

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta **Dissertação** será disponibilizado somente a partir de 26/09/2025.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Campus de Araraquara

AMANDA KOBERSTAIN SURUR

OTIMIZAÇÃO DA TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA EM *S. aureus*
VIA INIBIÇÃO DA CATALASE

Araraquara, SP

2022

AMANDA KOBERSTAIN SURUR

**OTIMIZAÇÃO DA TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA EM *S. aureus*
VIA INIBIÇÃO DA CATALASE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre, área de pesquisa em Microbiologia Clínica.

Orientadora: Profa. Dra. Carla Raquel Fontana Mendonça

Araraquara, SP

2022

S961o Surur, Amanda Koberstain.
Otimização da terapia fotodinâmica antimicrobiana em *S. aureus* via
inibição da catalase / Amanda Koberstain Surur. – Araraquara: [S.n.], 2022.
74 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia. Área Microbiologia Clínica.

Orientadora: Carla Raquel Fontana Mendonça.

1. Terapia Fotodinâmica Antibacteriana. 2. Azul de Metileno. 3. Curcumina.
4. Catalase. 5. 3-amino-1,2,4-triazol. I. Mendonça, Carla Raquel Fontana, orient.
II. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Otimização da Terapia Fotodinâmica em *S. aureus* via inibição da Catalase

AUTORA: AMANDA KOBERSTAIN SURUR

ORIENTADORA: CARLA RAQUEL FONTANA MENDONÇA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em BIOCÊNCIAS E BIOTECNOLOGIA APLICADAS À FARMÁCIA, área: Análises Clínicas pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. CARLA RAQUEL FONTANA MENDONÇA (Participação Virtual)
Departamento de Análises Clínicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Campus de Araraquara da Unesp

Dr. TÚLIO MORANDIN FERRISSE (Participação Virtual)
Centro de Pesquisa em Ótica e Fotônica / Campus de São Carlos da Universidade de São Paulo - USP

Profa. Dra. NATÁLIA MAYUMI INADA (Participação Virtual)
Instituto de Física de São Carlos - USP

Araraquara, 26 de setembro de 2022

Dedico esse trabalho à pessoa que mais lutou para estar onde estou, sempre dando amor, carinho, sendo extremamente generosa e exemplo de mãe, profissional e ser humano. Sem você não estaria onde estou. Te amo para sempre, mãe.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente à minha mãe Luciana Koberstain por tudo. Por ser minha base, meu modelo, minha força, por lutar minhas batalhas, cuidar e me amar sem precedentes. Te amo profundamente!

Agradeço do fundo do meu coração à minha avó Sonia Rosali Miguel Vianna, que mesmo em toda sua intensidade, é uma das pessoas mais dedicadas que conheço. Sei que não foi fácil me ver longe, mas sempre me recebia e se despidia com um sorriso. Te amo muito!

Agradeço ao meu avô, Rodolfo Koberstain, por ter sido quase meu pai, por ser a rocha da nossa família e por sempre ter uma palavra de carinho. Te amo muito, meu véio!

Agradeço à minha avó Vicentina Koberstain, por cuidar de mim desde pequena, sempre brincando comigo e fazendo minhas vontades, por sempre ter um abraço carinhoso para dar. Te amo!

Agradeço ao meu pai, Paulo Surur, pelo apoio e oportunidade de chegar até essa etapa com qualidade de ensino.

Agradeço à minha orientadora, Profa. Dra. Carla Raquel Fontana, por ter acreditado na minha capacidade, por ter aberto o laboratório e confiar no que estava fazendo. Muito obrigada!

Agradeço à Sarah Raquel de Annunzio, por ser quase uma coorientadora não oficial, sempre ajudando no que podia e respondendo às milhões de mensagens. Muito obrigada!

Por fim, agradeço a todo o Laboratório de Biofotônica, por ser formado de pessoas incríveis e que me receberam muito bem. Obrigada, de verdade.

Capítulo 1

RESUMO

Uma alternativa ao combate ao uso irracional de antimicrobianos é a terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDa), uma forma moderna e não invasiva de terapia, a qual tem seu mecanismo de ação fundamentado na ativação pela irradiação de um fotossensibilizador (FS) na presença de oxigênio e sob fluências específicas de luz no comprimento de onda adequado. O objetivo desse estudo é avaliar possíveis alterações da ação antimicrobiana da TFDa mediadas por Azul de metileno (AM) e Curcumina (CUR) na presença do inibidor de catalase 3-AT sobre *S. aureus* ATCC 25923 em fase planctônica. Para tanto foram realizados os testes de Concentração Inibitória Mínima (MIC) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) sobre o 3-AT através do método de microdiluição, a avaliação da fotodegradação dos FS, a padronização dos parâmetros ideais de TFDa e a avaliação de sinergismo entre TFDa e 3-AT em diferentes tempos de inibição (10 a 40 minutos). A análise estatística dos dados foi feita através do teste de Análise de Variância (*one-way* ou *two-way* ANOVA) com pós-teste de Tukey. O 3-AT não apresentou MIC e CBM para as concentrações avaliadas e demonstrou um padrão de redução do crescimento bacteriano na presença do inibidor, sem morte bacteriana após a retirada do mesmo. Os parâmetros ideais para TFDa mediada por AM solubilizada em salina estéril e por CUR dissolvida em DMSO 1% e sacarose 0,5% foram 10 minutos de pré-irradiação, 50 µg/mL AM, 72,96 mW/cm², 65,66 J/cm² e 30 minutos de pré-irradiação, 6,25 µg/mL CUR, 55 mW/cm² e 25 J/cm², respectivamente. Na terapia combinada (TC) entre TFDa e 3-AT foram avaliados diferentes tempos de inibição da catalase necessário para redução bacteriana total. Com isso, pode-se concluir que a TC demonstrou possuir sinergismo entre TFDa e 3-AT, ser dependente do tempo de inibição da catalase e do tempo de pré-irradiação dos FSs e ter grande potencial para estudos futuros.

Palavras-chave: Terapia Fotodinâmica Antibacteriana. Azul de Metileno. Curcumina. Catalase. 3-amino-1,2,4-triazol.

ABSTRACT

An alternative to combating the irrational use of antimicrobials is antimicrobial photodynamic therapy (aPDT), a modern and non-invasive form of therapy, which has its mechanism of action based on the activation by irradiation of a photosensitizer (PS) in the presence of oxygen and under specific fluências of light at the appropriate wavelength. The aim of this study is to evaluate possible alterations in the antimicrobial action of PDTa mediated by Methylene Blue (MB) and Curcumin (CUR) in the presence of the catalase inhibitor 3-AT on *S. aureus* ATCC 25923 in planktonic phase. For that, the tests of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) were carried out on 3-AT through the microdilution method, the evaluation of the photodegradation of the PS, the standardization of the ideal parameters of aPDT and the evaluation of synergism between aPDT and 3-AT at different inhibition times (10 to 40 minutes). Statistical data analysis was performed using the Analysis of Variance test (one-way or two-way ANOVA) with Tukey's post-test. 3-AT did not show MIC and CBM at the concentrations evaluated and showed a pattern of growth reduction in the presence of the inhibitor, without bacterial death after its withdrawal. The ideal parameters for aPDT mediated by MB solubilized in sterile saline and by CUR dissolved in 1% DMSO and 0.5% sucrose were 10 minutes pre-irradiation, 50 µg/mL MB, 72.96 mW/cm², 65.66 J/cm² and 30 minutes pre-irradiation, 6.25 µg/mL CUR, 55 mW/cm² and 25 J/cm², respectively. In combined therapy (CT) between aPDT and 3-AT, different catalase inhibition times required for total bacterial reduction were evaluated. Therefore, it can be concluded that CT demonstrated synergism between aPDT and 3-AT, it is dependent on catalase inhibition time and pre-irradiation time of PSs and has great potential for future studies.

