



UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
BIOFOTÔNICA

SHIRLENE DE HOLANDA LIMA

AÇÃO DA TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA (aPDT) NA
DESCONTAMINAÇÃO DA MEMBRANA DE CELULOSE
BACTERIANA UTILIZADA EM TRATAMENTO DE QUEIMADURAS

São Paulo, SP

2026



SHIRLENE DE HOLANDA LIMA

**AÇÃO DA TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA (aPDT) NA
DESCONTAMINAÇÃO DA MEMBRANA DE CELULOSE
BACTERIANA UTILIZADA EM TRATAMENTO DE QUEIMADURAS**

**Dissertação apresentada à Universidade
Nove de Julho, para obtenção do título de
Mestre em Medicina – Biofotônica
Orientador: Prof. Dr. Renato Araujo Prates**

São Paulo, SP

2026



FICHA CATALOGRÁFICA

Lima, Shirlene de Holanda.

Ação da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) na descontaminação da membrana de celulose bacteriana utilizada em tratamento de queimaduras. / Shirlene de Holanda Lima. 2026.

72 f.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2026.

Orientador (a): Prof. Dr. Renato Araujo Prates.

1. Terapia fotodinâmica antimicrobiana. 2. Biofilme. 3. Candida albicans. 4. Membrana de celulose bacteriana. 5. Tratamento de queimaduras. 6. Azul de metileno.

I. Prates, Renato Araujo. II. Título

CDU 615.831



São Paulo, 03 de junho de 2026.

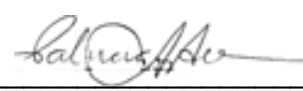
TERMO DE APROVAÇÃO

Aluno (a): Shirlene de Holanda Lima

Título da Dissertação: “Ação da terapia fotodinâmica antimicrobiana na descontaminação da membrana de celulose bacteriana utilizada em tratamento de queimaduras”.

Presidente: PROF. DR. RENATO ARAUJO PRATES 

Membro: PROF. DR. RODRIGO LABAT MARCOS 

Membro: PROF^a. DR^a. PATRÍCIA APARECIDA DA ANA 

DEDICATÓRIA

À minha **mãe Gercina**, que mesmo ausente fisicamente, permanece viva em cada conquista minha. Sua força, amor e exemplo me guiaram até aqui. Dedico este trabalho à mulher que me ensinou o valor da coragem, da fé e da perseverança e que continua sendo minha maior inspiração em silêncio e eternidade. Minha prima **Sonia Bessa**, grande pesquisadora na área de educação que sempre foi grande inspiração.

AGRADECIMENTOS

A **Deus** e ao meu **Pai Oxumarê**, minha reverência e gratidão pela força, proteção e movimento que me sustentaram quando o caminho pareceu pesado. Foi na fé que encontrei coragem para continuar.

Aos meus filhos, **Pedro e Kauan**, que transformam cansaço em propósito e me lembram todos os dias por que vale a pena. Vocês são a minha alegria e o meu norte.

À minha esposa, **Carla Rozendo**, por todo amor paciente, pela presença firme e por acreditar em mim mesmo quando eu duvidei. Obrigada por cada renúncia silenciosa e por cuidar do que eu não podia.

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Renato Araujo Prates**, pela orientação competente, pelas provocações intelectuais e pela generosidade no compartilhar saberes. Sua exigência justa elevou este trabalho.

À **minha chefia**, pelo estímulo constante, pela confiança depositada e por compreender a importância deste percurso acadêmico. O incentivo e a sensibilidade em cada palavra foram fundamentais para que eu persistisse.

Aos colegas de laboratório, pela parceria, pelas conversas que viraram ideias e pelas mãos sempre dispostas. Em especial, **Valherya Rodrigues Silva**, pela ajuda prática, pelas sugestões certeiras e pela companhia nos experimentos mais longos.

A todos que, de algum modo, contribuíram, família, amigos, docentes e técnicos, meu muito obrigada. Cada gesto de apoio está inscrito nestas páginas.

FINANCIAMENTOS

O PRESENTE TRABALHO FOI REALIZADO COM APOIO DA UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO (UNINOVE) - PROGRAMA DE BOLSAS PARA A FORMAÇÃO DO PESQUISADOR.

O PRESENTE TRABALHO FOI REALIZADO COM APOIO DA COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR (CAPES) – PROCESSO: 88887.136002/2025-00. TAXA

O PRESENTE TRABALHO FOI REALIZADO COM APOIO DO CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO (CNPq) – PROCESSO: CNPq - UNIVERSAL 420645/2023-3 E CNPq PRODUTIVIDADE 304734/2024-1

RESUMO

As queimaduras constituem lesões complexas que comprometem a integridade da barreira cutânea, favorecendo a colonização por microrganismos oportunistas, como *C. albicans*, o que pode dificultar o processo de cicatrização e reduzir a eficácia de terapias antimicrobianas convencionais. Entre os biomateriais empregados no tratamento de queimaduras, a membrana de celulose bacteriana (MCB) destaca-se por sua elevada biocompatibilidade, alta capacidade de retenção hídrica e aptidão para manter um microambiente úmido favorável à regeneração tecidual. Entretanto, sua suscetibilidade à contaminação microbiana evidencia a necessidade de estratégias de descontaminação que preservem suas propriedades funcionais. Nesse contexto, a Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (aPDT) surge como uma alternativa promissora, baseada na ativação fotoquímica de um fotossensibilizador (FS), capaz de gerar espécies reativas de oxigênio com ação antimicrobiana multialvo, sem indução de resistência microbiana e com baixa citotoxicidade tecidual. Este estudo teve como objetivo avaliar a eficácia da aPDT na descontaminação de membranas de celulose bacteriana contaminadas experimentalmente com *C. albicans* (ATCC 90028), analisando a interação do fotossensibilizador com o biomaterial, a redução da viabilidade microbiana e as propriedades biomecânicas das membranas após o tratamento. A metodologia compreendeu inicialmente a avaliação da incorporação do fotossensibilizador pela MCB por meio de análise espectrofotométrica em diferentes tempos experimentais. Em seguida, realizou-se a quantificação microbiológica pós-tratamento por contagem de unidades formadoras de colônia (UFC/mL), visando determinar a eficácia antimicrobiana da aPDT. Por fim, foram conduzidos ensaios mecânicos de tração para avaliação da força máxima por área e da deformação por área das membranas. Os resultados demonstraram interação imediata entre o fotossensibilizador e a MCB, com manutenção de comportamento estável ao longo do período experimental. A análise microbiológica evidenciou redução significativa da viabilidade de *C. albicans* após a aplicação da aPDT, confirmando a eficácia da estratégia de descontaminação. Os ensaios biomecânicos não demonstraram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos avaliados, indicando preservação das propriedades mecânicas da membrana após o tratamento. Conclui-se que a aPDT constitui uma estratégia segura e eficaz para a descontaminação de membranas de celulose bacteriana, associando interação estável do fotossensibilizador com o biomaterial, redução significativa da viabilidade microbiana e manutenção das propriedades biomecânicas da membrana, reforçando seu potencial para futuras aplicações no tratamento de queimaduras.

Palavras-chave: Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana, Biofilme, *Candida albicans*, Membrana de Celulose Bacteriana, Tratamento de queimaduras, Azul de Metileno

ABSTRACT

Burn injuries are complex lesions that compromise the integrity of the skin barrier, favoring colonization by opportunistic microorganisms such as *Candida albicans*, which may impair the healing process and reduce the effectiveness of conventional antimicrobial therapies. Among the biomaterials used in burn treatment, bacterial cellulose membranes (BCM) stand out due to their high biocompatibility, excellent water-retention capacity, and ability to maintain a moist microenvironment favorable for tissue regeneration. However, their susceptibility to microbial contamination highlights the need for decontamination strategies capable of preserving their functional properties. In this context, Antimicrobial Photodynamic Therapy (aPDT) has emerged as a promising alternative based on the photoactivation of a photosensitizer (PS), generating reactive oxygen species with broad-spectrum antimicrobial activity, low cytotoxicity, and minimal risk of inducing microbial resistance. This study aimed to evaluate the efficacy of aPDT in the decontamination of bacterial cellulose membranes experimentally contaminated with *C. albicans* (ATCC 90028), assessing the interaction between the photosensitizer and the biomaterial, the reduction of microbial viability, and the biomechanical properties of the membranes following treatment. Initially, photosensitizer incorporation into the BCM was evaluated through spectrophotometric analysis at different experimental time points. Subsequently, post-treatment microbiological quantification was performed by colony-forming unit (CFU/mL) counting to determine the antimicrobial efficacy of aPDT. Finally, tensile mechanical tests were conducted to evaluate maximum force per area and deformation per area of the membranes. The results demonstrated an immediate interaction between the photosensitizer and the BCM, with a stable behavior maintained throughout the experimental period. Microbiological analysis revealed a significant reduction in the viability of *C. albicans* following aPDT application, confirming the effectiveness of the decontamination strategy. Biomechanical assays showed no statistically significant differences between the evaluated groups, indicating preservation of the membrane's mechanical properties after treatment. In conclusion, aPDT represents a safe and effective strategy for the decontamination of bacterial cellulose membranes, combining stable photosensitizer–biomaterial interaction, significant reduction in microbial viability, and preservation of the membrane's biomechanical properties. These findings reinforce its potential for future applications in burn treatment. Keywords: Antimicrobial Photodynamic Therapy; *Candida albicans*; Bacterial Cellulose Membrane; Burns; Methylene Blue; Microbial Decontamination.

Keywords:

Antimicrobial Photodynamic Therapy; Biofilm; *Candida albicans*; Bacterial Cellulose Membrane; Burn Treatment; Methylene Blue.

DESTAQUES

- Aplicação da Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (aPDT) como estratégia não convencional para o controle microbiológico, reduzindo a dependência de antimicrobianos e o potencial desenvolvimento de resistência microbiana.
- Utilização da membrana de celulose bacteriana (MCB), biomaterial altamente biocompatível, transparente e sustentável, capaz de manter um ambiente úmido favorável à regeneração tecidual e permitir o acompanhamento visual da lesão sem necessidade de trocas frequentes do curativo.
- Caracterização da interação entre o fotossensibilizador e a MCB por meio da avaliação da incorporação e estabilidade do composto ao longo do tempo, contribuindo para a compreensão do comportamento do sistema fotoativo e para a definição de condições adequadas de aplicação da aPDT.
- Avaliação da integridade biomecânica da MCB após a aplicação da aPDT, incluindo análise da força máxima por área e da deformação por área, demonstrando a preservação das propriedades estruturais do biomaterial após o tratamento.
- Demonstração da eficácia da aPDT na redução da viabilidade de *Candida albicans* aderida às membranas de celulose bacteriana, evidenciando o potencial da associação entre MCB e terapia fotodinâmica para futuras aplicações no tratamento de queimaduras e infecções associadas.
- Contribuição direta para o desenvolvimento de protocolos inovadores de descontaminação de biomateriais, integrando eficácia antimicrobiana, preservação estrutural e otimização do uso do fotossensibilizador, com potencial para reduzir complicações infecciosas em pacientes queimados.

HIGHLIGHTS

- Application of Antimicrobial Photodynamic Therapy (aPDT) as a non-conventional strategy for microbial control, reducing reliance on antimicrobial agents and minimizing the potential development of microbial resistance.
- Use of bacterial cellulose membrane (BCM), a highly biocompatible, transparent, and sustainable biomaterial capable of maintaining a moist environment favorable for tissue regeneration while allowing visual monitoring of the wound without the need for frequent dressing changes.
- Characterization of the interaction between the photosensitizer and the BCM through the evaluation of photosensitizer incorporation and stability over time, contributing to the understanding of the photoactive system behavior and to the establishment of suitable conditions for aPDT application.
- Evaluation of the biomechanical integrity of the BCM following aPDT, including analysis of maximum force per area and deformation per area, demonstrating preservation of the structural properties of the biomaterial after treatment.
- Demonstration of the effectiveness of aPDT in reducing the viability of *Candida albicans* adhered to bacterial cellulose membranes, highlighting the potential of the association between BCM and photodynamic therapy for future applications in the treatment of burns and related infections.

RESUMO PARA LEIGOS

Queimaduras são lesões que danificam a pele e favorecem a entrada e a multiplicação de microrganismos, como o fungo *Candida albicans*. A presença desses microrganismos pode dificultar a cicatrização, aumentar o risco de complicações e tornar o tratamento mais complexo. Por esse motivo, o uso de curativos adequados é fundamental para proteger a ferida e favorecer a recuperação da pele. Entre os materiais utilizados no tratamento de queimaduras, destaca-se a membrana de celulose bacteriana, um biomaterial seguro, bem aceito pelo organismo e capaz de manter a ferida úmida, condição importante para o processo de cicatrização. Entretanto, assim como outros curativos, essa membrana pode ser contaminada por microrganismos, tornando necessária a utilização de métodos eficazes de descontaminação que não comprometam suas propriedades. Neste estudo, foi avaliada a Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana, uma técnica que combina uma substância sensível à luz com uma fonte luminosa para reduzir a presença de microrganismos de forma segura. Inicialmente, foi investigada a interação dessa substância com a membrana de celulose bacteriana, permitindo identificar condições adequadas para a aplicação da terapia. Em seguida, foi analisada a quantidade de fungos presentes antes e após o tratamento, demonstrando que a técnica promoveu redução significativa da viabilidade de *C. albicans*. Por fim, foram realizados testes mecânicos para verificar se o tratamento alterava a resistência da membrana, sendo observado que o biomaterial manteve suas características estruturais. Os resultados indicam que a Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana pode representar uma alternativa segura e eficaz para a descontaminação de membranas de celulose bacteriana utilizadas em queimaduras. Além de contribuir para o controle microbiológico, a técnica preservou as propriedades do biomaterial, demonstrando potencial para futuras aplicações na área da saúde.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:Queimadura 2o Grau líquido quente.....	20
Figura 2:Superfície corporal queimada de acordo com a regra de Wallace para seres humanos.....	21
Figura 3: Desenho Experimental	35
Figura 4: Recorte Membrana Celulose	36
Figura 5: Incorporação fotossensibilizador X membranas	37
Figura 6: Retirada sobrenadante da placa 48 poços.	37
Figura 7:Espectrofotometria placa 96 poços.....	38
Figura 8: Membrana de Celulose: Membracel® (Vuelo Pharma).	39
Figura 9:Membrana 4 mmx4 mm.....	39
Figura 10: Irradiação laser sobre o grupo	40
Figura 11:Poços categorizados com as amostras diluídas	42
Figura 12: Plaqueamento Grupos Experimentais	43
Figura 13: Leitura morte microbiana	43
Figura 14: Membranas de celulose bacteriana recortada em 13x25 mm	44
Figura 15: Aplicação fotossensibilizador MB.....	44
Figura 16: Membranas submetidas ao contato com Azul de Metileno seguido de irradiação com laser por 18 minutos	45
Figura 17: Teste de resistência mecânica no equipamento Intermetric - linha iM	46
Figura 18: Incorporação do fotossensibilizador Membrana de Celulose Bacteriana.	47
Figura 19: Cinética Membrana de Celulose Bacteriana e Azul de Metileno (MB). Dados são Média e desvio padrão	47
Figura 20: Resultado Viabilidade Microbiana. Dados são Média e desvio padrão	48
Figura 21 Efeito da Terapia fotodinâmica antimicrobiana sobre a deformação por área. Dados são média e desvio padrão.....	49
Figura 22 Efeito da Terapia fotodinâmica antimicrobiana sobre a força máxima por área. Dados são média e desvio padrão.....	50

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Necessidades específicas por fase da cicatrização e tipo de curativo indicado	26
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dosimetria da fonte de luz laser que será utilizada nos experimentos.

.....41

SUMÁRIO

CONTEXTUALIZAÇÃO	18
Queimaduras: Epidemiologia, Classificação e Impacto na Saúde Pública	18
Tratamento Atual das Queimaduras: Limites e Desafios	22
Tipos de Curativos e suas Aplicações Clínicas	24
Contaminação microbiana em membranas	28
Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana Associada à Membrana de Celulose Bacteriana 29	
OBJETIVOS	33
Objetivo principal	33
Objetivos específicos	33
METODOLOGIA.....	34
Delineamento Experimental	34
Absorção fotossensibilizador nas membranas de celulose bacteriana	35
Micro-organismo e condições de cultivo	38
Preparo das membranas e inoculação fúngica	38
Grupos experimentais e protocolo de irradiação	40
Irradiação	41
Diluições seriadas e plaqueamento	42
Quantificação Microbiana	43
Ensaio Mecânicos de tração das Membranas de Celulose Bacteriana	44
Análise Estatística	46
Resultados	47
Cinética de Interação	47
Inativação microbiana	48
Testes mecânicos	49
Discussão.....	51
Incorporação e Retenção do Fotossensibilizador pela Membrana de Celulose Bacteriana	51
Efeito da Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana sobre Candida albicans	52
Avaliação das Propriedades Biomecânicas da Membrana de Celulose Bacteriana ..	53
Limitações e Perspectivas Futuras.....	54
Conclusão	56
REFERÊNCIAS	57

ANEXO I Revisão de literatura	63
-------------------------------------	----

CONTEXTUALIZAÇÃO

Queimaduras: Epidemiologia, Classificação e Impacto na Saúde Pública

As queimaduras são lesões traumáticas causadas pela transferência de energia térmica, química, elétrica ou por radiação aos tecidos, configurando um importante problema de saúde pública devido à elevada incidência e ao impacto sobre a morbimortalidade mundial. Além das repercussões imediatas, essas lesões podem resultar em sequelas físicas, funcionais e psicológicas permanentes, exigindo tratamento especializado e prolongado. Estima-se que milhões de novos casos ocorram anualmente em todo o mundo, com importante impacto sobre a qualidade de vida, os sistemas de saúde e os custos assistenciais, especialmente em países de baixa e média renda (Rowan et al., 2015; Smolle et al., 2017; Yakupu et al., 2022; Lee et al., 2025).

