

INATIVAÇÃO FOTODINÂMICA E FOTOTÉRMICA DE ESCHERICHIA COLI E STAPHYLOCOCCUS AUREUS VIA NANOPARTÍCULAS DE POLÍMEROS CONJUGADOS, PARTE 1¹

PHOTODYNAMIC AND PHOTOTHERMAL INACTIVATION OF ESCHERICHIA COLI AND STAPHYLOCOCCUS AUREUS VIA CONJUGATED POLYMER NANOPARTICLES, PART 1

INACTIVACIÓN FOTODINÁMICA Y FOTOTÉRMICA DE ESCHERICHIA COLI Y STAPHYLOCOCCUS AUREUS MEDIANTE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS CONJUGADAS, PARTE 1



10.56238/MedCientifica-101

Hygor Chaves da Silva

Mestre em Ciências dos Materiais

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

E-mail: hygorchavesdasilva@gmail.com

RESUMO

Este trabalho investigou a síntese, caracterização e ação fotodinâmica de nanopartículas (NPs) dos polímeros conjugados (PCs) poly-(2,5-di-hexyloxy-cyanoterephthalylidene) (Cn-PPV), poly[2,6-(4,4-bis-(2-ethylhexyl)-4H-cyclopenta[2,1-b;3,4-b']dithiophene)-alt-4,7(2,1,3-benzothiadiazole)] (PCPDTBT) e a nova blenda, oriunda da mistura de Cn-PPV e PCPDTBT, nomeada de Cn-TBT, cujas nanoestruturas foram denominadas de Cn-TBT-NPs, visando a fotoinativação bacteriana. A eficácia dessas NPs foi avaliada contra *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva) e *Escherichia coli* (Gram-negativa), utilizando irradiação com luz visível. As NPs demonstraram eficiência na geração de espécies reativas de oxigênio EROs e ¹O₂, além de induzirem efeitos fototérmicos quando irradiadas com laser no infravermelho (806 nm), resultando em inviabilização bacteriana. Dentre as NPs sintetizadas, as Cn-TBT-NPs destacaram-se por combinar as propriedades fotodinâmicas e fototérmicas dos polímeros originais, resultando em maior eficácia na inativação de *S. aureus* quando submetida a concentração de 8 µg mL⁻¹. Essa maior eficiência pode ser atribuída à maior permeabilidade da parede celular da *S. aureus*, facilitando a penetração. As Cn-TBT-NPs também apresentaram maior rendimento na geração de ¹O₂. Em contraste, *E. coli*, uma bactéria Gram-negativa com estrutura de parede celular mais complexa, exigiu uma concentração maior que 16 µg mL⁻¹ para alcançar uma inativação similar. Os resultados sugerem que as Cn-TBT-NPs apresentam grande potencial como fotossensibilizadoras, especialmente no combate a bactérias Gram-positivas. A sinergia entre os efeitos fotodinâmicos e fototérmicos, aliada à capacidade de absorção de luz visível, oferece uma abordagem promissora para a inativação fotodinâmica antimicrobiana. Este estudo reforça a importância do desenvolvimento de novas nanoestruturas no combate à resistência antimicrobiana, proporcionando uma alternativa eficaz e segura aos tratamentos convencionais.

¹ Este texto constitui a primeira parte do artigo. A continuação encontra-se em: DA SILVA, Hygor Chaves. INATIVAÇÃO FOTODINÂMICA E FOTOTÉRMICA DE ESCHERICHIA COLI E STAPHYLOCOCCUS AUREUS VIA NANOPARTÍCULAS DE POLÍMEROS CONJUGADOS, PARTE 2. *Anais Eventos*. <https://doi.org/10.56238/MedCientifica-102>



Palavras-chave: Processos Fotoinduzidos. Nanotecnologia Aplicada. Engenharia de Materiais e Mecanismos de Inativação.

ABSTRACT

This work investigated the synthesis, characterization, and photodynamic action of nanoparticles (NPs) of the conjugated polymers (PCs) poly-(2,5-di-hexyloxy-cyanoterephthalylidene) (Cn-PPV), poly[2,6-(4,4-bis-(2-ethylhexyl)-4H-cyclopenta[2,1-b;3,4-b']dithiophene)-alt-4,7(2,1,3-benzothiadiazole)] (PCPDTBT), and the new blend, resulting from the mixture of Cn-PPV and PCPDTBT, named Cn-TBT, whose nanostructures were called Cn-TBT-NPs, aiming at bacterial photoinactivation. The effectiveness of these NPs was evaluated against *Staphylococcus aureus* (Gram-positive) and *Escherichia coli* (Gram-negative) using irradiation with visible light. The NPs demonstrated efficiency in generating reactive oxygen species (ROS) and $^1\text{O}_2$, in addition to inducing photothermal effects when irradiated with infrared laser (806 nm), resulting in bacterial inviability. Among the synthesized NPs, Cn-TBT-NPs stood out for combining the photodynamic and photothermal properties of the original polymers, resulting in greater effectiveness in inactivating *S. aureus* when subjected to a concentration of $8 \mu\text{g mL}^{-1}$. This greater efficiency can be attributed to the greater permeability of the *S. aureus* cell wall, facilitating penetration. Cn-TBT-NPs also showed a higher yield in generating $^1\text{O}_2$. In contrast, *E. coli*, a Gram-negative bacterium with a more complex cell wall structure, required a concentration higher than $16 \mu\text{g mL}^{-1}$ to achieve similar inactivation. The results suggest that Cn-TBT-NPs have great potential as photosensitizers, especially in combating Gram-positive bacteria. The synergy between photodynamic and photothermal effects, combined with the ability to absorb visible light, offers a promising approach for antimicrobial photodynamic inactivation. This study reinforces the importance of developing new nanostructures in combating antimicrobial resistance, providing an effective and safe alternative to conventional treatments.