Keywords: Antimicrobial Photodynamic Therapy. Methylene Blue. Curcumin. Catalase. 3-amino-1,2,4-triazole.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Linha do tempo da introdução de antibióticos na prática clínica e de desenvolvimento de resistência antimicrobiana.	17
Figura 2. Esquema do Diagrama de Jablonski para o mecanismo de ação das reações tipo I e II da TFD.....	18
Figura 3. Estrutura molecular do Azul de metileno	20
Figura 4. Tautomerismo da curcumina sob condições fisiológicas. Há predominância da forma bis-ceto (superior) em condições ácidas e neutras; há predomínio da forma enolato (inferior) em pH acima de 8.	22
Figura 5. Porcentagem de colonização de <i>S. aureus</i> por local do corpo em adultos	23
Figura 6. Estrutura molecular do 3-amino-1,2,4-triazol.....	26
Figura 7. Espectro de absorção de luz do Azul de metileno em TSB. Erro! Indicador não definido.	
Figura 8. Espectro de absorção de luz da Curcumina em TSB. .. Erro! Indicador não definido.	
Figura 9. Espectro de absorção de luz do 3-AT em TSB..... Erro! Indicador não definido.	
Figura 10. Espectros de absorção de luz da fotodegradação do Azul de metileno (6,25 µg/mL) dissolvida salina, com e sem irradiação por LED vermelho..... Erro! Indicador não definido.	
Figura 11. Espectros de absorção de luz da fotodegradação do Azul de metileno (12,5 µg/mL) dissolvida salina, com e sem irradiação por LED vermelho..... Erro! Indicador não definido.	
Figura 12. Espectros de absorção de luz da fotodegradação do Azul de metileno (25 µg/mL) dissolvida salina, com e sem irradiação por LED vermelho.... Erro! Indicador não definido.	
Figura 13. Espectros de absorção de luz da fotodegradação do Azul de metileno (50 µg/mL) dissolvida salina, com e sem irradiação por LED vermelho.... Erro! Indicador não definido.	
Figura 14. Espectros de absorção de luz da fotodegradação do Azul de metileno (100 µg/mL) dissolvida salina, com e sem irradiação por LED vermelho..... Erro! Indicador não definido.	
Figura 15. Espectros de absorção de luz da fotodegradação da Curcumina (6,25 µg/mL) dissolvida em DMSO 1% e sacarose 0,5%, com e sem irradiação por LED azul	Erro! Indicador não definido.
Figura 16. Espectros de absorção de luz da fotodegradação da Curcumina (12,5 µg/mL) dissolvida em DMSO 1% e sacarose 0,5%, com e sem irradiação por LED azul	Erro! Indicador não definido.
Figura 17. Espectros de absorção de luz da fotodegradação da Curcumina (25 µg/mL) dissolvida em DMSO 1% e sacarose 0,5%, com e sem irradiação por LED azul	Erro! Indicador não definido.
Figura 18. Avaliação da toxicidade do 3-AT na suspensão bacteriana de <i>S. aureus</i> após 24 horas de contato.....	Erro! Indicador não definido.

Figura 19. Avaliação da toxicidade do Azul de metileno na ausência e após irradiação.	Erro! Indicador não definido.
Figura 20. Avaliação da toxicidade da Curcumina na ausência e presença de irradiação.	Erro! Indicador não definido.
Figura 21. Avaliação da toxicidade do Azul de metileno (50 µg/mL) e do 3-AT (10 µg/mL) na ausência de irradiação.	Erro! Indicador não definido.
Figura 22. Avaliação susceptibilidade bacteriana em fase planctônica em suspensão de <i>S. aureus</i> empregando a terapia fotodinâmica antimicrobiana combinada mediada por Azul de metileno (50 µg/mL) e LED 660 nm com período de inibição da catalase de 10 a 40 minutos.....	Erro! Indicador não definido.
Figura 23. Avaliação da toxicidade da Curcumina (6,25 µg/mL) e do 3-AT (10 µg/mL) na ausência e na presença de irradiação, primeiro com a adição do 3-AT seguido da adição da Curcumina	Erro! Indicador não definido.
Figura 24. Avaliação da toxicidade da Curcumina (6,25 µg/mL) e do 3-AT (10 µg/mL) na ausência e na presença de irradiação, primeiro com a adição da Curcumina, seguido da adição do 3-AT	Erro! Indicador não definido.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Nível de significância da diferença da absorbância em 660 nm no escuro e após irradiação na fotodegradação do Azul de Metileno	Erro! Indicador não definido.
Tabela 2. Taxa de Fotodegradação do Azul de Metileno	Erro! Indicador não definido.
Tabela 3 Taxa de Degradação da Curcumina no escuro e após irradiação	Erro! Indicador não definido.
Tabela 4. Porcentagem de redução do crescimento bacteriano na presença do 3-AT	Erro! Indicador não definido.
Tabela 5. Redução bacteriana pós Terapia Fotodinâmica mediada por Azul de Metileno	Erro! Indicador não definido.
Tabela 6. Redução bacteriana pós Terapia Fotodinâmica mediada por Curcumina	Erro! Indicador não definido.
Tabela 7. Redução bacteriana pós Terapia Combinada mediada por Azul de Metileno nos diferentes tempos de inibição da catalase.....	Erro! Indicador não definido.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

$^1\text{O}_2$	Oxigênio singlete
3-AT	3-amino-1,2,4-triazol
AM	Azul de metileno
ANOVA	Análise de Variância
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
CAT	Catalase
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CUR	Curcumina
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
H_2O_2	Peróxido de hidrogênio
$\text{HO}^\bullet$	Radical Hidroxila
LED	<i>Light Emittig Diodes</i>

Log₁₀	Logaritmo na base 10
MRSA	<i>S. aureus</i> resistente à meticilina
MSSA	<i>S. aureus</i> sensível à meticilina
NO[•]	Óxido nítrico
Ns	Não significativo
O₂^{•-}	Radical superóxido
OCl⁻	Ânion hipoclorito
ONOO⁻	Peroxinitrito
RO[•]	Radical Alcoxila
ROO[•]	Radical Peroxila
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SOD	Superóxido dismutase
TC	Terapia Combinada
TSA	<i>Trypctic Soy Agar</i>
TSB	<i>Trypctic Soy Broth</i>
UFC	Unidade formadora de colônias
UV-Vis	Ultravioleta-visível

Sumário

1. INTRODUÇÃO	16
1.1. Resistência microbiana à antibióticos	16
1.2. Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (TFDa)	18
1.2.1. Azul de metileno	20
1.2.2. Curcumina	21
1.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	22
1.4. Catalase	24
1.5. 3-amino-1,2,4-triazol (3-AT)	25
2. OBJETIVOS	Erro! Indicador não definido.
2.1. Objetivo Geral	Erro! Indicador não definido.
2.2. Objetivos específicos	Erro! Indicador não definido.
3. MATERIAL E MÉTODOS	Erro! Indicador não definido.
3.1. Materiais de Consumo e Instrumento	Erro! Indicador não definido.
3.2. Equipamentos	Erro! Indicador não definido.
3.3. Preparo do inóculo	Erro! Indicador não definido.
3.3.1. Primeira fase	Erro! Indicador não definido.
3.3.2. Segunda fase	Erro! Indicador não definido.
3.4. Fotossensibilizadores e fontes de luz	Erro! Indicador não definido.
3.5. Espectro de absorção de luz dos fotossensibilizadores e inibidores	Erro! Indicador não definido.
3.6. Fotodegradação dos fotossensibilizadores	Erro! Indicador não definido.

3.7. Avaliação das Concentrações Inibitória Mínima e Bactericida Mínima do inibidor 3-AT sobre <i>S. aureus</i>	Erro! Indicador não definido.
3.7.1. Concentrações Inibitória Mínima (CIM)	Erro! Indicador não definido.
3.7.2. Concentrações Bactericida Mínima (CBM).....	Erro! Indicador não definido.
3.8. Terapia Fotodinâmica.....	Erro! Indicador não definido.
3.9. Testes de susceptibilidade bacteriana frente à TFD	Erro! Indicador não definido.
3.10. Grupos experimentais avaliados	Erro! Indicador não definido.
3.10.1. Primeira etapa.....	Erro! Indicador não definido.
3.10.2. Segunda etapa.....	Erro! Indicador não definido.
3.11. Análise estatística	Erro! Indicador não definido.
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	Erro! Indicador não definido.
4.1. Espectro de absorção de luz dos fotossensibilizadores e inibidor de catalase	Erro! Indicador não definido.
4.2. Fotodegradação dos fotossensibilizadores.....	Erro! Indicador não definido.
4.3. Avaliação das Concentrações Inibitória Mínima e Bactericida Mínima do inibidor 3-AT sobre <i>S. aureus</i>	Erro! Indicador não definido.
4.4. Testes de susceptibilidade bacteriana frente à TFD	Erro! Indicador não definido.
4.4.1. Primeira etapa.....	Erro! Indicador não definido.
4.4.2. Segunda etapa.....	Erro! Indicador não definido.
5. CONCLUSÕES	26
REFERÊNCIAS	27