Segundo Yakupu et al. (2022), estima-se que tenham ocorrido aproximadamente 8,38 milhões de novos casos de queimaduras em todo o mundo em 2019, evidenciando a magnitude desse agravo e sua relevância para os sistemas de saúde, especialmente em países de baixa e média renda, onde a carga da doença é mais expressiva.

Apesar dos avanços nas medidas preventivas e no tratamento dos pacientes queimados, as queimaduras continuam associadas a elevadas taxas de hospitalização, incapacidade e mortalidade. No mesmo período, foram registradas aproximadamente 111 mil mortes relacionadas a queimaduras em nível global, com maior impacto em populações vulneráveis, como crianças e indivíduos residentes em regiões de menor desenvolvimento socioeconômico (YAKUPU et al., 2022). Além disso, a extensão da superfície corporal queimada constitui um dos principais determinantes da gravidade clínica, do prognóstico e da sobrevida desses pacientes. (Lee et al., 2025).

De acordo com Lee et al. (2025), embora as queimaduras envolvendo menos de 20% da superfície corporal representem a maioria dos casos, as lesões extensas ($\geq 20\%$ da superfície corporal queimada) estão associadas a maior carga de incapacidade, necessidade de internação prolongada e demanda por cuidados especializados.

Nesse contexto, as complicações infecciosas destacam-se entre os principais desafios clínicos relacionados ao tratamento de pacientes queimados, sendo responsáveis pelo aumento da morbidade, prolongamento do tempo de internação,

elevação dos custos assistenciais e agravamento dos desfechos clínicos, permanecendo entre as principais causas de mortalidade em pacientes com queimaduras extensas (Rowan et al., 2015; Cunha et al., 2023).

Adicionalmente, Lee et al. (2025) demonstraram que a carga global das queimaduras permanece mais elevada em regiões com menor desenvolvimento socioeconômico, refletindo desigualdades no acesso às medidas preventivas e aos recursos terapêuticos. Dessa forma, torna-se fundamental o desenvolvimento de estratégias terapêuticas inovadoras capazes de prevenir e controlar infecções, reduzir a formação de biofilmes microbianos, favorecer o reparo tecidual e melhorar os desfechos clínicos dos pacientes acometidos por queimaduras (Percival et al., 2015; Rowan et al., 2015; Surur et al., 2024).

No contexto brasileiro, as queimaduras constituem importante causa de morbidade e podem variar desde lesões superficiais até quadros graves que demandam internação prolongada e cuidados especializados. Os acidentes domésticos representam uma das principais circunstâncias de ocorrência, sendo os líquidos superaquecidos e a exposição direta às chamas os agentes etiológicos mais frequentemente envolvidos, evidenciando a importância de ações preventivas e educativas voltadas à redução desses agravos (SANTOS et al., 2017).

As desigualdades regionais observadas na carga global das queimaduras estão diretamente relacionadas a fatores socioeconômicos, educacionais e estruturais. Regiões de baixa e média renda apresentam maior exposição a fatores de risco, como moradias precárias, uso inadequado de combustíveis para cocção e aquecimento, instalações elétricas inseguras e menor acesso a medidas preventivas, o que contribui para o aumento da incidência dessas lesões (Lee et al., 2025).

Além da maior exposição aos fatores de risco, a limitada disponibilidade de centros especializados para o tratamento de queimados e o acesso tardio aos serviços de saúde favorecem o aumento das complicações, sequelas e taxas de mortalidade. Dessa forma, a distribuição desigual dos recursos de saúde e das condições socioeconômicas influencia significativamente a gravidade das lesões e os desfechos clínicos dos pacientes queimados (Lee et al., 2025).

A classificação das queimaduras baseia-se principalmente na profundidade do dano tecidual e constitui um dos principais critérios para determinação da gravidade da lesão, definição do prognóstico e planejamento terapêutico. As queimaduras de primeiro grau acometem exclusivamente a epiderme e caracterizam-se por eritema e

dor leve. As lesões de segundo grau atingem a epiderme e parte da derme, sendo marcadas por edema, formação de bolhas e dor intensa em decorrência da exposição das terminações nervosas (Hettiaratchy & Dziwulski, 2004; Smolle et al., 2017).

As queimaduras de terceiro grau comprometem toda a espessura cutânea, podendo atingir o tecido subcutâneo e apresentar aspecto esbranquiçado, rígido ou necrótico, geralmente associado à perda de sensibilidade. Já as queimaduras de quarto grau representam a forma mais grave da lesão, estendendo-se para estruturas profundas, como músculos, tendões e ossos, estando relacionadas a maior risco de complicações, necessidade de intervenções cirúrgicas complexas e aumento da mortalidade (Church et al., 2006; Smolle et al., 2017; Lee et al., 2025).

A gravidade das queimaduras está diretamente relacionada à extensão da superfície corporal queimada (SCQ), sendo esse um dos principais parâmetros utilizados para estimar o prognóstico, a necessidade de internação e o risco de complicações sistêmicas. Queimaduras extensas apresentam maior probabilidade de evolução para infecções, distúrbios metabólicos, disfunção orgânica e aumento da mortalidade (Smolle et al., 2017; Lee et al., 2025). Além disso, queimaduras de espessura total frequentemente requerem intervenções cirúrgicas, incluindo desbridamento e enxertia autóloga, com o objetivo de promover a reepitelização, restaurar a integridade tecidual e reduzir o risco de complicações infecciosas (Hettiaratchy & Dziwulski, 2004; Orgill & Piccolo, 2009; Cunha et al., 2023).

Figura 1: Queimadura 2o Grau líquido quente



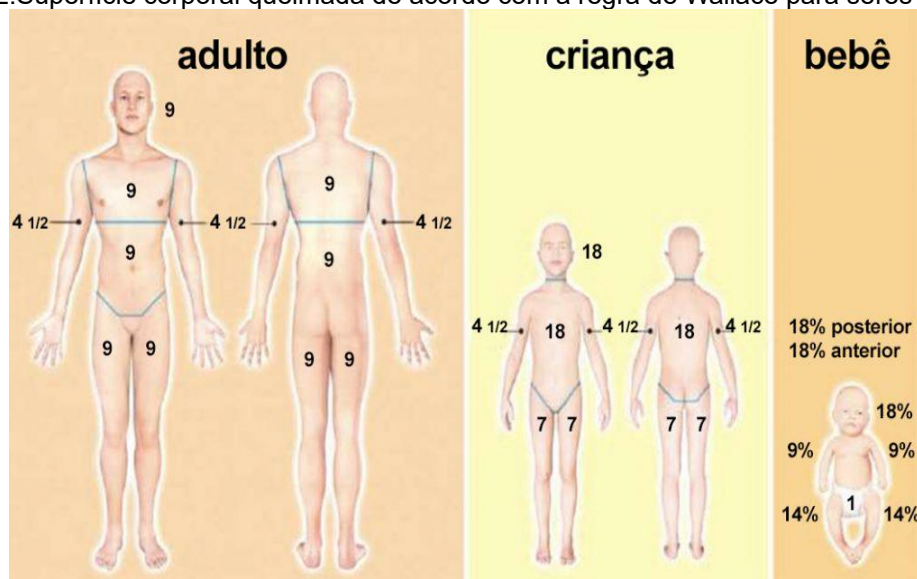
Fonte: Acervo pessoal autora.

A Figura 1 apresenta uma queimadura de segundo grau causada por água quente. Esse tipo de lesão acomete a epiderme e parte da derme, sendo caracterizado por eritema, edema, formação de bolhas e dor intensa em decorrência da preservação

parcial das terminações nervosas dérmicas (Rowan et al., 2015; Smolle et al., 2017). As queimaduras por escaldadura, resultantes do contato com líquidos superaquecidos, constituem importante causa de atendimento em serviços de urgência e emergência e estão frequentemente associadas a acidentes domésticos, representando um relevante problema de saúde pública no Brasil (Santos et al., 2017). A imagem ilustra características clínicas típicas desse tipo de lesão e reforça a importância da adoção de medidas preventivas voltadas à segurança no ambiente domiciliar.

A Figura 2 ilustra a distribuição percentual da superfície corporal segundo a Regra de Wallace, método amplamente utilizado para estimar a extensão da superfície corporal queimada por meio da divisão do corpo em regiões anatômicas correspondentes a múltiplos de 9%. Essa avaliação é essencial para a classificação da gravidade da lesão, o cálculo da reposição volêmica inicial e a definição das condutas terapêuticas mais adequadas (Greenhalgh, 2010; Smolle et al., 2017; Lee et al., 2025).

Figura 2: Superfície corporal queimada de acordo com a regra de Wallace para seres humanos



Fonte: Protocolo de SCQ Gretap (2024)

As características e a gravidade da queimadura dependem do agente etiológico, da intensidade e do tempo de exposição. Queimaduras elétricas podem causar lesões profundas em músculos, nervos e vasos sanguíneos, mesmo quando o dano cutâneo é discreto, podendo exigir intervenções cirúrgicas complexas. Já as queimaduras químicas, provocadas por ácidos, álcalis ou agentes oxidantes, desencadeiam reações teciduais intensas; lesões por álcalis tendem a ser mais

profundas devido à saponificação lipídica, enquanto os ácidos promovem necrose de coagulação, que pode limitar parcialmente a progressão do dano (Palao et al., 2010; Hettiaratchy & Dziwulski, 2004).

O manejo inicial das queimaduras químicas inclui a remoção imediata das roupas contaminadas e a irrigação contínua e abundante com água. A neutralização química é contraindicada, pois pode desencadear reações exotérmicas e agravar o dano tecidual (Hettiaratchy & Dziwulski, 2004). Queimaduras elétricas diferenciam-se das demais lesões térmicas pela capacidade de provocar extensos danos teciduais internos, muitas vezes desproporcionais às lesões cutâneas observadas. Dessa forma, esses pacientes necessitam de monitorização clínica rigorosa devido ao risco de complicações sistêmicas, incluindo arritmias cardíacas, rabdomiólise, insuficiência renal aguda e lesões neuromusculares decorrentes da passagem da corrente elétrica pelo organismo (Hettiaratchy & Dziwulski, 2004).

A profundidade e a extensão das queimaduras influenciam diretamente a gravidade clínica, o prognóstico e os desfechos dos pacientes. A perda da integridade da barreira cutânea favorece a colonização e a invasão microbiana, aumentando o risco de infecções locais e sistêmicas, que permanecem entre as principais causas de morbidade e mortalidade em pacientes com queimaduras extensas (Rowan et al., 2015; Cunha et al., 2023). Além disso, a intensa resposta inflamatória desencadeada pela lesão está associada a alterações metabólicas, imunológicas e hemodinâmicas que podem evoluir para síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SRIS), disfunção orgânica múltipla e óbito nos casos mais graves (Smolle et al., 2017).

Outro aspecto crítico é a perda significativa de fluidos e proteínas através da superfície lesionada, que pode resultar em hipovolemia, distúrbios hidroeletrólíticos e choque, tornando indispensáveis a reposição volêmica precoce e o monitoramento intensivo desses pacientes (Cartotto, Greenhalgh & Cancio, 2017). Além das complicações agudas, os sobreviventes frequentemente enfrentam consequências de longo prazo, incluindo cicatrizes hipertróficas, contraturas, limitações funcionais e impactos psicossociais relevantes, como ansiedade, depressão e redução da qualidade de vida, evidenciando a necessidade de uma abordagem multidisciplinar durante todo o processo de reabilitação (Rowan et al., 2015; Smolle et al., 2017).

Tratamento Atual das Queimaduras: Limites e Desafios

O tratamento das queimaduras tem evoluído significativamente nas últimas décadas, com foco na redução das complicações infecciosas, na aceleração do reparo tecidual e na melhoria dos desfechos clínicos. Devido à complexidade dessas lesões, o manejo requer uma abordagem multiprofissional integrada, envolvendo estabilização hemodinâmica, controle da infecção, cobertura adequada da ferida e estratégias voltadas à recuperação funcional do paciente (Rowan et al., 2015; Cunha et al., 2023). Nos casos graves, a reposição volêmica precoce, associada ao monitoramento contínuo dos parâmetros clínicos e hemodinâmicos, permanece fundamental para prevenir hipoperfusão tecidual, choque e disfunção orgânica múltipla (Cartotto, Greenhalgh & Cancio, 2017).

Apesar dos avanços terapêuticos, as infecções continuam entre as principais complicações associadas às queimaduras extensas. A formação de biofilmes microbianos sobre o leito da ferida favorece a persistência da infecção e dificulta a ação de antimicrobianos e dos mecanismos imunológicos do hospedeiro, contribuindo para a manutenção do processo inflamatório e o retardo da cicatrização (Percival et al., 2015; Surur et al., 2024). Além disso, microrganismos oportunistas, como *C. albicans*, apresentam mecanismos de virulência e adaptação que favorecem sua sobrevivência em ambientes hostis e reduzem a eficácia dos tratamentos convencionais (Mayer et al., 2013; Pappas et al., 2018).

Embora curativos avançados, antimicrobianos tópicos, enxertos autólogos e substitutos cutâneos tenham ampliado as possibilidades terapêuticas, desafios importantes ainda persistem, incluindo a dificuldade de erradicação de biofilmes, o aumento da resistência microbiana, a necessidade de múltiplas intervenções, a limitação de áreas doadoras para enxertia em grandes queimados e o prolongamento do tempo de cicatrização em lesões complexas (Rowan et al., 2015; Oliveira et al., 2024). Nesse contexto, cresce o interesse pelo desenvolvimento de biomateriais capazes de associar proteção da ferida, atividade antimicrobiana e estímulo à regeneração tecidual, contribuindo para o controle de infecções e para a otimização do processo cicatricial em queimaduras e outras lesões complexas (De Amorim et al., 2022; Horue et al., 2023; Zarepour et al., 2024).

Entre esses biomateriais, a celulose bacteriana destaca-se por sua elevada biocompatibilidade, capacidade de retenção hídrica, estrutura nanofibrilar porosa e potencial para incorporação de agentes bioativos, características que favorecem a manutenção de um ambiente adequado para a cicatrização e regeneração tecidual

(De Amorim et al., 2022; Horue et al., 2023; Zarepour et al., 2024). Adicionalmente, modificações funcionais da membrana permitem sua utilização como plataforma para liberação controlada de compostos terapêuticos, ampliando suas aplicações no tratamento de queimaduras e outras lesões cutâneas (Gonçalves et al., 2023).

Paralelamente, a terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) tem emergido como uma estratégia promissora para o controle de infecções associadas a biofilmes. A técnica baseia-se na ativação de um fotossensibilizador por uma fonte luminosa específica, promovendo a geração de espécies reativas de oxigênio capazes de causar danos oxidativos a proteínas, lipídios e ácidos nucleicos microbianos (Abrahamse & Hamblin, 2016; Cieplik et al., 2018). Evidências recentes demonstram que a aPDT é eficaz contra bactérias e fungos, incluindo cepas resistentes aos antimicrobianos convencionais, apresentando baixa probabilidade de indução de resistência microbiana (Cruzeira et al., 2023; Surur et al., 2024).

A associação entre membranas de celulose bacteriana e aPDT representa uma abordagem inovadora e potencialmente vantajosa para o tratamento de queimaduras infectadas. Além de atuar como cobertura biocompatível para a ferida, a membrana pode favorecer a retenção local do fotossensibilizador e aumentar sua disponibilidade no sítio da lesão, potencializando os efeitos antimicrobianos da terapia fotodinâmica (Gonçalves et al., 2023). Dessa forma, a integração dessas tecnologias surge como uma alternativa promissora para o controle de infecções, redução da carga microbiana e estímulo ao reparo tecidual, contribuindo para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes no manejo de queimaduras complexas e feridas infectadas (De Amorim et al., 2022; Gonçalves et al., 2023; Monteiro et al., 2023; Surur et al., 2024).

