AVALIAÇÃO DA TERAPIA FOTODINÂMICA COM AZUL DE METILENO E ASSOCIAÇÕES NO CONTROLE DE PATÓGENOS ALIMENTARES

Ana Carolina Pizaia Machado (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Beatriz Benedette Pessoa , Rafaela Silva Oliveira, Maria Clara Kiss Sgambatti Martins, Jane Martha Graton Mikcha, Nicole Lohana de Souza, Paula Aline Zanetti Campanerut-Sá (Orientador).
E-mail: pazcsa2@uem.br

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

Área e subárea do conhecimento: Ciências da Saúde/Microbiologia Aplicada.

Palavras-chave: Biofilme; Inativação microbiana; Espécies reativas de oxigênio.

RESUMO

As doenças transmitidas por alimentos representam um importante problema de saúde pública, destacando a necessidade de estratégias alternativas para o controle de microrganismos patogênicos, especialmente quando organizados em biofilmes. Nesse contexto, a terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDa) apresenta-se como uma abordagem promissora, baseada na interação entre fotossensibilizador, luz e oxigênio, promovendo a formação de espécies reativas capazes de causar danos às células microbianas. Este estudo avaliou a TFDa mediada por azul de metileno, isoladamente e associações, sobre biofilmes de *Salmonella enterica* sorotipo Typhimurium e *Staphylococcus aureus*. Os biofilmes foram formados em microplacas e tratados inicialmente com azul de metileno a 0,001%, utilizando 10 e 30 minutos de incubação no escuro e 15, 30 e 60 minutos de exposição à luz LED vermelha. Nessas condições, não foram observadas reduções significativas da viabilidade bacteriana. Posteriormente, para *S. Typhimurium*, foi avaliada a associação de azul de metileno a 0,001% com KI a 50 mM, utilizando 10 minutos no escuro e 15 minutos de irradiação, além de fluido de dessorção associado ao azul de metileno a 2%. A associação com KI promoveu redução de 1,75 log□□ UFC/mL em relação ao controle, enquanto o fluido associado ao azul de metileno apresentou redução de 2,53 log□□ UFC/mL. Os resultados indicam potencial antimicrobiano das estratégias combinadas, embora novos ensaios sejam necessários para confirmar sua eficácia.

INTRODUÇÃO

As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) representam um importante problema de saúde pública mundial, sendo responsáveis por aproximadamente 600 milhões de casos e 420 mil mortes anualmente (WHO, 2022). No Brasil, entre 2013 e 2022, foram registrados, em média, 652 surtos de DTAs por ano, envolvendo mais de 107 mil pessoas, com destaque para microrganismos como *Salmonella spp.* e *Staphylococcus aureus* (BRASIL, 2024). A permanência desses patógenos em ambientes e superfícies relacionadas ao processamento de alimentos,

especialmente na forma de biofilmes, pode dificultar sua eliminação e favorecer sua persistência (SILVA et al., 2019).

Diante desse cenário, torna-se necessária a busca por estratégias alternativas e eficazes para o controle microbiológico. Nesse contexto, a terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDa) destaca-se como uma abordagem promissora, baseada na interação entre um fotossensibilizador, luz em comprimento de onda adequado e oxigênio, resultando na formação de espécies reativas de oxigênio capazes de provocar danos às células microbianas (SILVA et al., 2020). Entre os fotossensibilizadores utilizados, o azul de metileno apresenta vantagens como estabilidade, baixo custo e capacidade de promover inativação bacteriana após ativação luminosa (ZADA et al., 2024).

Além disso, estudos demonstram que a atividade antimicrobiana do azul de metileno pode ser potencializada pela associação com iodeto de potássio, ampliando os efeitos da inativação fotodinâmica (YIN et al., 2015). Dessa forma, a associação entre esses compostos pode representar uma alternativa para aumentar a eficácia da TFDa frente a microrganismos organizados em biofilmes. Diante disso, o presente estudo avaliou a aplicação da TFDa mediada por azul de metileno, isoladamente e associado com iodeto de potássio e fluido de dessorção, sobre biofilmes de *Salmonella enterica* sorotipo Typhimurium e *Staphylococcus aureus*.

MATERIAIS E MÉTODOS.

As bactérias *Salmonella enterica* sorotipo Typhimurium ATCC 14028 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 foram cultivadas e padronizadas em 10^7 UFC/mL. Para a formação do biofilme, 100 µL do inóculo foram adicionados, em triplicata, aos poços de microplacas de 96 poços e incubados a 35 °C por 24 h. Os biofilmes foram submetidos à TFDa utilizando azul de metileno a 0,001%, com períodos de incubação no escuro de 10 e 30 minutos, seguidos de exposição à luz LED vermelha (660 nm, 16 mW/cm²) por 15, 30 ou 60 minutos.