1. INTRODUÇÃO

1.1. Resistência microbiana à antibióticos

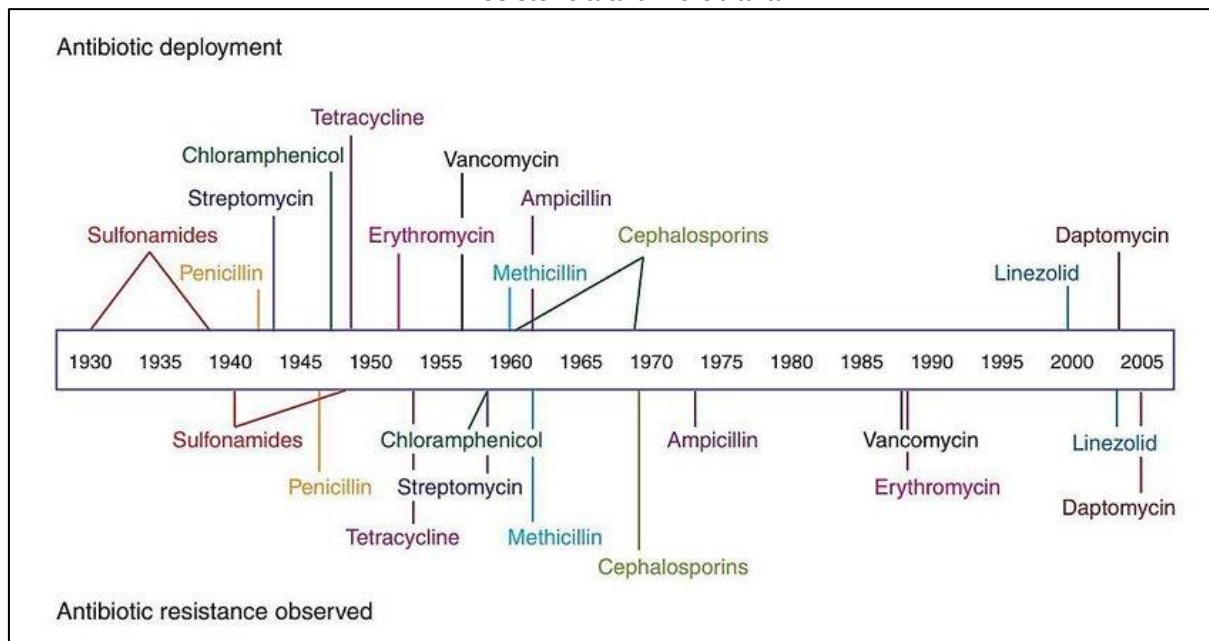
O surgimento da quimioterapia moderna é creditado aos esforços de Paul Ehrlich, na Alemanha, durante a primeira parte do século XX. Enquanto tentava corar bactérias sem corar os tecidos circundantes, ele especulava sobre alguma “bala mágica” que encontraria e destruiria patógenos de forma seletiva, porém sem afetar o hospedeiro. Em 1928, Alexander Fleming observou a inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus* na área circundante de uma colônia de um bolor que havia contaminado a placa de Petri, o qual foi identificado como *Penicillium notatum*, que teve seu composto ativo posteriormente isolado, a penicilina (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012)

Os antibióticos são tradicionalmente classificados por seu modo de ação, podendo ser bactericidas, como os β -lactâmicos e as quinolonas, ou bacteriostáticos, como as tetraciclina e o cloranfenicol. Eles agem inibindo diversas funções bacterianas essenciais para o crescimento *in vitro*, como síntese de parede celular, replicação de DNA, transcrição de RNA e síntese de proteínas (RANG et al., 2012)

Embora esteja claro que os antibióticos destinados à viabilidade celular têm sido historicamente altamente eficazes, os modos de ação impõem grande pressão seletiva e promove o crescimento de cepas resistentes à essas drogas (RANG et al., 2012). O desenvolvimento de resistência bacteriana aos antibióticos é um fenômeno natural como resposta à pressão seletiva exercida pelo uso de antibióticos. Essa pressão seletiva tem sofrido uma expansão acelerada devido à utilização inadequada destes fármacos, sabendo-se que há uma correlação muito clara entre um maior consumo de antibióticos e níveis mais elevados de resistência microbiana (LOUREIRO et al., 2016).

Na figura 1 está representada a linha do tempo dos desenvolvimentos das primeiras classes de antibióticos (lado superior) e o desenvolvimento de resistência para cada classe dessas drogas (lado inferior). É destacado no artigo que a data de aparecimento da resistência ao antibiótico não implica necessariamente que um dado antibiótico tenha perdido toda a utilidade clínica.

Figura 1. Linha do tempo da introdução de antibióticos na prática clínica e de desenvolvimento de resistência antimicrobiana.



A figura demonstra a linha do tempo de implantação de antibióticos e a evolução da resistência a antibióticos. O ano de implantação de cada antibiótico é demonstrado no lado superior da linha do tempo, e o ano em que a resistência a cada antibiótico foi observada é demonstrado no lado inferior da linha do tempo. As autoras destacam que a data de aparecimento da resistência a antibióticos não implica necessariamente que um dado antibiótico tenha perdido toda a utilidade clínica. Fonte: CLATWORTHY; PIERSON; HUNG, 2007.

Devido ao crescimento acelerado da resistência microbiana em frente aos agentes antimicrobianos mais eficazes, a Organização Mundial de Saúde (OMS) estabeleceu uma estratégia global chamada "Estratégia Global de Contenção da Resistência Antimicrobiana" para combater tal desafio (OMS, 2001). O objetivo desta estratégia foi reduzir a propagação da resistência antimicrobiana implementando vários planos de ação, incluindo a redução do uso inadequado de antimicrobianos (ALGHADEER et al., 2018).

Dada a diferença atual entre nossa capacidade de desenvolver novos antibióticos e a real necessidade de tais drogas, a ameaça de uma era pós-antibiótica está se aproximando grande no horizonte (CLATWORTHY; PIERSON; HUNG, 2007).

Uma alternativa para o combate ao uso irracional de antimicrobianos é a terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDa), uma forma não invasiva de terapia, usada no tratamento de diversas condições. Tal tratamento apresenta bons resultados terapêuticos, com possibilidade da aplicação conjunta da TFDa e de outros protocolos terapêuticos (KWIATKOWSKI et al., 2018), sendo vastamente aplicada com sucesso em dermatologia (DE ANNUNZIO et al., 2018; MACKAY, 2022), oncologia

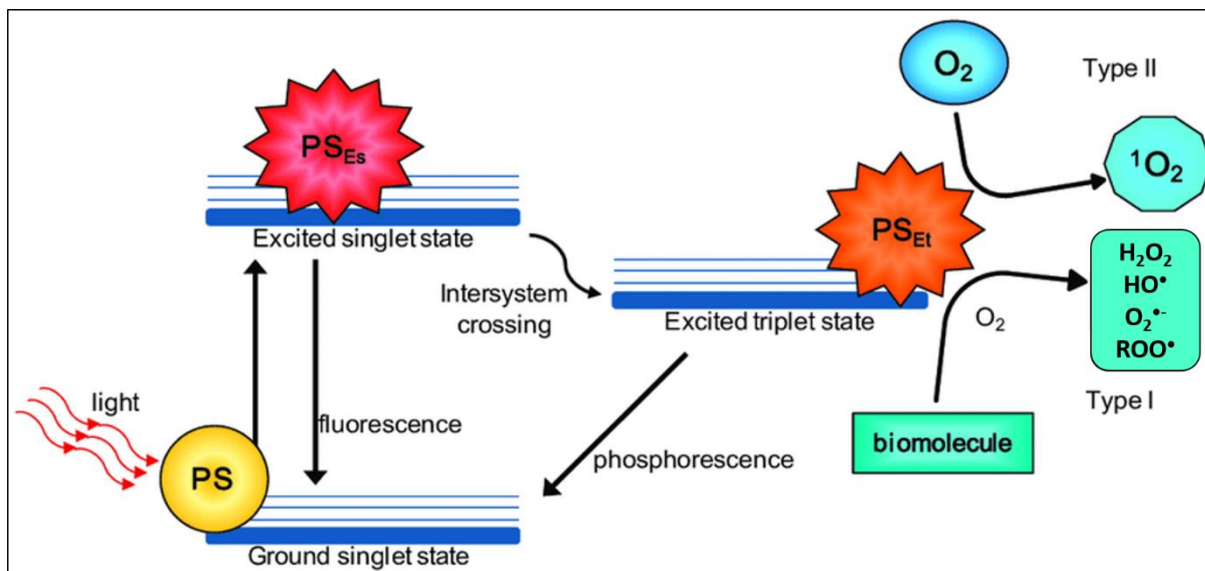
(KARIMNIA; SLACK; CELLI, 2021; YU et al., 2021) e urologia (KUSTOV et al., 2022; TICHACZEK-GOSKA; GLEŃSK; WOJNICZ, 2021).

1.2. Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (TFDa)

O princípio da TFDa é a aplicação local ou sistêmica de um composto fotossensibilizador (FS), o qual é intensamente acumulado em tecidos alvos. As moléculas do FSs absorvem a luz no comprimento de onda apropriado, iniciando os processos de ativação que levam à destruição seletiva das células inadequadas. A terapia fotodinâmica é bem tolerada pelos pacientes por causa de sua ação seletiva. Protocolos fotodinâmicos são indolores, e a simplicidade de sua aplicação permite o uso ambulatorial (O'NEILL, 2016).

O mecanismo de ação da TFDa (Figura 2) é fundamentado na ativação pela luz do FSs, o qual, na presença de oxigênio e sob irradiação em fluências específicas de luz visível no comprimento de onda adequado, é elevado ao estado excitado e reage com moléculas vizinhas por transferência de energia ou cargas em duas possíveis reações: reação do tipo I e reações do tipo II. Ambos os caminhos podem causar a oxidação de diversos componentes celulares tendo como consequência a morte celular. Na reação do tipo I há produção de radicais livres, como a $\text{HO}^\bullet$, reagindo com biomoléculas ou com outros $\text{HO}^\bullet$, originando peróxido de hidrogênio, o qual possui efeitos citotóxicos, e lipoperóxido, levando a lipoperoxidação. Na reação do tipo II há transferência de energia ao oxigênio, com indução da produção de $^1\text{O}_2$, que leva a oxidação de proteínas, ácidos nucleicos e lipídeos (KWIATKOWSKI et al., 2018).

