13, p. 453. 2024. Acesso em: 23 de maio de 2024.

SARAIVA et al. Reduction of Staphylococcus aureus in vitro and in milk by photodynamic inactivation using riboflavin and curcumin as photosensitizers: Cell damage and effects on product quality. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 446. 2024. Acesso em: 23 de maio de 2024.

34º Encontro Anual de Iniciação Científica  
14º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



12 e 13 de novembro de 2025

SILVA et al. Xanthene dyes and Green LED for the inactivation of foodborne pathogens in planktonic and biofilm states. **Photochemistry and Photobiology**, v. 95, p. 1230-1238. 2019. Acesso em: 23 de maio de 2024.