Tipos de Curativos e suas Aplicações Clínicas

O tratamento de feridas e queimaduras evoluiu consideravelmente ao longo das últimas décadas. Historicamente, eram utilizados principalmente curativos tradicionais, como gazes, algodão e ataduras, que, embora amplamente disponíveis e de baixo custo, apresentam limitações importantes, incluindo aderência ao leito da ferida, necessidade de trocas frequentes, maior desconforto ao paciente, dificuldade na manutenção da umidade ideal e proteção limitada contra contaminação microbiana (Boateng et al., 2008). Essas características podem favorecer o ressecamento do tecido de granulação e comprometer o processo cicatricial, especialmente em lesões

extensas e complexas. Em resposta a essas limitações, novos biomateriais e sistemas de cobertura foram desenvolvidos com o objetivo de otimizar o microambiente da ferida e favorecer o reparo tecidual (De Amorim et al., 2022; Horue et al., 2023; Zarepour et al., 2024).

Entre esses avanços destacam-se os chamados curativos modernos, capazes de promover um ambiente úmido favorável ao reparo tecidual, auxiliar no controle do exsudato, reduzir o risco de infecção e contribuir para a regeneração celular. Entre os principais exemplos encontram-se os hidrocoloides, hidrogéis, espumas de poliuretano, alginatos, filmes semipermeáveis, matrizes dérmicas e biomateriais de origem natural, como as membranas de celulose bacteriana. Esses materiais proporcionam maior conforto ao paciente, proteção da ferida e melhor adaptação às diferentes fases do processo cicatricial (Boateng et al., 2008; Portela et al., 2019; De Amorim et al., 2022).

Os hidrocoloides e hidrogéis atuam na manutenção de um ambiente úmido favorável à cicatrização, sendo particularmente úteis em feridas superficiais e queimaduras de espessura parcial (Boateng et al., 2008). As espumas de poliuretano apresentam elevada capacidade de absorção de exsudato, enquanto os filmes semipermeáveis funcionam como barreiras protetoras contra microrganismos, permitindo simultaneamente as trocas gasosas necessárias ao processo cicatricial (Boateng et al., 2008). Já os alginatos de cálcio são indicados para feridas com exsudação intensa devido à sua capacidade de formar um gel que auxilia no controle da umidade local (Stephen-Haynes, 2011).

Além disso, curativos impregnados com prata são amplamente utilizados pelo seu potencial antimicrobiano (Lansdown, 2002), enquanto matrizes à base de colágeno e outros biomateriais podem contribuir para a modulação do microambiente da ferida e favorecer a regeneração tecidual (Boateng et al., 2008). A escolha do curativo deve considerar fatores como profundidade da lesão, volume de exsudato, presença de infecção e estágio da cicatrização, uma vez que a seleção inadequada pode comprometer a reepitelização e aumentar o risco de complicações (Martinengo et al., 2019).

Apesar dos avanços obtidos com essas tecnologias, desafios importantes ainda persistem, especialmente relacionados ao controle de infecções persistentes, à formação de biofilmes microbianos e à necessidade de materiais capazes de associar atividade antimicrobiana e estímulo efetivo à regeneração tecidual. Essas limitações

continuam impulsionando o desenvolvimento de biomateriais inovadores para aplicação em feridas complexas e queimaduras (Percival et al., 2015; Horue et al., 2023; Oliveira et al., 2024; Zarepour et al., 2024).

Nesse contexto, a celulose bacteriana tem se destacado como um biomaterial promissor devido à sua elevada biocompatibilidade, capacidade de retenção hídrica, estrutura nanofibrilar porosa e potencial para incorporação de agentes terapêuticos. Além de atuar como cobertura protetora, esse material favorece a manutenção de um ambiente adequado à cicatrização e pode funcionar como plataforma para liberação local de compostos bioativos, características particularmente relevantes para o tratamento de queimaduras e outras lesões cutâneas complexas (Portela et al., 2019; De Amorim et al., 2022; Horue et al., 2023; Gonçalves et al., 2023; Zarepour et al., 2024).

Considerando que as necessidades da ferida variam ao longo do processo de cicatrização, a seleção do curativo deve ser individualizada e baseada na fase de reparo tecidual predominante. Diferentes tecnologias de cobertura podem ser empregadas para atender objetivos específicos, como controle do sangramento, redução da carga microbiana, manutenção da umidade adequada e estímulo à regeneração tecidual. Dessa forma, a escolha do curativo deve considerar as características clínicas da lesão e os objetivos terapêuticos de cada etapa do processo cicatricial (Boateng et al., 2008; Stephen-Haynes, 2011; Martinengo et al., 2019).

O Quadro 1 resume as principais necessidades de cada fase da cicatrização e os respectivos tipos de curativos indicados, com base nas características e aplicações descritas na literatura (Boateng et al., 2008; Lansdown, 2002; Stephen-Haynes, 2011; Martinengo et al., 2019).

Quadro 1: Necessidades específicas por fase da cicatrização e tipo de curativo indicado

FASE DA INTERVENÇÃO	NECESSIDADES PRINCIPAIS	TIPOS DE CURATIVOS INDICADOS
Hemostasia	Controle do sangramento	Curativos hemostáticos, alginatos de cálcio
Inflamação	Remoção de necrose, controle microbiano	Curativos com prata, iodo, carvão ativado
Proliferação	Estímulo à granulação e reepitelização	Hidrocoloides, hidrogéis, espumas, membranas
Remodelação	Proteção e apoio à reorganização do colágeno	Filmes semipermeáveis, curativos com colágeno

Fonte: Elaborado pela autora com base em Boateng et al. (2008), Lansdown (2002), Stephen-Haynes (2011) e Martinengo et al. (2019)

Membranas Biológicas e Sintéticas: Avanços na Engenharia de Tecidos

O avanço da engenharia de tecidos possibilitou o desenvolvimento de membranas terapêuticas capazes de atuar não apenas como coberturas protetoras, mas também como plataformas bioativas para o tratamento de queimaduras e feridas complexas. Diferentemente dos curativos convencionais, esses biomateriais apresentam propriedades estruturais e funcionais que favorecem a regeneração tecidual, a modulação da resposta inflamatória e o controle de infecções (De Amorim et al., 2022; Horue et al., 2023; Zarepour et al., 2024).

Entre os principais biomateriais utilizados destacam-se as matrizes dérmicas acelulares, os substitutos cutâneos sintéticos, as membranas amnióticas, os biomateriais à base de colágeno e os hidrogéis terapêuticos, amplamente empregados devido à sua capacidade de promover integração tecidual, proteção da ferida e suporte ao processo de cicatrização (Heimbach et al., 2003; Niknejad et al., 2008; Koob et al., 2014).

Nesse contexto, a membrana de celulose bacteriana (MCB) tem despertado crescente interesse científico devido às suas características estruturais únicas. Produzida por bactérias do gênero *Acetobacter*, a MCB é constituída por uma rede tridimensional de nanofibrilas de celulose altamente puras, organizadas de forma porosa e interconectada. Essa arquitetura confere elevada biocompatibilidade, alta capacidade de retenção hídrica, resistência mecânica e ampla área superficial disponível para interação com compostos bioativos (Portela et al., 2019; De Amorim et al., 2022; Horue et al., 2023).

Além de atuar como cobertura protetora para a ferida, a MCB pode funcionar como plataforma para incorporação e liberação controlada de moléculas terapêuticas, incluindo antimicrobianos, agentes cicatrizantes e fotossensibilizadores. Essa característica amplia significativamente suas possibilidades de aplicação na medicina regenerativa e no tratamento de queimaduras infectadas (Gonçalves et al., 2023; Monteiro et al., 2023).

Os avanços recentes na engenharia de biomateriais têm impulsionado o desenvolvimento de sistemas multifuncionais capazes de combinar proteção física, atividade antimicrobiana e estímulo ao reparo tecidual. Nesse cenário, a membrana

de celulose bacteriana destaca-se como uma das plataformas mais promissoras para associação com terapias avançadas, incluindo a terapia fotodinâmica antimicrobiana, tema abordado nos tópicos subsequentes (Horue et al., 2023; Gonçalves et al., 2023; Zarepour et al., 2024).

Contaminação microbiana em membranas

A contaminação microbiana de membranas terapêuticas e curativos avançados representa um desafio relevante no tratamento de queimaduras e feridas complexas. Embora esses biomateriais sejam desenvolvidos para favorecer o reparo tecidual e proteger o leito da lesão, a exposição prolongada ao ambiente da ferida pode favorecer a adesão e proliferação de microrganismos, culminando na formação de biofilmes. Essas comunidades microbianas organizadas comprometem a eficácia dos tratamentos convencionais, dificultam o controle da infecção e podem retardar significativamente o processo cicatricial (Percival et al., 2015; Surur et al., 2024).

Atualmente, o controle da contaminação microbiana e dos biofilmes em feridas e queimaduras baseia-se em uma abordagem multifatorial que inclui desbridamento mecânico ou cirúrgico para remoção do tecido desvitalizado e da biomassa microbiana, utilização de antimicrobianos tópicos e emprego de coberturas com atividade antimicrobiana, como curativos impregnados com prata, iodo ou polihexametileno biguanida (PHMB). Além disso, a limpeza periódica da lesão e o controle adequado da umidade local são medidas fundamentais para reduzir a colonização microbiana e prevenir a formação de biofilmes (Percival et al., 2015; Bjarnsholt, 2013).

Apesar dessas estratégias, a erradicação completa dos biofilmes permanece um desafio clínico. A matriz extracelular produzida pelos microrganismos atua como uma barreira física e química, dificultando a penetração dos agentes antimicrobianos e favorecendo a persistência microbiana. Como consequência, observa-se aumento da tolerância aos tratamentos convencionais, prolongamento do processo inflamatório e maior risco de infecções recorrentes (Flemming & Wingender, 2010; Percival et al., 2015).

Diante dessas limitações, novas abordagens terapêuticas vêm sendo investigadas com o objetivo de aumentar a eficácia do controle microbiano e reduzir a resistência associada aos biofilmes. Entre elas, destaca-se a terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT), que tem demonstrado potencial para reduzir a carga

microbiana e desestruturar biofilmes por meio da geração de espécies reativas de oxigênio, representando uma alternativa promissora para aplicação em membranas terapêuticas destinadas ao tratamento de queimaduras e feridas infectadas (Cieplik et al., 2018; Crugeira et al., 2023; Surur et al., 2024).

Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana Associada à Membrana de Celulose Bacteriana

A terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) tem emergido como uma estratégia promissora para o controle de infecções associadas a feridas complexas, queimaduras e biofilmes microbianos. A técnica baseia-se na combinação de três elementos fundamentais: um fotossensibilizador (FS), uma fonte luminosa com comprimento de onda adequado e oxigênio molecular presente no meio. Após a absorção da energia luminosa pelo fotossensibilizador, ocorre a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), capazes de promover danos oxidativos a proteínas, lipídios, membranas celulares e ácidos nucleicos, resultando na inativação microbiana (Babilas et al., 2010; Biel, 2015; Cieplik et al., 2018).

Diferentemente dos antimicrobianos convencionais, a aPDT apresenta um mecanismo de ação multialvo, atuando simultaneamente sobre diferentes estruturas celulares. Essa característica reduz a probabilidade de desenvolvimento de resistência microbiana e amplia seu potencial terapêutico frente a microrganismos resistentes e biofilmes maduros. Estudos demonstram eficácia da técnica contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos, incluindo *C. albicans*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, microrganismos frequentemente associados a infecções em feridas crônicas e queimaduras (Dai et al., 2012; Cieplik et al., 2018; Grandi et al., 2022).

Além da atividade antimicrobiana, evidências sugerem que a aPDT pode contribuir para a modulação da resposta inflamatória, estimulação da angiogênese e aceleração do reparo tecidual, fatores importantes para a recuperação de tecidos lesionados. Esses efeitos tornam a técnica particularmente interessante para aplicações em feridas de difícil cicatrização, nas quais o controle da infecção e a regeneração tecidual devem ocorrer simultaneamente (Dai et al., 2012; Grandi et al., 2022).

O sucesso da terapia fotodinâmica está diretamente relacionado às condições de aplicação, incluindo a escolha do fotossensibilizador, sua concentração, o tempo

de pré-incubação, a dose luminosa empregada e as características do microambiente em que será aplicada. Nesse contexto, a utilização de biomateriais capazes de atuar como sistemas de suporte e liberação controlada de fotossensibilizadores tem despertado crescente interesse científico, uma vez que pode aumentar a disponibilidade local do agente fotoativo e potencializar a eficácia da terapia (Gonçalves et al., 2023).

Entre os biomateriais investigados para essa finalidade, destacam-se os hidrogéis e as membranas de celulose bacteriana. Os hidrogéis apresentam elevada capacidade de retenção hídrica, biocompatibilidade e potencial para incorporação de agentes terapêuticos, favorecendo a manutenção de um ambiente úmido adequado ao reparo tecidual (Abdelhamid & Mathew, 2022; De Amorim et al., 2022). Entretanto, entre os biomateriais atualmente investigados para aplicações associadas à terapia fotodinâmica antimicrobiana, a membrana de celulose bacteriana (MCB) tem se destacado devido às suas características estruturais e físico-químicas diferenciadas. Sua elevada porosidade, capacidade de retenção hídrica, biocompatibilidade e organização em rede tridimensional de nanofibrilas favorecem tanto a manutenção de um ambiente adequado ao reparo tecidual quanto a incorporação e retenção de fotossensibilizadores, tornando-a uma plataforma promissora para aplicações associadas à aPDT (Portela et al., 2019; De Amorim et al., 2022; Horue et al., 2023).

A MCB é composta por uma rede tridimensional de nanofibrilas de celulose altamente puras, organizadas de forma porosa e interconectada. Essa estrutura confere elevada resistência mecânica, alta capacidade de retenção hídrica, excelente biocompatibilidade e grande área superficial disponível para interação com compostos bioativos (Portela et al., 2019; De Amorim et al., 2022; Horue et al., 2023). Além disso, a ausência de lignina e hemicelulose favorece maior estabilidade físico-química e previsibilidade biológica quando comparada a outros biomateriais de origem vegetal (Portela et al., 2019; Horue et al., 2023).

Essas propriedades permitem que a MCB atue não apenas como cobertura protetora para a ferida, mas também como plataforma para incorporação e retenção de fotossensibilizadores. Sua elevada porosidade favorece a absorção e distribuição homogênea desses compostos, enquanto sua capacidade de retenção hídrica contribui para a manutenção do ambiente necessário à atividade fotodinâmica. Dessa forma, a associação entre MCB e aPDT possibilita a concentração local do fotossensibilizador e potencializa sua ação antimicrobiana sobre microrganismos

presentes na superfície da membrana ou no leito da lesão (Abdelhamid & Mathew, 2022; Gonçalves et al., 2023).

Nos últimos anos, diversos estudos têm investigado a utilização da MCB como sistema de suporte para moléculas bioativas, incluindo antimicrobianos, compostos anti-inflamatórios e fotossensibilizadores. Essa abordagem busca integrar as propriedades estruturais do biomaterial aos efeitos terapêuticos da aPDT, promovendo simultaneamente proteção da ferida, controle da carga microbiana e estímulo ao reparo tecidual (De Amorim et al., 2022; Monteiro et al., 2023; Gonçalves et al., 2023).

Adicionalmente, novas estratégias de monitoramento, como técnicas de fluorescência, têm sido exploradas para otimizar a interação entre fotossensibilizador, luz e biomaterial, permitindo melhor controle dos parâmetros terapêuticos e maior previsibilidade dos resultados clínicos (Shiryaev et al., 2024).

Diante da suscetibilidade das membranas terapêuticas à colonização microbiana e da necessidade de desenvolver estratégias capazes de associar controle de biofilmes e preservação das propriedades estruturais dos biomateriais, a utilização da terapia fotodinâmica antimicrobiana associada à membrana de celulose bacteriana surge como uma abordagem promissora. Essa combinação apresenta potencial para ampliar a eficácia do tratamento de queimaduras e feridas complexas, contribuindo simultaneamente para o controle da infecção e para o processo de regeneração tecidual (Portela et al., 2019; Monteiro et al., 2023; Gonçalves et al., 2023; Surur et al., 2024).

Estudos recentes têm investigado a associação entre membranas de celulose bacteriana e terapia fotodinâmica antimicrobiana por meio da incorporação de fotossensibilizadores em biomateriais capazes de atuar como sistemas de suporte e liberação local. Essa estratégia busca aumentar a disponibilidade do fotossensibilizador no sítio da lesão e potencializar os efeitos antimicrobianos da aPDT (De Amorim et al., 2022; Gonçalves et al., 2023).

Diferentes condições experimentais têm sido avaliadas, incluindo variações na concentração do fotossensibilizador, nos parâmetros de irradiação luminosa e no tempo de exposição, com o objetivo de otimizar a eficácia da terapia e preservar as propriedades estruturais do biomaterial (Monteiro et al., 2023; Gonçalves et al., 2023).

Os principais desfechos analisados incluem redução da carga microbiana, inibição da formação de biofilmes, retenção do fotossensibilizador e manutenção das

propriedades físico-químicas da membrana. De modo geral, os resultados demonstram que a associação entre MCB e aPDT apresenta potencial para ampliar a atividade antimicrobiana sem comprometer a integridade estrutural do biomaterial, favorecendo sua aplicação em feridas infectadas e queimaduras (De Amorim et al., 2022; Horue et al., 2023; Monteiro et al., 2023).