Figura 2. Esquema do Diagrama de Jablonski para o mecanismo de ação das reações tipo I e II da TFD



Esquema do Diagrama de Jablonski para o mecanismo de ação das reações tipo I e II da TFD. O FS é elevado a um estado singlete excitado após a absorção de luz, decaindo ao estado tripleto excitado após cruzamentos intersistemas. O estado tripleto excitado pode interagir com o oxigênio molecular de forma indireta via transferência de carga por reação com biomoléculas e geração de radicais formando espécies reativas de oxigênio (reação do tipo I) ou de forma direta (reação do tipo II), com formação de $^1\text{O}_2$. PS: fotossensibilizador; PS_{Es} : fotossensibilizador no estado singlete excitado; PS_{Et} : fotossensibilizador no estado tripleto excitado; $^1\text{O}_2$: oxigênio singlete. Fonte: CALIXTO et al., 2016, adaptado.

O radical livre é um átomo ou molécula que possui um ou mais elétrons desemparelhados em seu orbital externo de maior energia, capazes de existir de forma independente. Por isso, são altamente reativos, instáveis e podem interagir com várias biomoléculas, como lipídeos, proteínas e DNA, dentre outras. Além das espécies radicalares, existem ainda as espécies não radicalares, que embora não possuam elétrons desemparelhados apresentam alta reatividade e podem gerar espécies radicalares na presença de algumas biomoléculas (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). As espécies radicalares mais importantes são: $\text{O}_2^{\bullet-}$, $\text{HO}^{\bullet}$, $\text{ROO}^{\bullet}$, $\text{RO}^{\bullet}$, $\text{NO}^{\bullet}$, e as não radicalares são: H_2O_2 , OCl^- , $^1\text{O}_2$ e o ONOO^- (HALLIWELL, 1993).

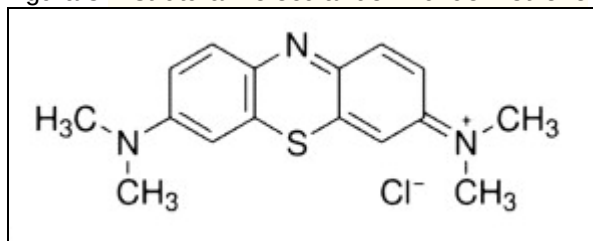
Para combater os efeitos deletérios das espécies reativas de oxigênio (EROs), existem os sistemas de defesa antioxidantes, enzimáticos e não enzimáticos. As defesas antioxidantes enzimáticas são representadas principalmente pelas enzimas: superóxido dismutase (SOD) que catalisa a dismutação do $\text{O}_2^{\bullet-}$ em H_2O_2 e O_2 ; catalase (CAT) que atua na decomposição de H_2O_2 em O_2 e H_2O ; glutathione peroxidase (GSH-Px) atua sobre peróxidos e utiliza o potencial redutor do tripeptídeo glutathione reduzida (GSH) (LIEBERMAN; MARKS, 2013). Já das defesas antioxidantes não enzimáticas, pode-se citar vitamina C, vitamina E e carotenoides (NIMSE; PAL, 2015).

Em relação a fluência utilizada, pode-se dividir em duas categorias de acordo com a redução bacteriana. Fluências que levaram a reduções bacterianas menores que $3 \log_{10}$ são consideradas sub-ótimas ou sub-letais; já fluências que levaram a reduções bacterianas maiores de $3 \log_{10}$ são consideradas fluências letais (ALVES et al., 2009; KNAPP; MOODY, 1992; ZAGO et al., 2020).

1.2.1. Azul de metileno

O azul de metileno (AM) (figura 3) é uma molécula que contém um sistema central de anel aromático heterocíclico de tiazida (WAINWRIGHT; AMARAL, 2005) que, junto com o grupo imina presente na molécula, permite uma carga positiva deslocalizada em pH neutro, o que explica seu alto potencial de redução e conferem estabilidade ao radical (MOOSMANN et al., 2001; WAINWRIGHT; CROSSLEY, 2002)

Figura 3. Estrutura molecular do Azul de metileno



A figura demonstra a estrutura molecular do Azul de metileno. Fonte: OLIVEIRA et al., 2011.

Tal composto tem a vantagem de possuir baixo custo, apresentar alta pureza e composição estável, estar comercialmente disponível e equilíbrio hidrofílico/lipofílico adequado que permite seu transporte através de membranas celulares e facilita a absorção intracelular (KLOSOWSKI et al., 2020).

Dessa forma, o AM tem sido utilizado na clínica em inúmeros propósitos terapêuticos, como no tratamento da metahemoglobinemia (MANSOURI; LURIE, 1993), malária (ADJALLEY et al., 2011; KRAFTS; HEMPELMANN; SKÓRSKA-STANIA, 2012), envenenamento por monóxido de carbono ou cianeto (HAOUZI et al., 2018) e doenças neurodegenerativas (SCHIRMER et al., 2011).

Na TFDa o AM tem sido utilizado como FS em inúmeras pesquisas e em uma ampla gama de bactérias (DE AGUIAR COLETTI et al., 2017; PARASURAMAN et al., 2019; TOSATO et al., 2020), fungos (CAMPOS et al., 2021; PAZIANI et al., 2019;

TIBURCIO et al., 2022) e parasitas (AURELIANO et al., 2018; CABRAL et al., 2020) devido a sua alta geração de rendimento quântico de $^1\text{O}_2$ (KLOSOWSKI et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2011), sendo caracterizado como um fotossensibilizador do tipo II, ou seja, tende a realizar a TFDa via reação do tipo II (OLIVEIRA et al., 2011). Esse tipo de reação ocorre via transferência de energia e são mais propensos a preservar o FS, fazendo com que esses tipos de FS sejam mais eficientes para aplicações de TFD do que seus respectivos homólogos tipo I (OLIVEIRA et al., 2011).

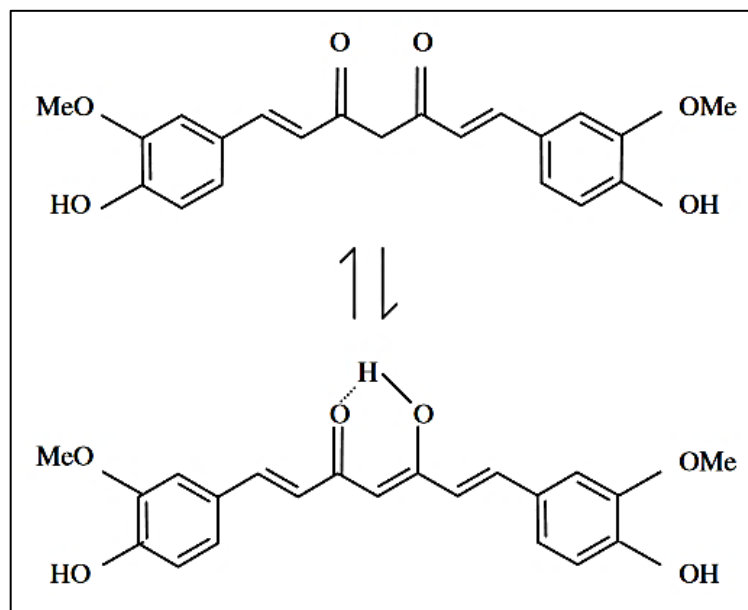
1.2.2. Curcumina

Curcumina é um pigmento amarelo extraído do rizoma de *Curcuma longa* L.. (AGGARWAL; KUMAR; BHARTI, 2003; SHARMA; GESCHER; STEWARD, 2005) que tem ações conhecidas como agente anti-inflamatório (PORRO et al., 2019; ZHANG et al., 2022), antioxidante (ABRAHAMS et al., 2019) e anticâncer (BANSAL et al., 2011; SINGH et al., 1998).

É tradicionalmente usada nas medicinas chinesa e indiana devido às suas conhecidas propriedades biológicas e promotoras da saúde (KOLEV et al., 2005), além de ser usada como aditivo alimentar que permite o consumo do composto junto com os alimentos e comprova sua excelente biocompatibilidade (WIKENE; BRUZELL; TØNNESEN, 2015).

A molécula de curcumina (1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona) é um bis- α,β,β -dicetônico que coexiste em equilíbrio com sua forma tautomérica enólica. A forma bis-cetônica é predominante em soluções aquosas ácidas e neutras, além de estar presente na membrana celular; no pH entre 3 e 7, a curcumina atua como um doador de H^+ muito potente (ARSHAD et al., 2017; SHARMA; GESCHER; STEWARD, 2005). Tal situação é possível na forma cetônica devido à ligação heptadieno entre os anéis de 2-metoxifenol, onde há um carbono altamente ativo; as ligações de hidrogênio deste carbono são muito fracas devido ao desvio da trajetória dos elétrons de oxigênio não emparelhados; já em pH acima de 8 há uma predominância da forma enólica e a molécula é um doador de elétrons (Figura 4) (SHARMA; GESCHER; STEWARD, 2005).

Figura 4. Tautomerismo da curcumina sob condições fisiológicas. Há predominância da forma bis-ceto (superior) em condições ácidas e neutras; há predomínio da forma enolato (inferior) em pH acima de 8.



A figura representa o equilíbrio ceto-enólico da curcumina sob condições fisiológicas. O lado superior da figura representa a estrutura molecular da forma bis-ceto, encontrada em pH ácido e neutro; o lado inferior representa a estrutura molecular da forma enólica, encontrada em pH superior a 8.