Posteriormente, para o biofilme de *S. Typhimurium*, foi avaliada a associação do azul de metileno a 0,001% com iodeto de potássio (KI) a 50 mM, preparado a partir de solução estoque de 1000 mM, utilizando 10 minutos de incubação no escuro e 15 minutos de irradiação. Também foi avaliado o fluido de dessorção associado ao azul de metileno a 2%. O fluido foi composto por NaCl (6,8 g/L), KCl (2,2 g/L), NaHCO□ (25 g/L), NaH□PO□ (3,5 g/L) e Tween 80 (10 mL/L), sendo aplicado ao biofilme de *S. Typhimurium* antes da exposição à luz.

Foram utilizados grupos-controle contendo inóculo bacteriano sem iluminação, inóculo submetido somente à luz, inóculo associado ao KI e irradiado e controle escuro contendo fotossensibilizador e KI sem iluminação. Após os tratamentos, foram realizadas diluições seriadas e semeadura em Ágar Tryptic Soy (TSA), seguida de incubação a 37 °C por 24 h. A eficácia dos tratamentos foi determinada pela contagem de UFC e comparação da viabilidade bacteriana entre os grupos experimentais e controles.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos ensaios realizados com biofilmes de *Salmonella enterica* sorotipo Typhimurium e *Staphylococcus aureus*, a terapia fotodinâmica antimicrobiana utilizando azul de metileno a 0,001% foi avaliada após períodos de pré-incubação no escuro de 10 e 30 minutos, associados a tempos de irradiação de 15, 30 e 60 minutos. Em nenhuma dessas condições foi observada redução significativa da viabilidade dos biofilmes, indicando que o aumento tanto do tempo de contato com o fotossensibilizador quanto do período de exposição à luz não foi suficiente para potencializar a ação antimicrobiana do tratamento.

A ausência de efeito significativo do azul de metileno isolado pode estar relacionada à maior tolerância apresentada pelas células bacterianas quando organizadas em biofilme, condição que dificulta a penetração e a ação do fotossensibilizador sobre as células microbianas. Esses resultados evidenciaram a necessidade de modificar as condições experimentais e justificaram a associação com o iodeto de potássio, proposta com o objetivo de potencializar a ação fotodinâmica. Diante desses resultados, uma nova estratégia foi avaliada para o biofilme de *S. Typhimurium*, associando azul de metileno a 0,001% ao iodeto de potássio, com 10 minutos de incubação no escuro e 15 minutos de exposição à luz. Além disso, foi avaliada uma abordagem utilizando fluído associado ao azul de metileno a 2% em biofilme de *S. Typhimurium*, buscando alternativas capazes de aumentar a eficiência da TFDa sobre essa estrutura microbiana mais resistente.

A associação com KI promoveu redução de 1,75 log□□ UFC/mL em relação ao controle, enquanto o fluido associado ao azul de metileno apresentou redução de 2,53 log□□ UFC/mL.

CONCLUSÕES

A TFDa com azul de metileno a 0,001% isoladamente não apresentou efeito significativo sobre os biofilmes. A associação com KI promoveu redução do biofilme, porém, a associação fluído com azul de metileno a 2% apresentou maior redução. Esses resultados indicam potencial antimicrobiano das estratégias avaliadas, embora novos ensaios sejam necessários para confirmar sua eficácia.

AGRADECIMENTOS

Expresso minha gratidão à Fundação Araucária 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

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. **Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar: Informe 2024**. Brasília: Ministério da Saúde, 2024. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/publicacoes/surtos-de-doencas-de-transmissao-hidrica-e-alimentar-no-brasil-informe-2024/view. Acesso em: 7 ago. 2026.

SILVA, A. F. et al. **Photoinactivation of biofilms**. In: *Recent Trends in Biofilm Science and Technology*. Academic Press Elsevier, 2020. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/book/9780128194973/recent-trends-in-biofilm-science-and-technology. Acesso em: 7 ago. 2026.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Food safety**. Geneva: World Health Organization, 2022. Disponível em: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety. Acesso em: 7 ago. 2026.

YIN, R. et al. **Potentiation of antimicrobial photodynamic inactivation by addition of potassium iodide**. *Antibiotics*, Basel, v. 4, n. 3, p. 440–457, 2015.

ZADA, L. et al. In vitro study: methylene blue-based antibacterial photodynamic inactivation of *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2024. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38261091/. Acesso em: 7 ago. 2026.