OBJETIVOS

Objetivo principal

Avaliar a eficácia da aPDT na descontaminação das membranas de celulose bacteriana, com foco na redução da carga fúngica.

Objetivos específicos

- Investigar a incorporação do fotossensibilizador nas membranas de celulose bacteriana;
- Quantificar a redução da carga fúngica após a aplicação da aPDT;
- Avaliar possíveis alterações mecânicas das membranas após o tratamento.

METODOLOGIA

Delineamento Experimental

O presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a absorção do fotossensibilizador pela membrana de celulose bacteriana (MCB), investigar a eficácia da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) na descontaminação desse biomaterial e verificar possíveis alterações em suas propriedades mecânicas após o tratamento.

Inicialmente, foi realizada a análise da cinética de absorção do azul de metileno (MB) pela MCB. Para essa etapa, as membranas foram incubadas com o fotossensibilizador e avaliadas em diferentes intervalos de tempo previamente estabelecidos, permitindo acompanhar a dinâmica de absorção e retenção do corante ao longo do período experimental. Cada condição experimental foi conduzida em momentos distintos, utilizando novas amostras e reagentes, com o objetivo de garantir a reprodutibilidade dos resultados.

Após a determinação da absorção do MB, as membranas foram submetidas à terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT), utilizando azul de metileno na concentração de 100 μM associado à irradiação com laser vermelho (660 nm; 100 mW).

Posteriormente, foram realizadas as análises microbiológicas e biomecânicas. Na avaliação microbiológica, foram utilizadas duas amostras por grupo experimental em cada repetição, visando determinar a eficácia da aPDT na redução da carga microbiana presente nas membranas. Para os ensaios biomecânicos, foram empregadas seis amostras por grupo experimental, permitindo avaliar possíveis alterações nas propriedades mecânicas da MCB após o tratamento.

A quantidade de amostras utilizada em cada etapa foi definida de acordo com os objetivos específicos de cada ensaio. Todos os procedimentos experimentais foram

conduzidos conforme as diretrizes estabelecidas pelo Manual de Experimentos em Microbiologia da Universidade Nove de Julho.

Figura 3: Desenho Experimental



Fonte: Elaborado com uso de ChatGPT 1

Absorção fotossensibilizador nas membranas de celulose bacteriana

Esta etapa teve como objetivo quantificar a absorção de azul de metileno (MB) pelas membranas de celulose bacteriana (MCB). Para isso, as membranas foram incubadas em solução contendo o fotossensibilizador e, após os períodos experimentais estabelecidos, o sobrenadante foi coletado para análise.

A quantificação do MB foi realizada por espectrofotometria em microplaca utilizando o sobrenadante obtido após a incubação das membranas. A concentração residual do fotossensibilizador presente na solução foi determinada e comparada à concentração inicial de MB. A diferença entre esses valores foi utilizada para inferir a quantidade de corante absorvida pelas membranas ao longo dos diferentes tempos experimentais.

Para a avaliação da cinética de absorção, as MCB foram recortadas em fragmentos padronizados de 4×4 mm (Figura 4) e pesadas individualmente em balança analítica, com o objetivo de minimizar possíveis variações estruturais entre as amostras. Cada fragmento foi então acondicionado individualmente em um poço de uma placa de microtitulação de 48 poços, garantindo a independência experimental entre as amostras.

Figura 4: Recorte Membrana Celulose

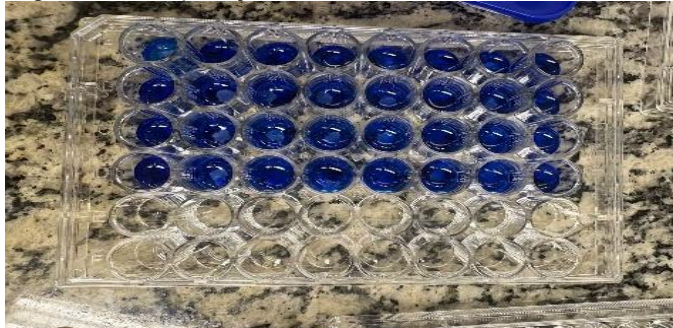


Fonte: Acervo Pessoal autora (2025)

A interação entre o fotossensibilizador e as MCB foi avaliada nos tempos de 0, 1, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 minutos, utilizando-se quatro amostras independentes ($n = 4$) para cada ponto temporal. Os intervalos foram definidos com o objetivo de acompanhar a dinâmica inicial de absorção do azul de metileno pela membrana,

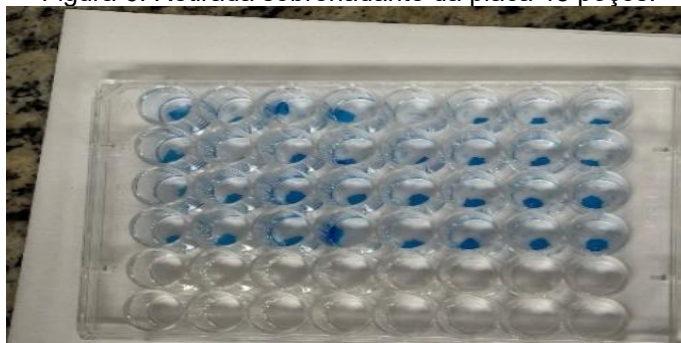
permitindo identificar o perfil temporal de incorporação do fotossensibilizador e o possível estabelecimento de um platô de absorção durante o período avaliado.

Figura 5: Incorporação fotossensibilizador X membranas



Fonte: Acervo Pessoal autora (2025)

Figura 6: Retirada sobrenadante da placa 48 poços.



Fonte: Acervo Pessoal autora (2025)

Ao término de cada período de incubação, o sobrenadante de cada poço foi cuidadosamente coletado e transferido para dois poços correspondentes de uma placa de 96 poços, permitindo a realização das leituras em duplicata.

A densidade óptica (OD) das amostras foi determinada por espectrofotometria em leitor de microplacas, utilizando comprimento de onda de 660 nm, correspondente ao pico de absorção do azul de metileno. Os valores de OD obtidos para o sobrenadante foram utilizados para avaliar a concentração residual do fotossensibilizador na solução após os diferentes períodos de incubação. A redução

da OD em relação à solução inicial foi considerada indicativa da absorção do azul de metileno pelas membranas de celulose bacteriana ao longo do tempo.

Figura 7:Espectrofotometria placa 96 poços.



Fonte: Acervo Pessoal autora (2025)

Micro-organismo e condições de cultivo

Foi utilizada a cepa padrão *C. albicans* ATCC 90028, cultivada em ágar Sabouraud Dextrose (SDA) e incubada a 37 °C. Para os experimentos, colônias isoladas foram transferidas para tubos Falcon contendo solução salina tamponada com fosfato (PBS 1×, pH 7,2) estéril e homogeneizadas para obtenção de uma suspensão celular padronizada. A seguir, a suspensão foi centrifugada para formação do pellet celular, com remoção do sobrenadante, seguida de lavagem com 5 mL de PBS estéril e ressuspensão em vórtex.

A densidade celular foi ajustada para $1,0$ a $3,0 \times 10^7$ UFC/mL, com base em protocolos previamente utilizados pelo grupo de pesquisa, sendo essa concentração adotada para o presente estudo piloto.

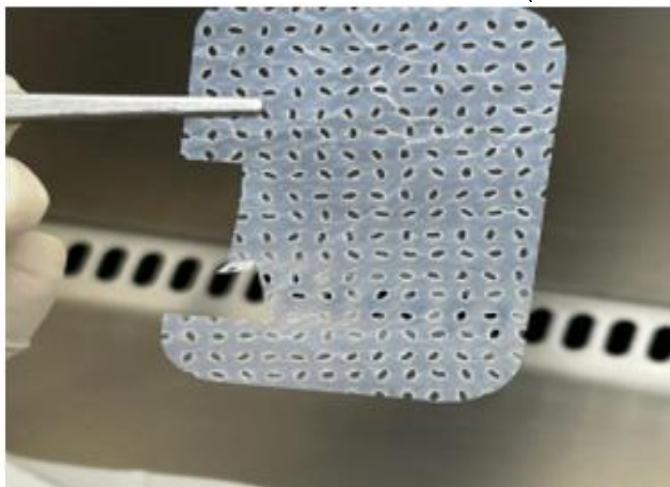
Preparo das membranas e inoculação fúngica

As membranas de celulose bacteriana foram recortadas em fragmentos de 4 × 4 mm sob condições assépticas e distribuídas individualmente em placas estéreis de 48 poços (Figuras 8 e 9). Cada fragmento recebeu 300 µL da suspensão de *C. albicans*, volume suficiente para promover o completo recobrimento da superfície da membrana e garantir contato uniforme entre as células fúngicas e o biomaterial durante o período de incubação.

As amostras foram mantidas em incubação por 10 minutos, período previamente estabelecido para permitir a interação inicial entre as células e a

superfície da membrana. Em seguida, o sobrenadante foi cuidadosamente removido com micropipeta estéril, visando à eliminação das células não aderidas. Posteriormente, cada poço foi lavado com 1 mL de PBS estéril (pH 7,2), aplicado lentamente próximo à superfície do líquido, com o objetivo de remover células remanescentes não aderidas sem interferir na interação célula–substrato estabelecida durante a incubação inicial.

Figura 8: Membrana de Celulose: Membracel® (Vuelo Pharma).



Fonte: Acervo pessoal autora (2025)

Figura 9: Membrana 4 mmx4 mm



Fonte: Acervo pessoal da autora (2025)

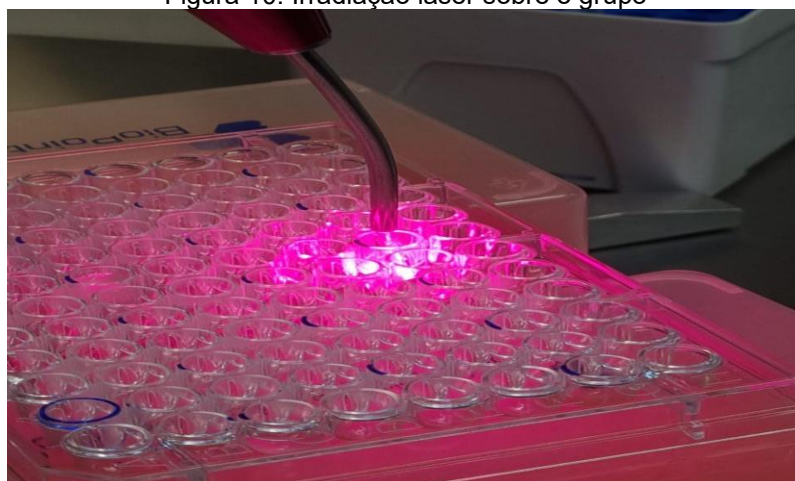
Grupos experimentais e protocolo de irradiação

As amostras foram distribuídas aleatoriamente em seis grupos experimentais, de acordo com o tratamento aplicado: C (Controle), L (Laser), FS (Fotossensibilizador) e aPDT nos tempos de 5, 10 e 15 minutos.

- **C (Controle):** sem exposição à luz ou fotossensibilizador;
- **L (Laser):** irradiadas por 15 minutos, sem fotossensibilizador;
- **FS (Fotossensibilizador):** expostas exclusivamente ao azul de metileno (MB) a 100 μ M, sem irradiação;
- **aPDT – 5, 10 e 15 minutos:** expostas ao fotossensibilizador e irradiadas por 5, 10 ou 15 minutos, respectivamente.

Após a aplicação do fotossensibilizador, as amostras permaneceram em contato com o composto por 1 minuto, correspondente ao período de pré-irradiação. Em seguida, foi realizada a irradiação com laser vermelho (660 nm; 100 mW), mantendo-se distância fixa de 1 cm entre a fonte de luz e a superfície das amostras. (figura 10). O equipamento foi previamente aferido e as condições de aplicação foram padronizadas para todos os grupos experimentais, visando garantir uniformidade na exposição luminosa e reprodutibilidade dos ensaios.

Figura 10: Irradiação laser sobre o grupo



Fonte: Acervo pessoal autora. (2025)

As amostras foram processadas de acordo com o grupo experimental:

- **Grupo Controle (C):** Após a adição de 990 μ L de PBS, as membranas foram homogeneizadas manualmente por dez movimentos padronizados, com o objetivo de

desprender as células aderidas. A seguir, foram coletados 20 μL da suspensão para realização das diluições seriadas.

- **Grupo Laser (L – 15 min):** As membranas foram irradiadas por 15 minutos, mantendo-se todos os parâmetros ópticos constantes. Em seguida, adicionado 990 μL de PBS, procedeu-se à homogeneização manual padronizada (dez movimentos) e coletado 20 μL da suspensão para as diluições seriadas.
- **Grupo 0 (Fotossensibilizador sem luz):** Após a adição de 990 μL de PBS, aplicado 10 μL de azul de metileno (MB) a 100 μM sobre cada membrana. Após 1 minuto de pré-incubação, o excesso de líquido foi removido cuidadosamente, sem contato direto com o biomaterial. Em seguida, adicionado 1 mL de PBS, realizado homogeneização manual (dez movimentos) e coletado 20 μL para as diluições seriadas.
- **Grupos 5, 10 e 15 min (FS + aPDT):** Após a adição de 990 μL de PBS a cada amostra, aplicaram-se 10 μL do fotossensibilizador e realizou-se 1 minuto de pré-incubação. As membranas foram então irradiadas pelos respectivos tempos de 5, 10 ou 15 minutos. Ao final da irradiação, adicionado 1 mL de PBS, homogeneizou-se manualmente (dez movimentos padronizados) e coletado 20 μL da suspensão resultante para posterior diluição seriada.

Irradiação

A fonte de luz utilizada para a excitação do fotossensibilizador foi o laser de diodo: Photon Lase III, DMC, São Carlos, Brasil (Figura 17), com os parâmetros citados na Tabela 1, a seguir:

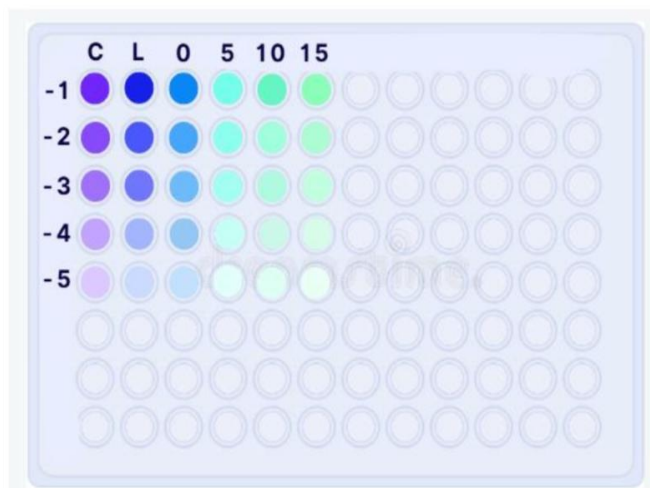
Tabela 1: Dosimetria da fonte de luz laser que será utilizada nos experimentos.

Parâmetros de irradiação		Laser
Comprimento de onda (nm)		660 $\pm$ 2
Modo de operação		Contínuo
Potência radiante (mW)		100
Área do feixe (cm^2)		0,4
Diâmetro do feixe (cm)		0,714
Irradiância (mW/cm^2)		250
Tempo de exposição (min)		5, 10, 15
Tempo de pré-irradiação (s)		60
Exposição radiante (J/cm^2)		75, 150, 225
Energia radiante (J)		30, 60, 90

Diluições seriais e plaqueamento

Após os tratamentos, as membranas foram submetidas à homogeneização suave com o auxílio de uma ponteira de micropipeta (20–200 µL), com o objetivo de desprender os microrganismos aderidos à sua superfície. Em seguida, foram realizadas diluições seriadas decimais (10^{-1} a 10^{-5}) em solução salina tamponada com fosfato (PBS) estéril, utilizando placas de microtitulação de 96 poços previamente preparadas com 180 µL de PBS em cada poço. Em cada etapa da diluição, foram transferidos 20 µL da suspensão para o poço subsequente, conforme ilustrado na Figura 11.

Figura 11: Poços categorizados com as amostras diluídas



Fonte: Acervo pessoal autora (2025)

Posteriormente, alíquotas de 10 µL de cada diluição foram semeadas em placas de ágar Sabouraud Dextrose por escorrimento controlado, assegurando distribuição uniforme do inóculo. Todas as amostras foram processadas em duplicata

para cada grupo experimental, e os ensaios foram conduzidos em repetições independentes ao longo do experimento. (Figura 12).

Figura 12: Plaqueamento Grupos Experimentais



Fonte: Acervo Pessoal autora (2025)

Quantificação Microbiana

As placas foram incubadas a 37 °C por até 24 horas, sob condições adequadas ao crescimento de *C. albicans*. Após a incubação, realizou-se a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC/mL), permitindo quantificar a carga fúngica residual em cada grupo experimental.

Para cada condição experimental (C, 0, L e irradiações de 5, 10 e 15 minutos), foram avaliadas cinco diluições sucessivas obtidas previamente. Após o período de incubação, procedeu-se à leitura visual das placas para determinação das colônias presentes.