A biodisponibilidade da CUR é limitada devido à baixa hidrossolubilidade e alta permeabilidade, fazendo com que a substância seja classificada como uma droga de classe II no Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BANSAL et al., 2011; KASIM et al., 2004). Cerca de 60% a 70% de uma dose oral de CUR é eliminada nas fezes devido ao seu rápido metabolismo intestinal e hepático (BANSAL et al., 2011; PAN; HUANG; LIN, 1999).

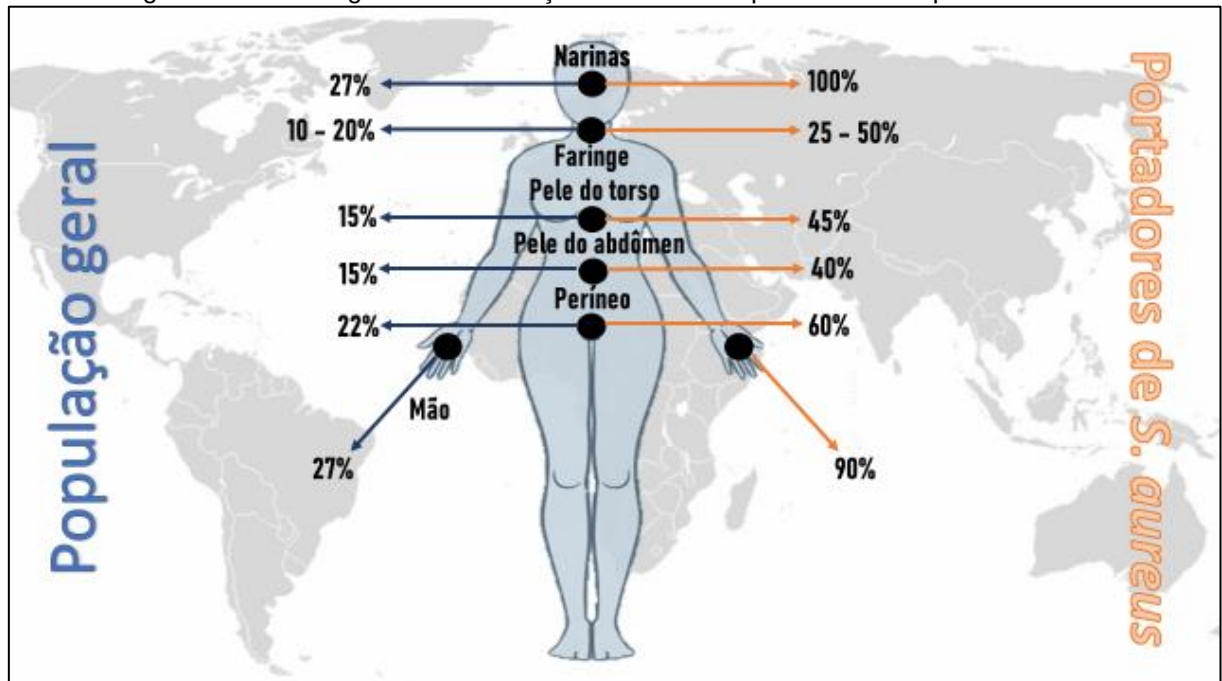
Devido a sua habilidade de absorver na região da luz azul e gerar EROs, essa substância tem sido alvo de atenção de grupos que estudam a TFD (DIAS et al., 2020).

1.3. *Staphylococcus aureus*

Aproximadamente 30% da população mundial tem as narinas colonizadas por cepas de *Staphylococcus aureus* (AKHTAR DANESH et al., 2020), cocos Gram-positivos que podem ser encontrados na flora da pele e de membrana de mucosas ou como comensais oportunistas (TONG et al., 2015).

Na literatura há a distinção entre indivíduos portadores ou não de *S. aureus*, com a separação sendo feita através de desenho transversal com uma ou várias culturas nasais (WERTHEIM et al., 2005). Na figura 5 estão representados os principais locais de infecção colonização por *S. aureus* e a diferença em porcentagem da população geral e da população considerada portadora.

Figura 5. Porcentagem de colonização de *S. aureus* por local do corpo em adultos



A figura representa os principais locais de colonização do *S. aureus*, com diferenciação entre a população geral (a esquerda do boneco) e portadores (a direita do boneco). Fonte: adaptado de WERTHEIM et al., 2005.

Essa distinção é importante porque os portadores persistentes, cuja definição varia de estudo para estudo, possuem cargas de *S. aureus* mais altas e maior risco de adquirir infecção por essa bactéria (NOUWEN et al., 2005; WERTHEIM et al., 2005; WHITE, 1963), que pode causar doenças como bacteremia, endocardite, osteomielite, infecções pulmonares, meningite e síndrome do choque tóxico (TONG et al., 2015).

Pesquisas genômicas sugeriram que há a possibilidade de cepas de *S. aureus* terem desenvolvido resistência à metilicina antes mesmo do primeiro uso das penicilinas, fazendo com que a vancomicina seja uma das últimas opções terapêuticas disponíveis para MRSA (WERTHEIM et al., 2005).

Essa resistência pode ser medida pelos genes *mecA*, que pode ser transferido horizontalmente (TURNER et al., 2019), *lukS-PV* e *lukF-PV*, que codificam as subunidades de Leucocidina de Panton-Valentine (PVL), uma toxina capaz de causar

lise em leucócitos (ETIENNE, 2005; MCDUGAL et al., 2003). PVL consiste em 2 proteínas que se combinam como subunidades para formar a leucotoxina que foi associada pela primeira vez à infecção de pele e tecido mole por Panton e Valentine em 1932 (ETIENNE, 2005; REHM; TICE, 2010).

Recentes estudos *in vitro* demonstraram que o *S. aureus* pode invadir várias células fagocíticas não profissionais, incluindo queratinócitos, fibroblastos, células endoteliais e epiteliais, enterócitos e osteoblastos (BAYLES et al., 1998; FOWLER et al., 2000; HESS et al., 2003; MENZIES; KOURTEVA, 1998; NAIR et al., 2003; NUZZO et al., 2000; PEACOCK et al., 1999).

A absorção bacteriana é promovida pela fibronectina que atua como uma molécula de ponte entre a integrina $\alpha 5\beta 1$ na superfície celular e as proteína fibronectina bacterianas (DZIEWANOWSKA et al., 1999; FOWLER et al., 2000; NAIR et al., 2003; SINHA et al., 1999), ativando a família de tirosina quinases Src e estimulando a internalização da bactéria pelo 'mecanismo de zíper' (AGERER et al., 2005; FOWLER et al., 2003; LOWY et al., 1988). As bactérias internalizadas podem ficar em vacúolos endossomais ou são desviadas da via endossomal para autofagossomos, dependendo do tipo celular invadido e/ou da cepa *S. aureus* (SCHNAITH et al., 2007). Quando a bactéria escapa para o citoplasma, mata a célula hospedeira através da indução de apoptose (BAYLES et al., 1998; DA SILVA et al., 2004; JONAS et al., 1994; MENZIES; KOURTEVA, 1998; NUZZO et al., 2000).

1.4. Catalase

Catalase (EC 1.11.1.6) (CAT) é uma enzima tetramérica com vários grupos heme na estrutura e peso molecular por volta 225 – 270 kDa. Tem como função a decomposição da H_2O_2 em água e oxigênio pela transferência de dois elétrons (FITA; ROSSMANN, 1985; NADLER; GOLDBERG; HOCHMAN, 1986), acreditando-se a ela uma composição no segundo nível de defesa contra EROs (SEPASI TEHRANI; MOOSAVI-MOVAHEDI, 2018).

A CAT ocorre em quase todos os organismos aeróbios, e foi uma das primeiras enzimas isolada com alto estado de pureza (FITA; ROSSMANN, 1985). Bactérias expressam dois tipos de CAT, as monofuncionais e as catalase-peroxidase, sendo

essa última exclusivas de bactérias e alguns fungos (NADLER; GOLDBERG; HOCHMAN, 1986).

Das bactérias CAT positivas, podemos citar *S. aureus*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter fetus*, *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*. Entretanto, de maio a agosto de 2002, no Brasil, foram isolado 11 cepas de *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA), CAT negativo e susceptíveis somente à vancomicina e linezolida de quatro paciente da unidade intensiva de tratamento (UTI) (DEL'ALAMO et al., 2007), o que demonstra a capacidade de adaptação e motivo de preocupação com essa bactéria.

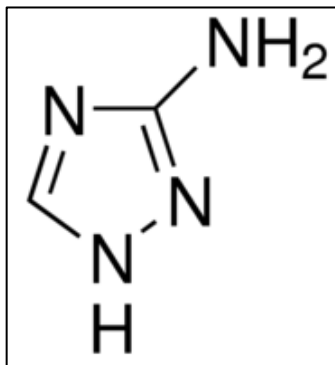
Pensando-se na atividade realizada pela CAT de transformar o H_2O_2 em produtos menos tóxicos e que o H_2O_2 é um dos componentes resultantes da TFDa, foi teorizado se a atividade antioxidante da CAT não diminui a efetividade da TFDa e, além disso, se a inibição dessa enzima não levaria a uma diminuição da degradação do H_2O_2 , fazendo com que se tenha um maior efeito citotóxico da TFDa. Para a inibição enzimática da catalase foi utilizado o 3-amino-1,2,4-triazol.

1.5.3-amino-1,2,4-triazol (3-AT)

Os triazóis são substâncias hetero-aromáticas que apresentando seis elétrons do subnível *p*, sendo que aqueles que não apresentam substituintes no átomo de nitrogênio podem se apresentar como três estruturas tautoméricas (MELO et al., 2006).

O 3-amino-1,2,4-triazol (3-AT) (Figura 6) faz parte da classe dos triazóis e tem como função a inibição da atividade da catalase pela ligação covalente ao centro ativo da forma tetramérica ativa contendo grupos heme (CHANG; SCHROEDER, 1972; MARGOLIASH; NOVOGRODSKY, 1958; MARGOLIASH; NOVOGRODSKY; SCHEJTER, 1960; MELO et al., 2006; SUN et al., 2018; UEDA et al., 2003).

Figura 6. Estrutura molecular do 3-amino-1,2,4-triazol



A figura demonstra a estrutura molecular do 3-amino-1,2,4-triazol. Fonte: KAUR et al., 2016.

A busca na literatura por estudos que aplicavam o 3-AT em bactérias não gerou resultados. Entretanto, o 3-AT é bastante aplicado em linhagens celulares devido a sua capacidade de supressão da catalase.

Além da capacidade de supressão da catalase, acredita-se que o 3-AT consiga realizar uma leve e temporária supressão da atividade da peroxidase, levando-se a crer que o composto não possua toxicidade e, possivelmente, não cause reações adversas (HEIM; APPLEMAN; PYFROM, 1956).

Na literatura é possível encontrar muitos relatos do uso do 3-AT em ensaios de quantificação da catalase, todos usando amostra de tecido animal ou humano (BANERJEE et al., 2018; MILTON, 2001; SINGH; SINGH, 2019; VAN ONSELEN; DOWNING, 2019), e no combate ao câncer (CARRAHER JR et al., 2019; SUN et al., 2018), mas pouca aplicação em microrganismos.

2. CONCLUSÕES

Tendo em vista os dados apresentados, é possível concluir o 3-AT promoveu redução do crescimento bacteriano, não levou à morte bacteriana e os parâmetros de fluência sub-letal para TFDa mediada tanto por AM quando por CUR foram padronizados com sucesso. Quanto à TC mediada por AM e por CUR, o sinergismo entre TFDa e 3-AT foi comprovado e, mesmo que tempo de inibição da catalase sejam diferentes, ambos apresentaram aproximadamente o mesmo tempo de pré-tratamento e a mesma eficácia.

Também é possível concluir que a terapia combinada mediada tanto por AM quanto por CUR tem grande potencial de aplicação em estudos mais complexos, podendo chegar até a ser utilizado no tratamento de infecções por *S. aureus*.

REFERÊNCIAS

ABRAHAMS, S. et al. Antioxidant effects of curcumin in models of neurodegeneration, aging, oxidative and nitrosative stress: A review. **Neuroscience**, v. 406, p. 1–21, 2019.

ADJALLEY, S. H. et al. Quantitative assessment of *Plasmodium falciparum* sexual development reveals potent transmission-blocking activity by methylene blue. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 47, p. E1214–E1223, 2011.

AGERER, F. et al. Cellular invasion by *Staphylococcus aureus* reveals a functional link between focal adhesion kinase and cortactin in integrin-mediated internalisation. **Journal of cell science**, v. 118, n. 10, p. 2189–2200, 2005.

AGGARWAL, B. B.; KUMAR, A.; BHARTI, A. C. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. **Anticancer research**, v. 23, n. 1/A, p. 363–398, 2003.

AKHTAR DANESH, L. et al. Elimination of *Staphylococcus aureus* nasal carriage in intensive care patients lowers infection rates. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 2, p. 333–338, fev. 2020.

ALGHADEER, S. et al. Self-medication with Antibiotics in Saudi Arabia. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 26, 1 fev. 2018.

ALVES, E. et al. Charge effect on the photoinactivation of Gram-negative and Gram-positive bacteria by cationic meso-substituted porphyrins. **BMC Microbiology**, v. 9, n. 1, p. 70, 2009.

ANDREWS, J. M. Determination of minimum inhibitory concentrations. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 48, n. suppl_1, p. 5–16, 1 jul. 2001.

ARSHAD, L. et al. Immunosuppressive Effects of Natural α,β -Unsaturated Carbonyl-Based Compounds, and Their Analogs and Derivatives, on Immune Cells: A Review.

Frontiers in Pharmacology , 2017. Disponível em:
<<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2017.00022>>

AURELIANO, D. P. et al. Cell death mechanisms in *Leishmania amazonensis* triggered by methylene blue-mediated antiparasitic photodynamic therapy. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 23, p. 1–8, 2018.

BANERJEE, O. et al. Inhibition of catalase activity with 3-amino-1,2,4-triazole intensifies bisphenol A (BPA)-induced toxicity in granulosa cells of female albino rats. **Toxicology and Industrial Health**, v. 34, n. 11, p. 787–797, 1 out. 2018.

BANSAL, S. S. et al. Advanced Drug Delivery Systems of Curcumin for Cancer Chemoprevention. **Cancer Prevention Research**, v. 4, n. 8, p. 1158–1171, 3 ago. 2011.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000100021>.

BAYLES, K. W. et al. Intracellular *Staphylococcus aureus* escapes the endosome and induces apoptosis in epithelial cells. **Infection and immunity**, v. 66, n. 1, p. 336–342, 1998.

BONG, P.-H. Spectral and Photophysical Behaviors of Curcumin and Curcuminoids. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 21, n. 1, p. 81–86, 2000.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International journal of food microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223–253, 2004.

CABRAL, F. V et al. Preclinical Investigation of Methylene Blue-mediated Antimicrobial Photodynamic Therapy on *Leishmania* Parasites Using Real-Time Bioluminescence. **Photochemistry and Photobiology**, v. 96, n. 3, p. 604–610, 1 maio 2020.

CALIXTO, G. et al. Nanotechnology-Based Drug Delivery Systems for Photodynamic Therapy of Cancer: A Review. **Molecules**, v. 21, p. 342, 11 mar. 2016.

CAMPOS, L. et al. Antimicrobial photodynamic therapy to oral candidiasis not responsive to micafungin in a patient undergoing hematopoietic cell transplantation. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 34, p. 102296, 2021.

CARRAHER JR, C. E. et al. Polyamines from reaction of organotin dihalides and 3-amino-1, 2, 4-triazole (3-AT)-synthesis and ability to inhibit human cancer cell lines. **WJPR**, v. 8, n. 10, p. 39–58, 2019.

CASTANO, A. P.; DEMIDOVA, T. N.; HAMBLIN, M. R. Mechanisms in photodynamic therapy: part one—photosensitizers, photochemistry and cellular localization. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 1, n. 4, p. 279–293, 2004.

CHANG, J. Y.; SCHROEDER, W. A. Reaction of 3-amino-1,2,4-triazole with bovine liver catalase and human erythrocyte catalase. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 148, n. 2, p. 505–508, 1972.

CHIGNELL, C. F. et al. SPECTRAL AND PHOTOCHEMICAL PROPERTIES OF CURCUMIN. **Photochemistry and Photobiology**, v. 59, n. 3, p. 295–302, 1 mar. 1994.

CLATWORTHY, A. E.; PIERSON, E.; HUNG, D. T. Targeting virulence: A new paradigm for antimicrobial therapy. **Nature Chemical Biology**, v. 3, n. 9, p. 541–548, 2007.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically: approved standard**. 9th. ed. Wayne: CLSI, 2012.

DA COLLINA, G. A. et al. Controlling methylene blue aggregation: a more efficient alternative to treat *Candida albicans* infections using photodynamic therapy. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 17, n. 10, p. 1355–1364, 2018.

DA SILVA, M. C. A. et al. Dynamic interaction between airway epithelial cells and *Staphylococcus aureus*. **American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 287, n. 3, p. L543–L551, 2004.

DE AGUIAR COLETTI, T. M. S. F. et al. Optimization of Antimicrobial Photodynamic Therapy in Biofilms by Inhibiting Efflux Pump. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 35, n. 7, p. 378–385, 15 jun. 2017.

DE ANNUNZIO, S. R. et al. Susceptibility of *Enterococcus faecalis* and *Propionibacterium acnes* to antimicrobial photodynamic therapy. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 178, p. 545–550, jan. 2018.

DEAN, J. C. et al. Methylene Blue Exciton States Steer Nonradiative Relaxation: Ultrafast Spectroscopy of Methylene Blue Dimer. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 120, n. 3, p. 440–454, 28 jan. 2016.

DEL'ALAMO, L. et al. An outbreak of catalase-negative methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Hospital Infection**, v. 65, n. 3, p. 226–230, 2007.

DIAS, L. D. et al. Curcumin as a photosensitizer: From molecular structure to recent advances in antimicrobial photodynamic therapy. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 45, p. 100384, 2020.

DOSSELLI, R. et al. Molecular targets of antimicrobial photodynamic therapy identified by a proteomic approach. **Journal of Proteomics**, v. 77, p. 329–343, 2012.

DZIEWANOWSKA, K. et al. Fibronectin binding protein and host cell tyrosine kinase are required for internalization of *Staphylococcus aureus* by epithelial cells. **Infection and immunity**, v. 67, n. 9, p. 4673–4678, 1999.