Figura 13: Leitura morte microbiana



Fonte: Elaborado com uso de inteligência artificial (CHAT-GPT 5)

Ensaio Mecânicos de tração das Membranas de Celulose Bacteriana

As membranas de celulose bacteriana (MCB) foram recortadas em dimensões de 13×25 mm utilizando bisturi estéril. (Figura 14)

Figura 14: Membranas de celulose bacteriana recortada em 13x25 mm



Fonte: Acervo pessoal autora (2025)

O tratamento fotodinâmico (aPDT) foi realizado utilizando azul de metileno (MB) na concentração de $100 \mu\text{M}$ como fotossensibilizador, aplicado em volume de $50 \mu\text{L}$ por amostra (Figura 15). O volume foi definido de modo a promover o recobrimento da superfície da membrana, mantendo-se a mesma concentração de fotossensibilizador utilizada nas etapas experimentais anteriores. O corante permaneceu em contato com as membranas por 18 minutos. Ao término desse período, as amostras foram submetidas à irradiação com laser vermelho de 660 nm , seguindo os mesmos parâmetros ópticos previamente descritos (Figura 15).

Figura 15: Aplicação fotossensibilizador MB



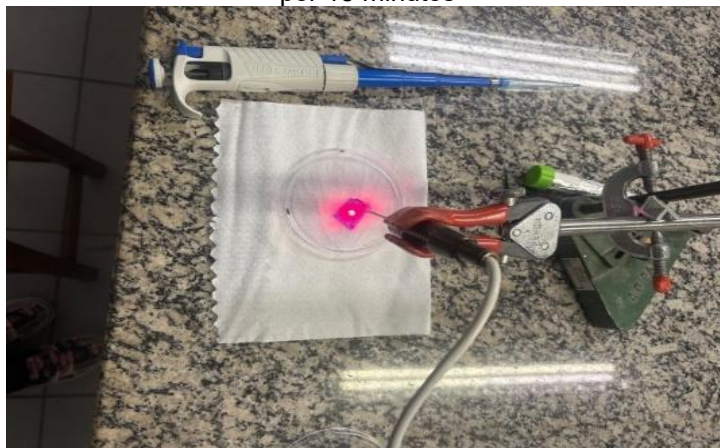
Fonte: Acervo pessoal autora (2025)

Para a avaliação biomecânica, foram definidos dois grupos experimentais, selecionados dentre os grupos previamente avaliados na etapa microbiológica:

- **Grupo MB (FS):** membranas submetidas exclusivamente ao contato com azul de metileno (100 μ M) por 18 minutos, sem irradiação;
- **Grupo MB + Luz (PDT):** membranas expostas ao azul de metileno (100 μ M) por 18 minutos, seguidas de irradiação com laser vermelho de 660 nm pelo mesmo período (Figura 16).

A escolha desses grupos teve como objetivo avaliar especificamente a influência da terapia fotodinâmica antimicrobiana sobre as propriedades biomecânicas da membrana de celulose bacteriana, por meio da comparação entre membranas expostas apenas ao fotossensibilizador e membranas submetidas à associação entre fotossensibilizador e irradiação luminosa.

Figura 16: Membranas submetidas ao contato com Azul de Metileno seguido de irradiação com laser por 18 minutos



Fonte: Acervo pessoal autora (2025)

Após o tratamento, cada amostra foi posicionada e fixada em suporte apropriado, mantendo área útil de $13 \times 3 \text{ mm}^2$, compatível com o equipamento de ensaio mecânico (Intermetric®, linha iM) (Figura 17). Os ensaios de tração foram

realizados utilizando célula de carga de 20 N, sendo obtidos os parâmetros de força máxima por área e deformação por área das membranas até o ponto de ruptura.

Todos os ensaios foram realizados em triplicata por condição experimental, com repetições independentes ao longo do experimento, totalizando seis amostras por grupo experimental, assegurando a reprodutibilidade das análises.

Figura 17: Teste de resistência mecânica no equipamento Intermetric - linha iM



Fonte: Acervo pessoal autora (2025)

Análise Estatística

A distribuição dos dados provenientes de todos os experimentos foi previamente avaliada pelo teste de normalidade de Kolmogorov–Smirnov, sendo observada aderência à distribuição normal em todos os conjuntos analisados. Dessa forma, as comparações entre os grupos experimentais foram realizadas por meio da análise de variância (ANOVA), adotando-se nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Nos casos em que a ANOVA indicou diferenças estatisticamente significativas, foi aplicado o teste post hoc de Tukey para identificação das diferenças entre pares de grupos.

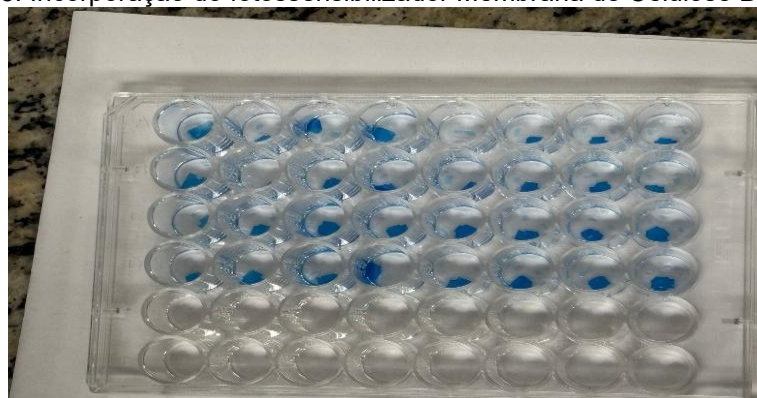
RESULTADOS

Cinética de Interação

A análise espectrofotométrica apresentada na Figura 18 demonstrou que a interação entre o fotossensibilizador (FS) e a membrana de celulose bacteriana (MCB) permaneceu estável ao longo do período experimental. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os tempos avaliados (ANOVA, $p = 0,05$), indicando manutenção da retenção do composto pela membrana.

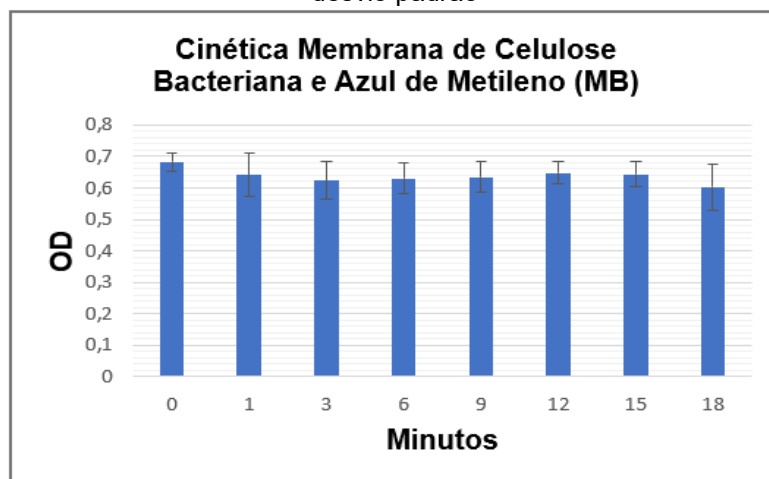
No tempo 0 minuto, observou-se incorporação inicial do fotossensibilizador pela membrana, indicando interação imediata com a matriz de celulose bacteriana. Nos tempos subsequentes (1, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 minutos), os valores de absorbância permaneceram semelhantes, dentro dos limites do desvio padrão, sem diferenças estatisticamente significativas entre os tempos avaliados.

Figura 18: Incorporação do fotossensibilizador Membrana de Celulose Bacteriana.



Fonte: Acervo pessoal autora (2025)

Figura 19: Cinética Membrana de Celulose Bacteriana e Azul de Metileno (MB). Dados são Média e desvio padrão



Fonte: Acervo pessoal autora (2026)

Inativação microbiana

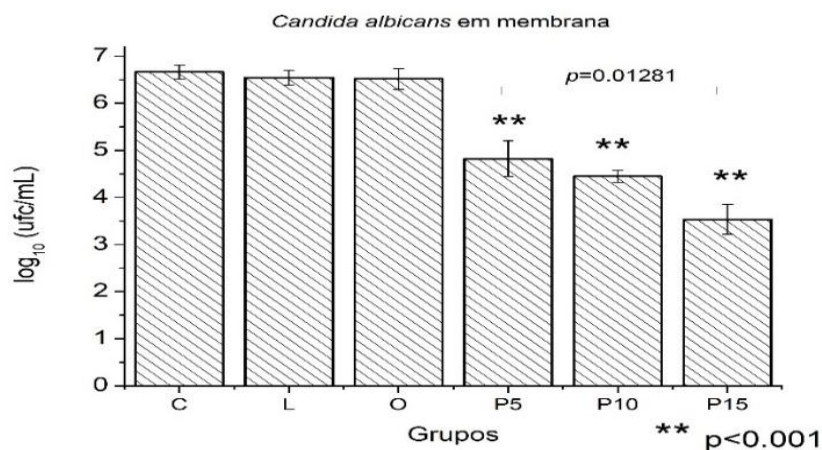
A análise dos valores médios de crescimento de *C. albicans* ($\log_{10}$ UFC/mL), apresentada na Figura 19, demonstrou o comportamento do microrganismo frente aos diferentes tratamentos avaliados.

Os grupos C (controle), L (laser isolado) e O (azul de metileno isolado) apresentaram valores médios próximos de $6,5 \log_{10}$ UFC/mL, sem diferenças estatisticamente significativas entre si (ANOVA, $p > 0,05$). Esses grupos foram utilizados como referência para comparação com os grupos submetidos à terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT).

Nos grupos submetidos à aPDT observou-se redução significativa da viabilidade de *C. albicans* em relação aos grupos controle, laser isolado e fotossensibilizador isolado ($p < 0,001$). As contagens médias foram de aproximadamente $4,8 \log_{10}$ UFC/mL para o grupo P5, $4,4 \log_{10}$ UFC/mL para o grupo P10 e $3,5 \log_{10}$ UFC/mL para o grupo P15. Esses resultados sugerem uma tendência de redução progressiva da carga fúngica com o aumento do tempo de fotoativação.

A análise das comparações múltiplas demonstrou que todos os grupos submetidos à aPDT apresentaram redução significativa da carga fúngica em relação aos grupos C, L e O ($p < 0,001$). Entre os grupos irradiados, observou-se diferença significativa apenas entre P5 e P15 ($p = 0,01281$), sugerindo maior efeito antimicrobiano após o maior tempo de fotoativação. Não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas entre P5 e P10 ($p = 1,00$) ou entre P10 e P15 ($p = 0,197$).

Figura 20: Resultado Viabilidade Microbiana. Dados são Média e desvio padrão

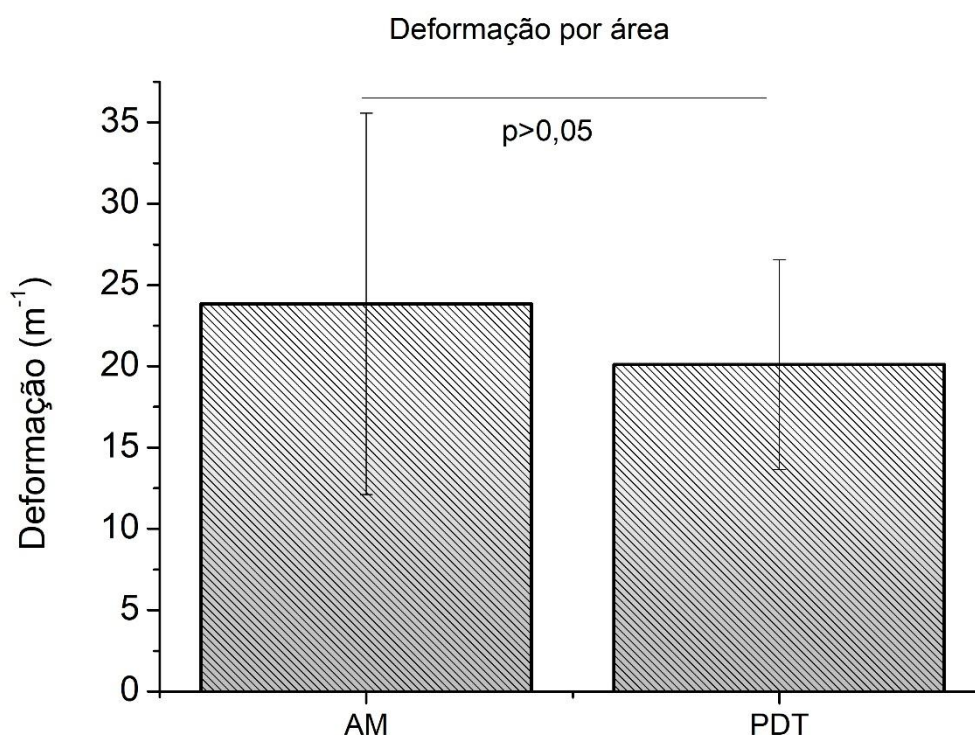


Testes mecânicos

A Figura 21 apresenta os resultados do ensaio de deformação por área (m^{-1}) das membranas de celulose bacteriana, comparando o grupo tratado apenas com azul de metileno (MB) ao grupo submetido à terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT).

Os valores médios de deformação foram de aproximadamente 24 m^{-1} para o grupo MB e 20 m^{-1} para o grupo PDT. Embora o grupo MB tenha apresentado valores numericamente superiores, a análise estatística não demonstrou diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$).

Figura 21 Efeito da Terapia fotodinâmica antimicrobiana sobre a deformação por área. Dados são média e desvio padrão



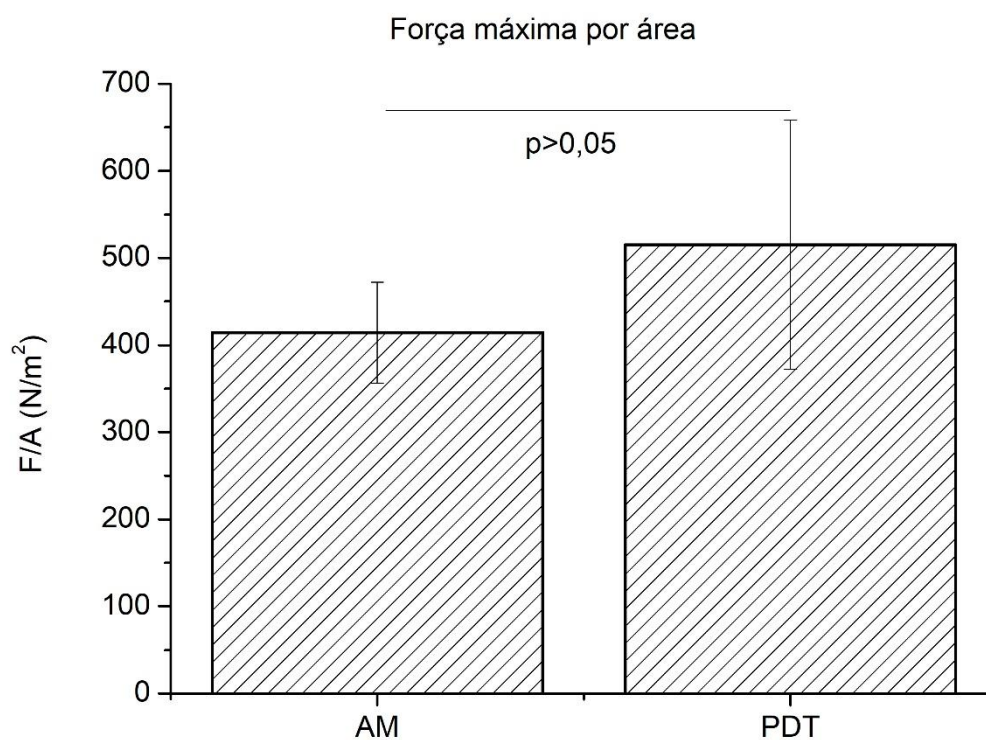
Fonte: Acervo Pessoal autora

A Figura 22 apresenta os valores médios de força máxima por área (F/A , $\text{N} \cdot \text{m}^{-2}$) das membranas de celulose bacteriana para os grupos MB e PDT. Os corpos de prova apresentaram valores médios de aproximadamente 410 N/m^2 no grupo MB e 510 N/m^2 no grupo PDT. Observou-se variabilidade entre as amostras, evidenciada pelos

desvios-padrão; entretanto, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p > 0,05$).

Em conjunto, os ensaios de deformação por área e força máxima por área não evidenciaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos avaliados ($p > 0,05$).

Figura 22 Efeito da Terapia fotodinâmica antimicrobiana sobre a força máxima por área. Dados são média e desvio padrão



Fonte: Acervo Pessoal

DISCUSSÃO

Incorporação e Retenção do Fotossensibilizador pela Membrana de Celulose Bacteriana

Os resultados espectrofotométricos demonstraram rápida interação entre o azul de metileno e a membrana de celulose bacteriana (MCB), sem aumento relevante da concentração residual do fotossensibilizador no sobrenadante ao longo dos tempos avaliados. Esse comportamento sugere elevada capacidade de incorporação e retenção do composto pela membrana, indicando uma interação estável entre o fotossensibilizador e o biomaterial.