ETIENNE, J. Pantone-Valentine leukocidin: a marker of severity for *Staphylococcus aureus* infection? **Clinical Infectious Diseases**, v. 41, n. 5, p. 591–593, 2005.

FERREIRA, J. et al. Photostability of different chlorine photosensitizers. **Laser Physics Letters**, v. 5, n. 2, p. 156–161, 1 fev. 2008.

FITA, I.; ROSSMANN, M. G. The active center of catalase. **Journal of Molecular Biology**, v. 185, n. 1, p. 21–37, 1985.

FOWLER, T. et al. Cellular invasion by *Staphylococcus aureus* involves a fibronectin bridge between the bacterial fibronectin-binding MSCRAMMs and host cell $\beta 1$ integrins. **European journal of cell biology**, v. 79, n. 10, p. 672–679, 2000.

FOWLER, T. et al. Src kinase has a central role in in vitro cellular internalization of *Staphylococcus aureus*. **Cellular microbiology**, v. 5, n. 6, p. 417–426, 2003.

GERALDE, M. C. et al. Study on the incubation time of curcumin in photodynamic therapy. In: Advanced School on Modern Trends of Biophotonics for Diagnosis and Treatment of Cancer and Microbial Control. **Anais...** São Carlos: Instituto de Física de São Carlos, 2013.

GUDIÑA, E. J. et al. Antimicrobial and antiadhesive properties of a biosurfactant isolated from *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* A20. **Letters in Applied Microbiology**, v. 50, n. 4, p. 419–424, 1 abr. 2010.

HALLIWELL, B. The Chemistry of Free Radicals. **Toxicology and Industrial Health**, v. 9, n. 1–2, p. 1–21, 30 jan. 1993.

HAOUZI, P. et al. Revisiting the physiological effects of methylene blue as a treatment of cyanide intoxication. **Clinical Toxicology**, v. 56, n. 9, p. 828–840, 2018.

HEIM, W. G.; APPLEMAN, D.; PYFROM, H. T. Effects of 3-Amino-1,2,4-Triazole (AT) on Catalase and Other Compounds. **American Journal of Physiology-Legacy Content**, v. 186, n. 1, p. 19–23, 1 jul. 1956.

HESS, D. J. et al. Intracellular survival of *Staphylococcus aureus* within cultured enterocytes. **Journal of Surgical Research**, v. 114, n. 1, p. 42–49, 2003.

JONAS, D. et al. Novel path to apoptosis: small transmembrane pores created by staphylococcal α -toxin in T lymphocytes evoke internucleosomal DNA degradation. **Infection and immunity**, v. 62, n. 4, p. 1304–1312, 1994.

KARIMNIA, V.; SLACK, F. J.; CELLI, J. P. Photodynamic Therapy for Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Cancers. **Cancers** (Basel). v. 13, n. 17, p. 4354, Aug. 28, 2021. doi: 10.3390/cancers13174354.

KASIM, N. A. et al. Molecular properties of WHO essential drugs and provisional biopharmaceutical classification. **Molecular pharmaceutics**, v. 1, n. 1, p. 85–96, 2004.

KAUR, R. et al. Recent developments on 1,2,4-triazole nucleus in anticancer compounds: A review. **Anticancer Agents Med Chem.** v. 16, p. 465–489, 1 abr. 2016.

KHOLIMATUSSA'DIAH, S.; DYAH ASTUTI, S.; APSARI, R. Determination of Infrared Laser Energy Dose for Cancer Cells Inactivation as a Candidate of Photodynamic Therapy. **Journal of Physics: Conference Series**, v. 1445, n. 1, p. 12021, 2020.

KHURANA, A.; HO, C.-T. High performance liquid chromatographic analysis of curcuminoids and their photo-oxidative decomposition compounds in *Curcuma longa* L. **Journal of liquid chromatography**, v. 11, n. 11, p. 2295–2304, 1988.

KLOSOWSKI, E. M. et al. The photodynamic and direct actions of methylene blue on mitochondrial energy metabolism: A balance of the useful and harmful effects of this photosensitizer. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 153, p. 34–53, 2020.

KNAPP, C.; MOODY, J. Tests to assess bactericidal activity. Part 2. Time-kill assay. In: HD, I. (Ed.). **Clinical microbiology procedures handbook**. Washington DC: American Society for Microbiology, 1992.

KOLEV, T. M. et al. DFT and experimental studies of the structure and vibrational spectra of curcumin. **International Journal of Quantum Chemistry**, v. 102, n. 6, p. 1069–1079, 1 jan. 2005.

KONAN, Y. N.; GURNY, R.; ALLÉMAN, E. State of the art in the delivery of photosensitizers for photodynamic therapy. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 66, n. 2, p. 89–106, 2002.

KRAFTS, K.; HEMPELMANN, E.; SKÓRSKA-STANIA, A. From methylene blue to chloroquine: a brief review of the development of an antimalarial therapy. **Parasitology research**, v. 111, n. 1, p. 1–6, 2012.

KUSTOV, A. V et al. Transurethral Resection of Non-Muscle Invasive Bladder Tumors Combined with Fluorescence Diagnosis and Photodynamic Therapy with Chlorin e6-Type Photosensitizers. **Journal of Clinical Medicine**, v. 11, n. 1, 233, 2022.

KWIATKOWSKI, S. et al. Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 106, p. 1098–1107, 2018.

LIEBERMAN, M.; MARKS, A. Oxygen Toxicity and Free Radical Injury. In: **Basic Medical Biochemistry. A clinical approach**. 4th. ed. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams&Wilkins, 2013. v. 4.

LIN, J. et al. Photocatalytic degradation of methylene blue in aqueous solution by using ZnO-SnO₂ nanocomposites. **Materials Science in Semiconductor Processing**, v. 87, p. 24–31, 2018.

LIU, X. et al. 3-Amino-1,2,4-triazole-derived graphitic carbon nitride for photodynamic

therapy. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 250, p. 119363, 2021.

LOUREIRO, R. J. et al. O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**, v. 34, n. 1, p. 77–84, 2016.

LOWY, F. D. et al. Staphylococcus aureus-human endothelial cell interactions. **Journal of ultrastructure and molecular structure research**, v. 98, n. 2, p. 137–146, 1988.

MACKAY, A. M. The evolution of clinical guidelines for antimicrobial photodynamic therapy of skin. **Photochemical & Photobiological Sciences**, 2022.

MANSOURI, A.; LURIE, A. A. Methemoglobinemia. **American Journal of Hematology**, v. 42, n. 1, p. 7–12, 1 jan. 1993.

MARGOLIASH, E.; NOVOGRODSKY, A. A study of the inhibition of catalase by 3-amino-1:2:4-triazole. **The Biochemical journal**, v. 68, n. 3, p. 468–475, mar. 1958.

MARGOLIASH, E.; NOVOGRODSKY, A.; SCHEJTER, A. Irreversible reaction of 3-amino-1:2:4-triazole and related inhibitors with the protein of catalase. **Biochemical Journal**, v. 74, n. 2, p. 339–348, 1 fev. 1960.

MCDUGAL, L. K. et al. Pulsed-field gel electrophoresis typing of oxacillin-resistant Staphylococcus aureus isolates from the United States: establishing a national database. **Journal of clinical microbiology**, v. 41, n. 11, p. 5113–5120, 2003.

MELO, J. O. F. et al. Heterociclos 1,2,3-triazólicos: histórico, métodos de preparação, aplicações e atividades farmacológicas. **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 569–579, jun. 2006.

MENZIES, B. E.; KOURTEVA, I. Internalization of Staphylococcus aureus by endothelial cells induces apoptosis. **Infection and immunity**, v. 66, n. 12, p. 5994–5998, 1998.

MILTON, N. G. N. Inhibition of Catalase Activity with 3-Amino-Triazole Enhances the Cytotoxicity of the Alzheimer's Amyloid- β Peptide. **NeuroToxicology**, v. 22, n. 6, p. 767–774, 2001.

MONDAL, S.; GHOSH, S.; MOULIK, S. P. Stability of curcumin in different solvent and solution media: UV-visible and steady-state fluorescence spectral study. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 158, p. 212–218, 2016.

MONDAL, S.; REYES, M. E. D. A.; PAL, U. Plasmon induced enhanced photocatalytic activity of gold loaded hydroxyapatite nanoparticles for methylene blue degradation under visible light. **RSC advances**, v. 7, n. 14, p. 8633–8645, 2017.

MOOSMANN, B. et al. Protective activity of aromatic amines and imines against

oxidative nerve cell death. 2001.

NADLER, V.; GOLDBERG, I.; HOCHMAN, A. Comparative study of bacterial catalases. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 882, n. 2, p. 234–241, 1986.

NAIR, S. P. et al. The σ B regulon influences internalization of *Staphylococcus aureus* by osteoblasts. **Infection and immunity**, v. 71, n. 7, p. 4167–4170, 2003.

NIMSE, S. B.; PAL, D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. **RSC Advances**, v. 5, n. 35, p. 27986–28006, 2015.

NOUWEN, J. L. et al. Persistent (not intermittent) nasal carriage of *Staphylococcus aureus* is the determinant of CPD-related infections. **Kidney International**, v. 67, n. 3, p. 1084–1092, 2005.

NUZZO, I. et al. Apoptosis of human keratinocytes after bacterial invasion. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v. 27, n. 3, p. 235–240, 2000.

OLIVEIRA, C. S. et al. Major determinants of photoinduced cell death: Subcellular localization versus photosensitization efficiency. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 51, n. 4, p. 824–833, 2011.

OMS. **WHO Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance**. Disponível em: <https://www.who.int/drugresistance/WHO_Global_Strategy_English.pdf>.

PAN, M.-H.; HUANG, T.-M.; LIN, J.-K. Biotransformation of curcumin through reduction and glucuronidation in mice. **Drug metabolism and disposition**, v. 27, n. 4, p. 486–494, 1999.

PARASURAMAN, P. et al. Synthesis and antimicrobial photodynamic effect of methylene blue conjugated carbon nanotubes on *E. coli* and *S. aureus*. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 18, n. 2, p. 563–576, 2019.

PAZIANI, M. H. et al. Antimicrobial photodynamic therapy with phenothiazinium photosensitizers in non-vertebrate model *Galleria mellonella* infected with *Fusarium keratoplasticum* and *Fusarium moniliforme*. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 25, p. 197–203, 2019.

PEACOCK, S. J. et al. Bacterial fibronectin-binding proteins and endothelial cell surface fibronectin mediate adherence of *Staphylococcus aureus* to resting human endothelial cells. **Microbiology**, v. 145, n. 12, p. 3477–3486, 1999.

PETRUS, E. M. et al. A study on the minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of Nano Colloidal Silver on food-borne pathogens. **International Food Research Journal**, v. 18, n. 1, 2011.

PLECH, T. et al. Search for factors affecting antibacterial activity and toxicity of 1, 2, 4-triazole-ciprofloxacin hybrids. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 97,

p. 94–103, 2015a.

PLECH, T. et al. Determination of the primary molecular target of 1, 2, 4-triazole-ciprofloxacin hybrids. **Molecules**, v. 20, n. 4, p. 6254–6272, 2015b.

PORRO, C. et al. **Curcumin Regulates Anti-Inflammatory Responses by JAK/STAT/SOCS Signaling Pathway in BV-2 Microglial Cells** **Biology**, 2019.

RANG, H. P. et al. Princípios básicos da quimioterapia antimicrobiana. In: **Farmacologia de Rang & Dale**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

RAPACKA-ZDONCZYK, A. et al. Development of Staphylococcus aureus tolerance to antimicrobial photodynamic inactivation and antimicrobial blue light upon sub-lethal treatment. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 9423, 2019.

REHM, S. J.; TICE, A. Staphylococcus aureus: Methicillin-Susceptible S. aureus to Methicillin-Resistant S. aureus and Vancomycin-Resistant S. aureus. **Clinical Infectious Diseases**, v. 51, n. Supplement_2, p. S176–S182, 15 set. 2010.

RONQUI, M. R. et al. Synergistic antimicrobial effect of photodynamic therapy and ciprofloxacin. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 158, p. 122–129, 2016.

SAEED, K.; KHAN, I.; PARK, S.-Y. TiO₂/amidoxime-modified polyacrylonitrile nanofibers and its application for the photodegradation of methyl blue in aqueous medium. **Desalination and Water Treatment**, v. 54, n. 11, p. 3146–3151, 2015.

SAMPAIO, L. S. et al. Influence of light intensity and irradiation mode on methylene blue, chlorin-e6 and curcumin-mediated photodynamic therapy against Enterococcus faecalis. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 31, p. 101925, set. 2020.

SCHIRMER, R. H. et al. “Lest we forget you — methylene blue ...”. **Neurobiology of Aging**, v. 32, n. 12, p. 2325.e7-2325.e16, 2011.

SCHNAITH, A. et al. Staphylococcus aureus subvert autophagy for induction of caspase-independent host cell death. **Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 4, p. 2695–2706, 2007.

SEIDI DAMYEH, M. et al. An insight into curcumin-based photosensitization as a promising and green food preservation technology. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 19, n. 4, p. 1727–1759, 1 jul. 2020.

SEPASI TEHRANI, H.; MOOSAVI-MOVAHEDI, A. A. Catalase and its mysteries. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, v. 140, p. 5–12, 2018.

SHARMA, R. A.; GESCHER, A. J.; STEWARD, W. P. Curcumin: The story so far. **European Journal of Cancer**, v. 41, n. 13, p. 1955–1968, 1 set. 2005.

SINGH, R.; SINGH, S. Redox-dependent catalase mimetic cerium oxide-based nanozyme protect human hepatic cells from 3-AT induced acatalasemia. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 175, p. 625–635, 2019.

SINGH, S. V et al. Mechanism of inhibition of benzo [a] pyrene-induced forestomach cancer in mice by dietary curcumin. **Carcinogenesis**, v. 19, n. 8, p. 1357–1360, 1998.

SINHA, B. et al. Fibronectin-binding protein acts as Staphylococcus aureus invasin via fibronectin bridging to integrin $\alpha 5\beta 1$. **Cellular microbiology**, v. 1, n. 2, p. 101–117, 1999.

SUN, K. et al. Enhanced highly toxic reactive oxygen species levels from iron oxide core–shell mesoporous silica nanocarrier-mediated Fenton reactions for cancer therapy. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 6, n. 37, p. 5876–5887, 2018.

TIBURCIO, M. A. et al. In vitro evaluation of the cis-[Ru(phen)₂(pPDIp)]^{2+*} complex for antimicrobial photodynamic therapy against *Sporothrix brasiliensis* and *Candida albicans*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 229, p. 112414, 2022.

TICHACZEK-GOSKA, D.; GLEŃSK, M.; WOJNICZ, D. The Enhancement of the Photodynamic Therapy and Ciprofloxacin Activity against Uropathogenic *Escherichia coli* Strains by *Polypodium vulgare* Rhizome Aqueous Extract. **Pathogens**, 2021.

TIGANOVA, I. G. et al. On the possibility of photodynamic inactivation of tracheobronchial tree pathogenic microbiota using methylene blue (in vitro study). **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 38, p. 102753, 2022.

TOMB, R. M. et al. Assessment of the potential for resistance to antimicrobial violet-blue light in *Staphylococcus aureus*. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 6, n. 1, p. 100, 2017.

TONG, S. Y. C. et al. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. **Clinical microbiology reviews**, v. 28, n. 3, p. 603–661, jul. 2015.

TORTAMANO, A. C. A. C. et al. Antimicrobial photodynamic therapy mediated by methylene blue in surfactant vehicle on periodontopathogens. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 31, p. 101784, 2020.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

TOSATO, M. G. et al. Synergistic effect of carboxypterin and methylene blue applied to antimicrobial photodynamic therapy against mature biofilm of *Klebsiella pneumoniae*. **Heliyon**, v. 6, n. 3, e03522, 2020.

UEDA, M. et al. Effect of catalase-specific inhibitor 3-amino-1,2,4-triazole on yeast peroxisomal catalase in vivo. **FEMS Microbiology Letters**, v. 219, n. 1, p. 93–98, 1 fev. 2003.

VAN ONSELEN, R.; DOWNING, T. G. β -N-methylamino-L-alanine Inhibits Human

Catalase Activity: Possible Implications for Neurodegenerative Disease Development. **International Journal of Toxicology**, v. 38, n. 2, p. 129–134, 20 jan. 2019.

WAINWRIGHT, M.; AMARAL, L. The phenothiazinium chromophore and the evolution of antimalarial drugs. **Tropical Medicine & International Health**, v. 10, n. 6, p. 501–511, 2005.

WAINWRIGHT, M.; CROSSLEY, K. B. Methylene Blue - a Therapeutic Dye for All Seasons? **Journal of Chemotherapy**, v. 14, n. 5, p. 431–443, 1 jan. 2002.

WERTHEIM, H. F. L. et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 5, n. 12, p. 751–762, 1 dez. 2005.

WHITE, A. Increased Infection Rates in Heavy Nasal Carriers of Coagulase-Positive Staphylococci. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 161, p. 667-670, 1963.

WIKENE, K. O.; BRUZELL, E.; TØNNESEN, H. H. Characterization and antimicrobial phototoxicity of curcumin dissolved in natural deep eutectic solvents. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 80, p. 26–32, 2015.

YANG, C. et al. Highly efficient photocatalytic degradation of methylene blue by P2ABSA-modified TiO₂ nanocomposite due to the photosensitization synergetic effect of TiO₂ and P2ABSA. **RSC advances**, v. 7, n. 38, p. 23699–23708, 2017.

YOON, I.; LI, J. Z.; SHIM, Y. K. Advance in photosensitizers and light delivery for photodynamic therapy. **Clinical endoscopy**, v. 46, n. 1, p. 7–23, jan. 2013.

YU, N. et al. Dermabrasion combined with photodynamic therapy: a new option for the treatment of non-melanoma skin cancer. **Lasers in Medical Science**, v. 37, n. 2, p. 1255-1263, 2021.

ZAGO, L. H. DE P. et al. Antimicrobial photodynamic therapy against metronidazole-resistant dental plaque bacteria. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 209, p. 111903, 2020.

ZHANG, M. et al. Anti-inflammatory activity of curcumin-loaded tetrahedral framework nucleic acids on acute gouty arthritis. **Bioactive Materials**, v. 8, p. 368–380, 2022.