A elevada capacidade de retenção hídrica da MCB pode ter contribuído diretamente para os resultados observados. Devido à sua estrutura altamente hidratada e à presença de uma rede tridimensional de nanofibras interconectadas, a membrana é capaz de absorver e reter grandes quantidades de líquidos e moléculas dissolvidas, favorecendo a distribuição homogênea de compostos bioativos em sua matriz (Portela et al., 2019; De Amorim et al., 2022; Horue et al., 2023). Essa característica tem sido amplamente explorada no desenvolvimento de curativos avançados e sistemas de liberação controlada, nos quais a manutenção local de agentes terapêuticos é considerada essencial para a eficácia clínica (Boateng et al., 2008; Abdelhamid & Mathew, 2022).

Outro aspecto relevante refere-se à organização nanofibrilar da celulose bacteriana. Estudos demonstram que a elevada porosidade e a ampla área superficial da MCB favorecem a difusão e distribuição de moléculas incorporadas, permitindo maior contato entre o fotossensibilizador e a matriz do biomaterial (Portela et al., 2019; Zarepour et al., 2024). Essa interação pode contribuir para uma distribuição mais uniforme do composto ao longo da membrana, favorecendo sua disponibilidade durante a fotoativação e potencializando o desempenho do sistema terapêutico.

A estabilidade observada ao longo dos tempos experimentais apresenta relevância adicional quando considerada a dinâmica da terapia fotodinâmica antimicrobiana. A eficiência da aPDT depende diretamente da presença do fotossensibilizador em quantidade suficiente no local de aplicação para absorver energia luminosa e transferi-la ao oxigênio molecular, promovendo a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Castano et al., 2004; Abrahamse & Hamblin, 2016). Dessa forma, sistemas capazes de manter o fotossensibilizador associado ao

biomaterial podem favorecer a eficiência fotoquímica e ampliar o potencial terapêutico da aPDT (Cieplik et al., 2018; Hamblin, 2016).

Efeito da Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana sobre *Candida albicans*

A análise microbiológica demonstrou redução significativa da viabilidade de *C. albicans* após a aplicação da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT), corroborando estudos que descrevem a elevada eficácia do azul de metileno fotoativado na inativação de fungos e biofilmes microbianos (Prates et al., 2011; Kato et al., 2013; Azizi et al., 2016).

Os resultados demonstraram redução progressiva da carga fúngica com o aumento do tempo de fotoativação, evidenciada pelas menores contagens observadas nos grupos submetidos à irradiação por 5, 10 e 15 minutos. O grupo P15 apresentou a menor viabilidade microbiana entre todos os grupos avaliados, indicando maior eficácia antimicrobiana após o maior tempo de exposição à luz. Quando comparado ao grupo controle, observou-se redução aproximada de 3 unidades logarítmicas, correspondente a uma diminuição superior a 99,9% da carga fúngica aderida às membranas.

O efeito antimicrobiano observado está relacionado à geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) durante a irradiação, capazes de promover danos oxidativos em membranas celulares, proteínas e ácidos nucleicos, resultando em comprometimento estrutural e funcional dos microrganismos (Castano et al., 2004; Abrahamse & Hamblin, 2016; Cieplik et al., 2018). Em função desse mecanismo de ação multialvo, a aPDT tem sido considerada uma alternativa promissora para o controle de microrganismos resistentes aos tratamentos convencionais (Hamblin, 2016; Cieplik et al., 2018).

A relevância desses achados torna-se ainda maior quando considerada a capacidade de *C. albicans* de formar biofilmes e apresentar mecanismos de tolerância aos antifúngicos convencionais (Mayer, Wilson & Hube, 2013; Conti & Gaffen, 2015). Biofilmes constituem importantes barreiras físicas e químicas ao tratamento de infecções, especialmente em feridas crônicas e queimaduras, dificultando a ação de agentes antimicrobianos e favorecendo a persistência da infecção (Costerton et al., 1999; Stewart & Franklin, 2008; Bjarnsholt, 2013).

No contexto das queimaduras, esse aspecto assume importância adicional, uma vez que a perda da integridade da barreira cutânea favorece a colonização

microbiana, a formação de biofilmes e o desenvolvimento de infecções capazes de retardar a cicatrização e agravar os desfechos clínicos. Dessa forma, estratégias capazes de reduzir a carga microbiana local sem comprometer o tecido em reparação são particularmente desejáveis nesse cenário.

Adicionalmente, mecanismos de resistência, incluindo sistemas de efluxo das famílias ABC e MFS, podem contribuir para a redução da susceptibilidade de *C. albicans* a diferentes agentes terapêuticos (White et al., 1998; Prasad & Goffeau, 2012; Arendrup & Patterson, 2017). Nesse contexto, a ação oxidativa promovida pela aPDT representa uma abordagem complementar de interesse para o controle de infecções fúngicas.

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que a associação entre a membrana de celulose bacteriana e a aPDT foi capaz de reduzir significativamente a viabilidade de *C. albicans*, reforçando o potencial dessa estratégia para aplicações futuras no tratamento de infecções associadas a feridas e queimaduras. Além da ação antimicrobiana observada, a utilização da MCB como suporte para o fotossensibilizador favorece sua retenção local e disponibilidade durante a irradiação, características desejáveis para sistemas terapêuticos fotoativados (Portela et al., 2019; De Amorim et al., 2022).

Avaliação das Propriedades Biomecânicas da Membrana de Celulose Bacteriana

Os resultados biomecânicos demonstraram que a aplicação da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) não promoveu alterações significativas na força máxima por área nem na deformação por área das membranas de celulose bacteriana. Esses achados indicam que a incorporação do azul de metileno e a exposição à irradiação não comprometeram a integridade estrutural do biomaterial nas condições experimentais avaliadas.

A manutenção simultânea da resistência mecânica e da capacidade de deformação sugere que os tratamentos empregados não promoveram alterações relevantes na organização da rede nanofibrilar da celulose bacteriana. A estrutura tridimensional formada por nanofibras interconectadas é responsável por propriedades como resistência ao manuseio, flexibilidade e elevada capacidade de retenção hídrica, características amplamente descritas como diferenciais desse biomaterial para aplicações em engenharia tecidual e tratamento de feridas (Portela et al., 2019; Abdelhamid & Mathew, 2022; Horue et al., 2023).

Estudos prévios demonstram que a MCB apresenta elevada estabilidade estrutural mesmo após diferentes processos de modificação físico-química e incorporação de compostos bioativos, mantendo suas propriedades mecânicas e sua funcionalidade biológica (De Amorim et al., 2022; Horue et al., 2023; Zarepour et al., 2024). Nesse contexto, a ausência de diferenças significativas observada neste estudo reforça a capacidade da membrana de suportar a incorporação do fotossensibilizador e a exposição à irradiação sem perda de desempenho mecânico.

A preservação dessas propriedades apresenta relevância particular para aplicações clínicas, uma vez que a resistência mecânica influencia diretamente o manuseio do curativo, enquanto a deformação está relacionada à sua capacidade de adaptação ao leito da ferida. Biomateriais que sofrem alterações estruturais após procedimentos terapêuticos podem apresentar perda de funcionalidade, redução da estabilidade dimensional e menor desempenho durante a aplicação clínica (Boateng et al., 2008; Portela et al., 2019).

Além disso, a manutenção das propriedades biomecânicas após a aPDT sugere que os processos fotoquímicos envolvidos na geração de espécies reativas de oxigênio não foram suficientes para promover degradação mensurável da matriz celulósica. Esse aspecto é particularmente importante para sistemas terapêuticos fotoativados, nos quais a eficácia antimicrobiana deve estar associada à preservação das características físicas do biomaterial (Cieplik et al., 2018; Abrahamse & Hamblin, 2016).

Dessa forma, os resultados obtidos corroboram a literatura que descreve a membrana de celulose bacteriana como um biomaterial estruturalmente estável e compatível com a incorporação de agentes terapêuticos, preservando suas propriedades biomecânicas mesmo após a associação com protocolos fotodinâmicos (Portela et al., 2019; De Amorim et al., 2022; Zarepour et al., 2024).

Limitações e Perspectivas Futuras

Embora os resultados obtidos sejam promissores, este estudo apresenta limitações inerentes aos modelos experimentais *in vitro*. As condições avaliadas não reproduzem integralmente a complexidade do ambiente clínico encontrado em feridas e queimaduras, no qual fatores como presença de exsudato, interação com células do hospedeiro, resposta imunológica, biofilmes multiespécies e variações fisiológicas do microambiente podem influenciar o desempenho terapêutico (Martinengo et al., 2019).

Além disso, a avaliação microbiológica foi realizada utilizando uma cepa padrão de *C. albicans* em condições controladas de laboratório, o que não contempla a diversidade microbiológica frequentemente observada em lesões infectadas. Da mesma forma, embora o modelo experimental tenha permitido avaliar a adesão fúngica à superfície da membrana, não foram realizadas análises específicas para caracterização estrutural de biofilmes por técnicas de microscopia ou quantificação de matriz extracelular.

No que se refere à avaliação biomecânica, os ensaios foram conduzidos após uma única aplicação da terapia fotodinâmica antimicrobiana, não sendo investigados possíveis efeitos cumulativos decorrentes de aplicações repetidas, situação que pode ocorrer em contextos clínicos.

Dessa forma, estudos futuros devem avaliar a aplicação da MCB fotoativada em modelos biológicos mais complexos, incluindo modelos in vivo de feridas e queimaduras infectadas. Adicionalmente, a investigação de diferentes concentrações de fotossensibilizador, parâmetros de irradiação, protocolos de reaplicação da aPDT e biofilmes multiespécies poderá contribuir para a otimização e validação clínica desse sistema terapêutico.

CONCLUSÃO

A membrana de celulose bacteriana apresentou incorporação estável do azul de metileno, permitindo a definição de uma janela adequada para a irradiação fotodinâmica. A aPDT promoveu redução da viabilidade de *C. albicans* sem comprometer a integridade estrutural do biomaterial, evidenciando a viabilidade da associação entre MCB e a aPDT para aplicação em curativos fotoativados no tratamento de feridas e queimaduras.

REFERÊNCIAS

- Akpan A, Morgan R. Oral candidiasis. *Postgrad Med J.* agosto de 2002;78(922):455–9. doi:10.1136/pmj.78.922.455 PubMed PMID: 12185216; PubMed Central PMCID: PMC1742467.
- Asogan M, Kim HY, Kidd S, Alastruey-Izquierdo A, Govender NP, Dao A, et al. *Candida parapsilosis*: A systematic review to inform the World Health Organization fungal priority pathogens list. *Med Mycol.* 27 de junho de 2024;62(6):myad131. doi:10.1093/mmy/myad131
- Azizi A, Amirzadeh Z, Rezai M, Lawaf S, Rahimi A. Effect of photodynamic therapy with two photosensitizers on *Candida albicans*. *J Photochem Photobiol B.* 1º de maio de 2016;158:267–73. doi:10.1016/j.jphotobiol.2016.02.027
- BRAZIL. Ministry of Health Epidemiological situation. 2024.
- Brown GD, Denning DW, Gow NAR, Levitz SM, Netea MG, White TC. Hidden killers: human fungal infections. *Sci Transl Med.* 19 de dezembro de 2012;4(165):165rv13. doi:10.1126/scitranslmed.3004404 PubMed PMID: 23253612.
- Carrera ET, Dias HB, Corbi SCT, Marcantonio R a. C, Bernardi ACA, Bagnato VS, et al. The application of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) in dentistry: a critical review. *Laser Phys.* dezembro de 2016;26(12):123001. doi:10.1088/1054-660X/26/12/123001 PubMed PMID: 29151775; PubMed Central PMCID: PMC5687295.
- Casu C. Photodynamic Therapy for Oral Candidosis: a new option? *Juniper Online J Case Stud.* 11 de maio de 2018;6(5). doi:10.19080/JOJCS.2018.06.555698
- Chandra J, Kuhn DM, Mukherjee PK, Hoyer LL, McCormick T, Ghannoum MA. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. *J Bacteriol.* setembro de 2001;183(18):5385–94. doi:10.1128/JB.183.18.5385-5394.2001 PubMed PMID: 11514524; PubMed Central PMCID: PMC95423.
- Choi S, Park H, Lee J, Seo H, Lee S. Optimum Treatment Parameters for Photodynamic Antimicrobial Chemotherapy on *Streptococcus mutans* Biofilms. *J Korean Acad Pediatr Dent.* 31 de maio de 2015;42(2):151–7. doi:10.5933/JKAPD.2015.42.2.151
- Chow YW, Pietranico R, Mukerji A. Studies of oxygen binding energy to hemoglobin molecule. *Biochem Biophys Res Commun.* 27 de outubro de 1975;66(4):1424–31. doi:10.1016/0006-291x(75)90518-5 PubMed PMID: 6.
- da Collina GA, Cabral FV, Monteiro CM, Machado GB, Gonçalves JMLA, Freire F, et al. The importance of combining methods to assess *Candida albicans* biofilms following photodynamic inactivation. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* junho de 2022;38:102769. doi:10.1016/j.pdpdt.2022.102769 PubMed PMID: 35183783.

- da Collina GA, Freire F, Santos TP da C, Sobrinho NG, Aquino S, Prates RA, et al. Controlling methylene blue aggregation: a more efficient alternative to treat *Candida albicans* infections using photodynamic therapy. *Photochem Photobiol Sci Off J Eur Photochem Assoc Eur Soc Photobiol*. 10 de outubro de 2018;17(10):1355–64. doi:10.1039/c8pp00238j PubMed PMID: 30183793.
- Costa ACBP, Rasteiro VMC, Pereira CA, Rossoni RD, Junqueira JC, Jorge AOC. The effects of rose bengal- and erythrosine-mediated photodynamic therapy on *Candida albicans*. *Mycoses*. janeiro de 2012;55(1):56–63. doi:10.1111/j.1439-0507.2011.02042.x PubMed PMID: 21668520.
- Dai T, Fuchs BB, Coleman JJ, Prates RA, Astrakas C, St. Denis TG, et al. Concepts and Principles of Photodynamic Therapy as an Alternative Antifungal Discovery Platform. *Front Microbiol*. 10 de abril de 2012;3:120. doi:10.3389/fmicb.2012.00120 PubMed PMID: 22514547; PubMed Central PMCID: PMC3322354.
- Freire F, Costa ACBP, Pereira CA, Beltrame Junior M, Junqueira JC, Jorge AOC. Comparison of the effect of rose bengal- and eosin Y-mediated photodynamic inactivation on planktonic cells and biofilms of *Candida albicans*. *Lasers Med Sci*. maio de 2014;29(3):949–55. doi:10.1007/s10103-013-1435-x PubMed PMID: 24013675.
- Garg AD, Bose M, Ahmed MI, Bonass WA, Wood SR. In vitro studies on erythrosine-based photodynamic therapy of malignant and pre-malignant oral epithelial cells. *PloS One*. 2012;7(4):e34475. doi:10.1371/journal.pone.0034475 PubMed PMID: 22485174; PubMed Central PMCID: PMC3317784.
- Ghannoum MA, Jurevic RJ, Mukherjee PK, Cui F, Sikaroodi M, Naqvi A, et al. Characterization of the oral fungal microbiome (mycobiome) in healthy individuals. *PLoS Pathog*. 8 de janeiro de 2010;6(1):e1000713. doi:10.1371/journal.ppat.1000713 PubMed PMID: 20072605; PubMed Central PMCID: PMC2795202.
- Gholami L, Shahabi S, Jazaeri M, Hadilou M, Fekrazad R. Clinical applications of antimicrobial photodynamic therapy in dentistry. *Front Microbiol*. 5 de janeiro de 2023;13:1020995. doi:10.3389/fmicb.2022.1020995
- Goldman GH, Da Silva Ferreira ME, Dos Reis Marques E, Savoldi M, Perlin D, Park S, et al. Evaluation of fluconazole resistance mechanisms in *Candida albicans* clinical isolates from HIV-infected patients in Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis*. setembro de 2004;50(1):25–32. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2004.04.009
- Goss DJ, Parkhurst LJ, Görisch H. Kinetic light scattering studies on the dissociation of hemoglobin from *Lumbricus terrestris*. *Biochemistry*. 16 de dezembro de 1975;14(25):5461–4. doi:10.1021/bi00696a012 PubMed PMID: 56.
- Harris F, Chatfield LK, Phoenix DA. Phenothiazinium based photosensitisers--photodynamic agents with a multiplicity of cellular targets and clinical applications. *Curr Drug Targets*. agosto de 2005;6(5):615–27. doi:10.2174/1389450054545962 PubMed PMID: 16026282.

- Hawser SP, Douglas LJ. Resistance of *Candida albicans* biofilms to antifungal agents in vitro. *Antimicrob Agents Chemother.* setembro de 1995;39(9):2128–31. doi:10.1128/AAC.39.9.2128 PubMed PMID: 8540729; PubMed Central PMCID: PMC162894.
- Hu S, Zhu F, Jiang W, Wang Y, Quan Y, Zhang G, et al. Retrospective Analysis of the Clinical Characteristics of *Candida auris* Infection Worldwide From 2009 to 2020. *Front Microbiol.* 2021;12:658329. doi:10.3389/fmicb.2021.658329 PubMed PMID: 34093471; PubMed Central PMCID: PMC8173142.
- Ikeh M, Ahmed Y, Quinn J. Phosphate Acquisition and Virulence in Human Fungal Pathogens. *Microorganisms.* 22 de agosto de 2017;5(3):48. doi:10.3390/microorganisms5030048 PubMed PMID: 28829379; PubMed Central PMCID: PMC5620639.
- Jardou M, Brossier C, Marquet P, Picard N, Druilhe A, Lawson R. Solid organ transplantation and gut microbiota: a review of the potential immunomodulatory properties of short-chain fatty acids in graft maintenance. *Front Cell Infect Microbiol.* 2024;14:1342354. doi:10.3389/fcimb.2024.1342354 PubMed PMID: 38476165; PubMed Central PMCID: PMC10927761.
- Kanpittaya K, Teerakapong A, Morales NP, Hormdee D, Priprem A, Weera-Archakul W, et al. Inhibitory Effects of Erythrosine/Curcumin Derivatives/Nano-Titanium Dioxide-Mediated Photodynamic Therapy on *Candida albicans*. *Mol Basel Switz.* 21 de abril de 2021;26(9):2405. doi:10.3390/molecules26092405 PubMed PMID: 33919066; PubMed Central PMCID: PMC8122479.
- Kato IT, Prates RA, Sabino CP, Fuchs BB, Tegos GP, Mylonakis E, et al. Antimicrobial Photodynamic Inactivation Inhibits *Candida albicans* Virulence Factors and Reduces In Vivo Pathogenicity. *Antimicrob Agents Chemother.* janeiro de 2013;57(1):445–51. doi:10.1128/AAC.01451-12 PubMed PMID: 23129051; PubMed Central PMCID: PMC3535901.
- Lacaz C da S, Porto E, Heins-Vaccari EM, Melo NT de. Guia para identificação: fungos, actinomicetos, algas de interesse médico. Em: Guia para identificação: fungos, actinomicetos, algas de interesse médico [Internet]. 1998 [citado 15 de dezembro de 2024]. p. 445–445. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-230791>
- LaFleur MD, Kumamoto CA, Lewis K. *Candida albicans* Biofilms Produce Antifungal-Tolerant Persister Cells. *Antimicrob Agents Chemother.* novembro de 2006;50(11):3839–46. doi:10.1128/AAC.00684-06
- Lee N, Bae Y, Jang S, Lee DW, Lee SW. Global, Regional, and National Burden of Burn Injury by Total Body Surface Area (TBSA) Involvement from 1990 to 2021, with Projections of Prevalence to 2050. *Healthcare.* 21 de agosto de 2025;13(16):2077. doi:10.3390/healthcare13162077
- Lee YH, Park HW, Lee JH, Seo HW, Lee SY. The photodynamic therapy on *Streptococcus mutans* biofilms using erythrosine and dental halogen curing unit.

- Int J Oral Sci. dezembro de 2012;4(4):196–201. doi:10.1038/ijos.2012.63 PubMed PMID: 23222991; PubMed Central PMCID: PMC3633065.
- Li L, Su S, Yang H, Xie HB. Clinical outcomes of antifungal therapy on *Candida* pulmonary colonisation in immunocompetent patients with invasive ventilation: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. outubro de 2024;14(10):e083918. doi:10.1136/bmjopen-2024-083918
- Lu SY. Oral Candidosis: Pathophysiology and Best Practice for Diagnosis, Classification, and Successful Management. *J Fungi*. 13 de julho de 2021;7(7):555. doi:10.3390/jof7070555
- Machado-de-Sena RM, Corrêa L, Kato IT, Prates RA, Senna AM, Santos CC, et al. Photodynamic therapy has antifungal effect and reduces inflammatory signals in *Candida albicans*-induced murine vaginitis. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. setembro de 2014;11(3):275–82. doi:10.1016/j.pdpdt.2014.03.013 PubMed PMID: 24792453.
- Metcalf D, Robinson C, Devine D, Wood S. Enhancement of erythrosine-mediated photodynamic therapy of *Streptococcus mutans* biofilms by light fractionation. *J Antimicrob Chemother*. julho de 2006;58(1):190–2. doi:10.1093/jac/dkl205 PubMed PMID: 16735434.
- Mylona V, Anagnostaki E, Parker S, Cronshaw M, Lynch E, Grootveld M. Laser-Assisted aPDT Protocols in Randomized Controlled Clinical Trials in Dentistry: A Systematic Review. *Dent J*. 22 de setembro de 2020;8(3):107. doi:10.3390/dj8030107 PubMed PMID: 32971996; PubMed Central PMCID: PMC7558404.
- Nadeem SF, Gohar UF, Tahir SF, Mukhtar H, Pornpukdeewattana S, Nukthamna P, et al. Antimicrobial resistance: more than 70 years of war between humans and bacteria. *Crit Rev Microbiol*. 2 de setembro de 2020;46(5):578–99. doi:10.1080/1040841X.2020.1813687
- de Oliveira-Silva T, Alvarenga LH, Lima-Leal C, Godoy-Miranda B, Carribeiro P, Suzuki LC, et al. Effect of photodynamic antimicrobial chemotherapy on *Candida albicans* in the presence of glucose. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. setembro de 2019;27:54–8. doi:10.1016/j.pdpdt.2019.05.032 PubMed PMID: 31146013.
- Pappas PG, Kauffman CA, Andes D, Benjamin DK, Calandra TF, Edwards JE, et al. Clinical Practice Guidelines for the Management Candidiasis: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 1º de março de 2009;48(5):503–35. doi:10.1086/596757
- Parambath S, Dao A, Kim HY, Zawahir S, Alastruey Izquierdo A, Tacconelli E, et al. *Candida albicans* —A systematic review to inform the World Health Organization Fungal Priority Pathogens List. *Med Mycol*. 27 de junho de 2024;62(6):myae045. doi:10.1093/mmy/myae045

- Pereira Gonzales F, Maisch T. Photodynamic inactivation for controlling *Candida albicans* infections. *Fungal Biol.* janeiro de 2012a;116(1):1–10. doi:10.1016/j.funbio.2011.10.001 PubMed PMID: 22208597.
- Pereira Gonzales F, Maisch T. Photodynamic inactivation for controlling *Candida albicans* infections. *Fungal Biol.* janeiro de 2012b;116(1):1–10. doi:10.1016/j.funbio.2011.10.001 PubMed PMID: 22208597.
- Prates RA, Fuchs BB, Mizuno K, Naqvi Q, Kato IT, Ribeiro MS, et al. Effect of Virulence Factors on the Photodynamic Inactivation of *Cryptococcus neoformans*. *PLoS ONE*. 18 de janeiro de 2013;8(1):e54387. doi:10.1371/journal.pone.0054387 PubMed PMID: 23349872; PubMed Central PMCID: PMC3548784.
- Prates RA, Kato IT, Ribeiro MS, Tegos GP, Hamblin MR. Influence of multidrug efflux systems on methylene blue-mediated photodynamic inactivation of *Candida albicans*. *J Antimicrob Chemother.* julho de 2011;66(7):1525–32. doi:10.1093/jac/dkr160 PubMed PMID: 21525022; PubMed Central PMCID: PMC3112030.
- Prażmo EJ, Kwaśny M, Łapiński M, Mielczarek A. Photodynamic Therapy As a Promising Method Used in the Treatment of Oral Diseases. *Adv Clin Exp Med Off Organ Wroclaw Med Univ.* 2016;25(4):799–807. doi:10.17219/acem/32488 PubMed PMID: 27629857.
- Rodríguez-Cerdeira C, Martínez-Herrera E, Fabbrocini G, Sanchez-Blanco B, López-Barcenas A, EL-Samahy M, et al. New Applications of Photodynamic Therapy in the Management of Candidiasis. *J Fungi.* 29 de novembro de 2021;7(12):1025. doi:10.3390/jof7121025
- de Santi MESO, Prates RA, França CM, Lopes RG, Sousa AS, Ferreira LR, et al. Antimicrobial photodynamic therapy as a new approach for the treatment of vulvovaginal candidiasis: preliminary results. *Lasers Med Sci.* dezembro de 2018;33(9):1925–31. doi:10.1007/s10103-018-2557-y PubMed PMID: 29931589.
- Sen T, Thummer RP. The Impact of Human Microbiotas in Hematopoietic Stem Cell and Organ Transplantation. *Front Immunol.* 7 de julho de 2022;13:932228. doi:10.3389/fimmu.2022.932228
- Silva S, Henriques M, Martins A, Oliveira R, Williams D, Azeredo J. Biofilms of non-*Candida albicans* *Candida* species: quantification, structure and matrix composition. *Med Mycol.* novembro de 2009;47(7):681–9. doi:10.3109/13693780802549594 PubMed PMID: 19888800.
- Suzuki LC, Kato IT, Prates RA, Sabino CP, Yoshimura TM, Silva TO, et al. Glucose modulates antimicrobial photodynamic inactivation of *Candida albicans* in biofilms. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* março de 2017;17:173–9. doi:10.1016/j.pdpdt.2016.12.003 PubMed PMID: 27993650.
- Tulasidas S, Rao P, Bhat S, Manipura R. A study on biofilm production and antifungal drug resistance among *Candida* species from vulvovaginal and bloodstream infections. *Infect Drug Resist.* 23 de novembro de 2018;11:2443–8.

doi:10.2147/IDR.S179462 PubMed PMID: 30538510; PubMed Central PMCID: PMC6260174.

Usacheva MN, Teichert MC, Biel MA. The interaction of lipopolysaccharides with phenothiazine dyes. *Lasers Surg Med.* 2003;33(5):311–9. doi:10.1002/lsm.10226 PubMed PMID: 14677158.

Wainwright M, O’Kane C, Rawthore S. Phenothiazinium photosensitisers XI. Improved toluidine blue photoantimicrobials. *J Photochem Photobiol B.* julho de 2016;160:68–71. doi:10.1016/j.jphotobiol.2016.03.035 PubMed PMID: 27093001.

Wiench R, Nowicka J, Pajączkowska M, Kuropka P, Skaba D, Kruczek-Kazibudzka A, et al. Influence of Incubation Time on Ortho-Toluidine Blue Mediated Antimicrobial Photodynamic Therapy Directed against Selected Candida Strains—An In Vitro Study. *Int J Mol Sci.* 11 de outubro de 2021;22(20):10971. doi:10.3390/ijms222010971 PubMed PMID: 34681632; PubMed Central PMCID: PMC8536188.

ANEXO I REVISÃO DE LITERATURA

CLASSIFICAÇÃO E ETIOLOGIA DAS QUEIMADURAS

As queimaduras configuram-se como lesões complexas resultantes da exposição a agentes térmicos, químicos, elétricos ou radiações, e apresentam impacto sistêmico expressivo, afetando funções metabólicas, imunológicas e psicológicas (Hettiaratchy e Dziewulski, 2004b). A maioria dos casos ocorre em ambientes domésticos, acometendo principalmente crianças, enquanto os acidentes elétricos predominam em adultos jovens, geralmente durante atividades ocupacionais ou de manutenção elétrica (Santos et al., 2017).

As lesões químicas provocam destruição tecidual variável conforme o agente envolvido: álcalis tendem a penetrar profundamente, causando necrose liquefativa, enquanto ácidos produzem escaras superficiais e maior risco de cicatrizes disfuncionais (Palao et al., 2010b). A extensão da área corporal queimada é parâmetro clínico essencial, e valores acima de 20% da superfície corporal queimada (SCQ) elevam o risco de sepse, distúrbios hidroeletrólíticos e choque hipovolêmico (Hettiaratchy e Dziewulski, 2004b; Rowan et al., 2015b).

A perda da integridade cutânea cria um ambiente favorável à colonização microbiana e à formação de biofilmes, que dificultam a penetração de agentes antimicrobianos convencionais e aumentam significativamente a morbimortalidade associada (Mah e O'Toole, 2001b).

Nesse contexto, a terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) surge como uma alternativa promissora, baseada na interação entre luz, fotossensibilizador e oxigênio molecular, resultando na geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) com ação microbicida e antifúngica, inclusive sobre cepas multirresistentes (Kato et al., 2013a; Hamblin, 2016).

COMPLICAÇÕES CLÍNICAS E RISCOS INFECCIOSOS

As queimaduras desencadeiam alterações fisiológicas complexas que comprometem o equilíbrio hemodinâmico, imunológico e metabólico, podendo evoluir para choque hipovolêmico, falência de múltiplos órgãos e até óbito, especialmente quando acometem mais de 20% da superfície corporal queimada (SCQ) (Greenhalgh, 2010; Rowan et al., 2015).

A infecção da ferida é uma das complicações mais frequentes e graves, favorecida pela perda da barreira cutânea e pela formação de biofilmes, que dificultam

a penetração e a eficácia de antimicrobianos convencionais (Mah e O'Toole, 2001). A colonização microbiana está associada ao aumento da mortalidade, ao prolongamento do tempo de hospitalização e à elevação dos custos assistenciais.

A progressão para sepse pode ocorrer de forma rápida e insidiosa, muitas vezes mascarada pela resposta inflamatória sistêmica, representando um dos principais fatores de risco para falência orgânica múltipla (Hettiaratchy e Dziewulski, 2004). Paralelamente, distúrbios hidroeletrolíticos e metabólicos, como hipovolemia e acidose metabólica, exigem reposição volêmica rigorosa nas primeiras 24 a 48 horas, a fim de prevenir dano renal e atraso no processo de cicatrização (Greenhalgh, 2010).

Complicações locais, como necrose tecidual e formação de escaras, requerem remoção cirúrgica precoce (desbridamento) para evitar proliferação microbiana e progressão para infecções mais graves. Além disso, a imunossupressão secundária à resposta inflamatória sistêmica reduz a eficiência das defesas do hospedeiro, dificultando o controle infeccioso mesmo diante da antibioticoterapia precoce (Rowan et al., 2015). O uso prolongado de antibióticos, por sua vez, pode selecionar cepas resistentes e promover desequilíbrios na microbiota (Hamblin, 2016).

Diante desse cenário, a terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) surge como estratégia terapêutica promissora, por atuar de forma localizada, com ação direta sobre microrganismos presentes em biofilmes e baixo risco de indução de resistência microbiana (Hamblin, 2016; Kato et al., 2013). Estudos experimentais e clínicos demonstram reduções significativas da carga microbiana em diferentes modelos infecciosos, sem evidência de resistência cruzada (Crugeira et al., 2023).

A associação da aPDT a biomateriais avançados, como a membrana de celulose bacteriana, pode potencializar seus efeitos ao oferecer um suporte estável, biocompatível e hidratado, além de favorecer a retenção do fotossensibilizador e contribuir para o processo de cicatrização (Portela et al., 2019; Lin et al., 2020).

EFEITOS NA REGENERAÇÃO TECIDUAL E MODULAÇÃO INFLAMATÓRIA

A discussão sobre a terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) em feridas crônicas e queimaduras ultrapassa o simples controle microbiano e abrange efeitos biológicos relevantes nas etapas da cicatrização e na modulação da resposta inflamatória, fatores determinantes para o prognóstico clínico. Desde o início dos anos 2000, estudos demonstram que protocolos fotodinâmicos podem modular as fases de

hemostasia, inflamação, proliferação e remodelação, resultando em melhorias na epitelização, angiogênese e organização de colágeno (Babilas et al., 2010).

O pulso oxidativo gerado durante a iluminação atua como sinalização intracelular para queratinócitos, fibroblastos e células endoteliais, estimulando processos regenerativos, quando adequadamente controlado (Cieplik et al., 2018). Em paralelo, a eliminação de patógenos reduz os estímulos pró-inflamatórios e favorece a transição da fase inflamatória para a fase proliferativa, promovendo migração celular coordenada e deposição organizada de matriz extracelular (Biel, 2015).

Modelos in vivo confirmam esses efeitos integrados. Em camundongos, a ALA-PDT promoveu redução da biocarga de *P. aeruginosa*, acelerou o fechamento das lesões e aumentou a formação de neovasos e fibras de colágeno (Yang et al., 2020).

No campo inflamatório, protocolos com luz vermelha (630–670 nm) demonstraram redução de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , IL-1 β e IL-6, concomitante ao aumento de mediadores reparadores, como TGF- β e VEGF (Babilas et al., 2010; Grandi et al., 2022). Também foi observada modulação fenotípica de macrófagos (M1 $\rightarrow$ M2) e menor recrutamento de neutrófilos, contribuindo para a formação de um microambiente favorável ao tecido de granulação (Grandi et al., 2022; Biel, 2015).

Em contexto clínico, ensaios com azul de metileno 0,01% associado a LED vermelho ($\approx$ 660 nm) demonstraram melhora significativa em parâmetros de cicatrização, com redução de exsudato e odor, aumento da granulação e ausência de eventos adversos relevantes (Ferreira et al., 2024). Relatos semelhantes evidenciam regressão de sinais flogísticos, menor colonização microbiana e aceleração da epitelização (Cesar et al., 2022). Em queimaduras, a luz azul ($\approx$ 415 nm) mostrou-se eficaz na redução da carga bacteriana, mesmo na ausência de fotossensibilizador exógeno (Dai et al., 2012).

Protocolos combinados também demonstram potencial terapêutico. A associação entre fotossensibilizadores e antimicrobianos pode resultar em efeito sinérgico na destruição microbiana e na melhoria do tecido de granulação (Zhao et al., 2021). Além disso, regimes com luz vermelha estão associados à maior expressão de fatores de crescimento, melhor organização das fibras colágenas e modulação de enzimas relacionadas ao remodelamento tecidual (Babilas et al., 2010; Grandi et al., 2022).

A eficácia da aPDT depende de parâmetros rigorosamente controlados, incluindo concentração do fotossensibilizador, tempo de pré-incubação, irradiância e densidade de energia, que determinam o equilíbrio entre ação antimicrobiana e estímulo reparador (Cieplik et al., 2018). A faixa de 630–670 nm associada ao azul de metileno é amplamente utilizada, enquanto sistemas baseados em ALA/MAL operam em torno de 635 nm. A luz azul (≈ 415 nm), por sua vez, pode ser empregada em situações específicas, especialmente quando o uso de fotossensibilizadores é limitado (Dai et al., 2012).

Coberturas à base de celulose bacteriana têm sido utilizadas como suporte adjuvante por sua capacidade de retenção de fotossensibilizadores e manutenção de um ambiente úmido e biocompatível, contribuindo para o desempenho terapêutico (Abdelhamid & Mathew, 2022).

Revisões recentes não relatam seleção de cepas resistentes após múltiplas aplicações, o que reforça a segurança microbiológica da aPDT, sustentada por seu mecanismo oxidativo multialvo (Surur et al., 2024). Assim, a técnica mostra-se especialmente relevante em biofilmes densos e infecções recalcitrantes, onde antibióticos convencionais apresentam resposta limitada.

Dessa forma, a contribuição da aPDT para a regeneração tecidual pode ser compreendida por meio de dois mecanismos complementares: 1) Eliminação de patógenos e redução de estímulos inflamatórios persistentes. 2) Sinalização oxidativa controlada, favorecendo recrutamento celular, reorganização da matriz extracelular e perfusão tecidual. Essa interação contribui para um ambiente favorável à regeneração tecidual, posicionando a aPDT como uma estratégia terapêutica promissora no manejo de feridas crônicas e queimaduras complexas. (Dai et al., 2012; Abrahamse & Hamblin, 2016; Hamblin, 2016; Baltazar et al., 2015; Grandi et al., 2022; Yang et al., 2020; Cesar et al., 2022).

MECANISMOS DE RESISTÊNCIA BACTERIANA EM SUPERFÍCIES BIOLÓGICAS

A resistência bacteriana em superfícies biológicas é um fenômeno multifatorial que dificulta a erradicação microbiana e favorece a persistência de infecções. Entre os principais mecanismos envolvidos destaca-se a formação de biofilmes, estruturas organizadas compostas por comunidades microbianas aderidas a superfícies e envoltas por uma matriz extracelular constituída por polissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos, que atua como barreira física e química à penetração de

antimicrobianos e modifica o microambiente local (Costerton et al., 1995; Donlan, 2002; Hall-Stoodley et al., 2004; Flemming & Wingender, 2010).

As células inseridas em biofilmes apresentam, frequentemente, atividade metabólica reduzida, o que diminui a eficácia de antibióticos que dependem de metabolismo ativo para exercer sua ação (Lewis, 2007; Stewart & Franklin, 2008). Esses biofilmes constituem ecossistemas microbianos dinâmicos, nos quais interações intercelulares e gradientes químicos modulam o comportamento das populações e a resposta aos agentes antimicrobianos.

A troca horizontal de genes é amplificada nesse ambiente, favorecendo a disseminação de elementos genéticos móveis, incluindo genes que codificam bombas de efluxo e enzimas inativadoras de antibióticos, o que aumenta a tolerância antimicrobiana e a persistência infecciosa (Mah & O'Toole, 2001). A produção de enzimas como β -lactamases é particularmente relevante em infecções associadas a biofilmes (Walsh, 2000).

Além disso, a heterogeneidade estrutural e fisiológica dessas comunidades microbianas cria microambientes com variações de pH, oxigênio e nutrientes, resultando em nichos localizados de resistência que dificultam a penetração e a ação de antimicrobianos (Walters et al., 2003).

Dispositivos médicos como cateteres, curativos e próteses são frequentemente colonizados por biofilmes, funcionando como reservatórios de bactérias multirresistentes e fontes importantes de infecção hospitalar (Weinstein & Hota, 2004; Otter et al., 2011). A permanência prolongada desses dispositivos em pacientes imunocomprometidos ou críticos intensifica o risco de infecções nosocomiais persistentes e reinfecções recorrentes, uma vez que superfícies biomédicas podem favorecer a formação de biofilmes, conferindo maior proteção aos microrganismos contra a resposta imune e os agentes antimicrobianos (Costerton et al., 1999; Donlan, 2002; Hall-Stoodley et al., 2004; Flemming et al., 2016; Percival et al., 2015).

Diante dessa complexidade, novas estratégias terapêuticas têm explorado a combinação de antimicrobianos convencionais com inibidores de biofilme ou agentes modificadores de superfície, com o objetivo de reduzir a adesão microbiana e desorganizar a matriz extracelular. Entre essas abordagens, destaca-se a terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT), capaz de atuar sobre células microbianas e componentes do biofilme por meio da geração de espécies reativas de oxigênio, favorecendo a redução da carga microbiana e aumentando a suscetibilidade aos

tratamentos convencionais (Maisch, 2015; Cieplik et al., 2018; Hamblin, 2016; Biel, 2015).

Paralelamente, o uso de nanopartículas metálicas, como prata, ouro e óxidos de zinco, tem mostrado atividade antimicrobiana e potencial sinérgico com agentes convencionais, configurando uma abordagem promissora contra microrganismos multirresistentes (Rai et al., 2009). Outras abordagens emergentes incluem o bloqueio de sistemas de quorum sensing e a inibição de enzimas da matriz extracelular, estratégias que visam desorganizar a estrutura do biofilme e aumentar a suscetibilidade microbiana às terapias convencionais (Bridier et al., 2011).

IMPACTOS DO BIOFILME NA CICATRIZAÇÃO E NA REUTILIZAÇÃO DE MEMBRANAS

A presença de biofilmes em feridas constitui uma das principais barreiras ao processo cicatricial, interferindo diretamente nas fases de inflamação, proliferação e remodelação. A liberação contínua de toxinas e metabólitos inflamatórios inibe a migração celular, compromete a atividade de fibroblastos e queratinócitos e retarda a regeneração tecidual (Bjarnsholt, 2013).

A retenção de exsudato e o acúmulo de resíduos metabólicos contribuem para a manutenção de um microambiente favorável à persistência microbiana, prolongando o tempo de cicatrização e dificultando a resolução da infecção (Costerton et al., 1999).

A estrutura complexa do biofilme está associada à falha terapêutica de antimicrobianos, uma vez que sua matriz polimérica dificulta a difusão de fármacos e permite a sobrevivência de subpopulações bacterianas dormentes, conhecidas como *persisters*, altamente tolerantes a antibióticos (Flemming et al., 2016).

Diante desses desafios, novas estratégias terapêuticas têm sido propostas, incluindo o uso de sistemas de liberação controlada de agentes antimicrobianos e abordagens baseadas em materiais com propriedades agentes disruptores de biofilme. Paralelamente, o uso de nanopartículas metálicas, como prata e óxido de zinco, tem demonstrado atividade antimicrobiana e potencial na desorganização de biofilmes, embora sua aplicação clínica ainda seja limitada por questões relacionadas à toxicidade e custo (Rai et al., 2009).

Outras abordagens emergentes incluem estratégias voltadas à desorganização da matriz extracelular e interferência na comunicação celular microbiana, com o

objetivo de aumentar a suscetibilidade dos microrganismos às terapias convencionais (Bridier et al., 2011).

TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA

A terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) é uma abordagem terapêutica que combina luz, oxigênio molecular e um fotossensibilizador (FS) para promover a inativação de microrganismos patogênicos. Por atuar por um mecanismo distinto dos antibióticos convencionais, a técnica apresenta baixo risco de desenvolvimento de resistência e tem demonstrado eficácia no controle microbiológico em diferentes modelos infecciosos (Hamblin, 2016; Cieplik et al., 2018).

A ativação do fotossensibilizador por uma fonte luminosa de comprimento de onda específico desencadeia a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), como oxigênio singlete, radicais superóxido e radicais hidroxila. Essas espécies promovem oxidação de lipídios de membrana, inativação de enzimas e danos a componentes celulares essenciais, resultando em morte microbiana (Castano et al., 2004; Abrahamse & Hamblin, 2016).

Em infecções associadas à formação de biofilmes, as espécies reativas de oxigênio podem interferir na matriz extracelular polimérica, promovendo alterações estruturais e aumento da permeabilidade local, o que contribui para a ação antimicrobiana e para a desorganização do biofilme (Dai et al., 2012; Biel, 2015).

Diversos fotossensibilizadores têm sido explorados para aplicação clínica. O azul de metileno destaca-se por sua eficácia e ampla utilização em protocolos de aPDT, especialmente quando associado à luz na faixa do vermelho, apresentando atividade antimicrobiana relevante, inclusive contra biofilmes e microrganismos resistentes (Prates et al., 2011; Cieplik et al., 2018). Compostos derivados de porfirinas e outros fotossensibilizadores também têm demonstrado potencial contra microrganismos multirresistentes (Wainwright et al., 2017).

A eficácia da aPDT depende de parâmetros físicos e biológicos, como comprimento de onda, densidade de energia, tempo de exposição, tipo e concentração do fotossensibilizador e características do tecido alvo. A faixa de 630 a 660 nm associada ao azul de metileno é amplamente empregada, com resultados consistentes na redução da carga microbiana em diferentes modelos experimentais (Cieplik et al., 2018; Hamblin, 2016).

Avanços recentes incluem o desenvolvimento de biomateriais capazes de atuar como sistemas de liberação de fotossensibilizadores, combinando ação antimicrobiana e suporte à cicatrização. Esses sistemas podem favorecer a retenção do fotossensibilizador e sua disponibilidade local, contribuindo para o desempenho terapêutico (Portela et al., 2019; De Amorim et al., 2022).

Apesar do potencial da aPDT, desafios ainda persistem quanto à padronização dos protocolos de aplicação e à otimização dos parâmetros terapêuticos, o que reforça a necessidade de estudos adicionais para sua consolidação no manejo de feridas crônicas e queimaduras infectadas (Cieplik et al., 2018; Surur et al., 2024).

GERAÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO E MORTE CELULAR

A terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) baseia-se na geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) por meio da ativação de um fotossensibilizador (FS) na presença de luz e oxigênio molecular, resultando em uma resposta oxidativa capaz de inativar microrganismos patogênicos. A energia absorvida pelo fotossensibilizador pode ser transferida ao oxigênio molecular, levando à formação de espécies altamente reativas, como oxigênio singlete (1O_2) e radicais livres (Wainwright et al., 2017; Cieplik et al., 2018). Essas espécies promovem oxidação de lipídios de membrana, inativação de proteínas e danos a componentes celulares essenciais, culminando na morte microbiana (Castano et al., 2004; Abrahamse & Hamblin, 2016).

As ROS apresentam elevada reatividade e atuam sobre diferentes alvos celulares, comprometendo a integridade da membrana plasmática e interferindo em processos metabólicos essenciais, o que contribui para a inativação microbiana (Hamblin et al., 2004; Cieplik et al., 2018).

Em biofilmes microbianos, a ação oxidativa das ROS pode promover alterações na matriz extracelular polimérica, favorecendo a desorganização estrutural e contribuindo para a redução da carga microbiana, incluindo patógenos como *C. albicans* (Kato et al., 2013; Dai et al., 2012).

A eficácia da aPDT depende de múltiplos fatores, como o tipo e a concentração do fotossensibilizador, a intensidade e o comprimento de onda da luz e a disponibilidade de oxigênio no tecido alvo. Compostos como o azul de metileno apresentam ampla utilização em protocolos de aPDT, com atividade antimicrobiana relevante em diferentes modelos experimentais (Cieplik et al., 2018; Hamblin, 2016).

A combinação de fotossensibilizadores com biomateriais, como a celulose bacteriana, pode contribuir para o desempenho terapêutico ao favorecer a retenção do fotossensibilizador e a manutenção de um ambiente úmido e biocompatível (Portela et al., 2019; Lin et al., 2020).

A ação oxidativa multialvo da aPDT sobre lipídios, proteínas e ácidos nucleicos representa uma estratégia eficaz frente à resistência antimicrobiana, uma vez que não depende de uma única via metabólica, reduzindo a probabilidade de desenvolvimento de resistência (Cieplik et al., 2018; Surur et al., 2024).

FOTOSSENSIBILIZADORES: AZUL DE METILENO, CURCUMINA E OUTROS

Os fotossensibilizadores (FS) são componentes centrais da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT), atuando como moléculas fotoativas capazes de absorver luz em comprimentos de onda específicos e, na presença de oxigênio molecular, gerar espécies reativas de oxigênio (ROS) responsáveis por danos oxidativos letais às estruturas microbianas (Wainwright et al., 2017).

A escolha do fotossensibilizador deve considerar parâmetros como absorção óptica adequada, estabilidade química, seletividade por estruturas microbianas, baixa toxicidade tecidual e eficiência quântica, fatores determinantes para o desempenho terapêutico (Bonnett, 1995).

A interação entre o FS e o tecido ou biofilme depende de propriedades como solubilidade, carga elétrica e afinidade molecular. Fotossensibilizadores catiônicos, como o azul de metileno, tendem a interagir com componentes da superfície microbiana, favorecendo a geração localizada de ROS. Porfirinas e ftalocianinas apresentam absorção na faixa do vermelho e do infravermelho próximo, permitindo maior penetração em tecidos (Bonnett, 1995; Gonçalves et al., 2023).

Além da atividade fotodinâmica, fatores como viabilidade de produção, custo e perfil de segurança devem orientar a escolha do fotossensibilizador. Estratégias recentes, como o uso de sistemas de liberação controlada e associação com biomateriais, têm sido exploradas com o objetivo de otimizar a eficácia terapêutica (Gonçalves et al., 2023).

Principais Fotossensibilizadores Utilizados na aPDT

- **Azul de Metileno (AM):** O azul de metileno destaca-se pela estabilidade química, solubilidade aquosa e absorção máxima em torno de 660 nm, o que favorece sua

ativação por luz na faixa do vermelho. Apresenta atividade antimicrobiana relevante, inclusive contra *C. albicans*, com capacidade de induzir danos oxidativos e desorganização celular (Kato et al., 2013; Cieplik et al., 2018). Estratégias como encapsulação e associação a biomateriais, incluindo a celulose bacteriana, têm sido exploradas com o objetivo de melhorar sua retenção e desempenho fotodinâmico (Gonçalves et al., 2023).

- **Curcumina:** A curcumina é um fotossensibilizador de origem natural ativado por luz na faixa do azul, apresentando propriedades antimicrobianas e potencial aplicação em aPDT. Sua eficácia pode ser limitada por baixa solubilidade e estabilidade, sendo frequentemente associada a sistemas de liberação, como nanopartículas e hidrogéis, para melhorar sua biodisponibilidade e desempenho terapêutico (Gonçalves et al., 2023).

- **Porfirinas e Ftalocianinas:** Esses compostos apresentam elevada eficiência quântica e absorção na faixa do vermelho e do infravermelho próximo, o que favorece sua aplicação em tecidos mais profundos. Demonstram atividade relevante contra microrganismos, incluindo cepas resistentes, sendo amplamente estudados em protocolos de aPDT (Castano et al., 2004; Wainwright et al., 2017).

- **Verde de Indocianina (ICG):** O verde de indocianina apresenta absorção na faixa do infravermelho próximo, permitindo maior penetração tecidual. Tem sido investigado como fotossensibilizador em aPDT, especialmente em associação com sistemas de liberação e diferentes fontes de luz, com potencial aplicação em infecções mais profundas (Abrahamse & Hamblin, 2016; Gonçalves et al., 2023).

A seleção do fotossensibilizador deve considerar a profundidade da infecção, o tipo de microrganismo, as propriedades físico-químicas do composto e sua interação com o tecido-alvo. Fotossensibilizadores como o azul de metileno, porfirinas e ftalocianinas apresentam ampla aplicação, enquanto outros compostos continuam sendo investigados com o objetivo de ampliar as possibilidades terapêuticas da aPDT frente à resistência antimicrobiana. (Castano et al., 2004; Bonnett, 1995; Abrahamse & Hamblin, 2016; Maisch, 2015; Wainwright et al., 2017; Monteiro et al., 2023).