Keywords: Photoinduced Processes. Applied Nanotechnology. Materials Engineering and Inactivation Mechanisms.

RESUMEN

Este trabajo investigó la síntesis, caracterización y acción fotodinámica de nanopartículas (NPs) de los polímeros conjugados (PCs) poli-(2,5-di-hexiloxi-cianotereftalilideno) (Cn-PPV), poli[2,6-(4,4-bis-(2-etilhexil)-4H-ciclopenta[2,1-b;3,4-b']ditiófono)-alt-4,7(2,1,3-benzotiadiazol)] (PCPDTBT), y la nueva mezcla, resultante de la mezcla de Cn-PPV y PCPDTBT, denominada Cn-TBT, cuyas nanoestructuras fueron denominadas Cn-TBT-NPs, con el objetivo de la fotoinactivación bacteriana. La efectividad de estas NPs fue evaluada contra *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva) y *Escherichia coli* (Gram-negativa) usando irradiación con luz visible. Las NPs demostraron eficiencia en la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y $^1\text{O}_2$, además de inducir efectos fototérmicos al ser irradiadas con láser infrarrojo (806 nm), resultando en inviabilidad bacteriana. Entre las NPs sintetizadas, las Cn-TBT-NPs destacaron por combinar las propiedades fotodinámicas y fototérmicas de los polímeros originales, resultando en una mayor efectividad en la inactivación de *S. aureus* al ser sometidas a una concentración de $8 \mu\text{g mL}^{-1}$. Esta mayor eficiencia puede atribuirse a la mayor permeabilidad de la pared celular de *S. aureus*, facilitando su penetración. Las Cn-TBT-NPs también mostraron un mayor rendimiento en la generación de $^1\text{O}_2$. Por el contrario, *E. coli*, una bacteria Gram-negativa con una estructura de pared celular más compleja, requirió una concentración superior a $16 \mu\text{g mL}^{-1}$ para lograr una inactivación similar. Los resultados sugieren que las Cn-TBT-NPs tienen un gran potencial como fotosensibilizadores, especialmente en el combate contra bacterias Gram-positivas. La sinergia entre los efectos fotodinámicos y fototérmicos, combinada con la capacidad de absorber luz visible, ofrece un enfoque prometedor para la inactivación fotodinámica de antimicrobianos. Este estudio refuerza la importancia del desarrollo de nuevas nanoestructuras para



combatir la resistencia a los antimicrobianos, ofreciendo una alternativa eficaz y segura a los tratamientos convencionales.

Palabras clave: Procesos Fotoinducidos. Nanotecnología Aplicada. Ingeniería de Materiales y Mecanismos de Inactivación.





1 INTRODUÇÃO

A resistência aos antibióticos emergiu como um dos maiores desafios globais na saúde pública. A utilização inadequada e indiscriminada de antibióticos facilita o surgimento de bactérias resistentes a múltiplos medicamentos, resultando em cepas multirresistentes. Conforme os centros de controle e prevenção de doenças, pacientes infectados com *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA) têm uma chance 64% maior de perecer em comparação com aqueles infectados por cepas não resistentes (Ferreira *et al.*, 2023; Spagnolo, 2024). Em 2019 (Kavanagh, 2019), nos Estados Unidos, foram relatados aproximadamente 120.000 casos de infecção por MRSA, levando a mais de 20.000 mortes globalmente, a situação é igualmente alarmante; em 2021, cerca de 500.000 pessoas desenvolveram tuberculose multirresistente (OMS, 2022). A Organização Mundial da Saúde (OMS, 2022) indicou que havia 43 antibióticos em desenvolvimento clínico para combater patógenos prioritários, mas apenas seis foram classificados como inovadores.

A Inativação Fotodinâmica antimicrobiana (aIFD) tem se mostrado uma abordagem promissora no tratamento de infecções bacterianas e fúngicas, especialmente em um contexto de crescente resistência aos antibióticos (Gholami *et al.*, 2023). Esta técnica utiliza corantes e substâncias fotossensibilizadoras, que podem ser naturais ou sintéticas, para tratar doenças e combater microrganismos via processo fotodinâmico. Sob iluminação adequada, esses fotossensibilizadores (FSs) promovem eventos fotofísicos, fotoquímicos e fotobiológicos que destroem seletivamente o tecido celular dos microrganismos. A aIFD oferece uma vantagem significativa, pois a destruição dos patógenos ocorre de maneira específica e programada, minimizando danos aos tecidos circundantes (Oliveira *et al.*, 2023a). Estudos demonstram a eficácia da aIFD contra várias cepas resistentes sublinhando seu potencial como uma alternativa viável aos tratamentos convencionais de antibióticos (Youssef *et al.*, 2020; Sansone *et al.*, 2022).

1.1 DOENÇAS INFECCIOSAS E BACTÉRIAS

Estamos à beira de uma crise de saúde pública sem precedentes: a era pós-antibiótica, onde infecções simples podem novamente ser fatais. Os microrganismos resistentes a antibióticos (MRA), emergiram como uma das maiores ameaças globais à saúde pública, representando um desafio que transcende fronteiras e disciplinas, exigindo ação imediata e coordenada. A evolução das bactérias, que desenvolvem rapidamente mecanismos de sobrevivência frente a tratamentos antes eficazes, exemplifica a urgência desta questão.

No centro do problema com os MRA está o gênero *Staphylococcus sp*, cujas bactérias esféricas, como o *Staphylococcus aureus*, tornaram-se protagonistas em infecções que afetam milhões de pessoas ao redor do mundo (Lima, 2015; Cristina, Paula e Rodrigues, 2023). Desde sua detecção em 1880, o

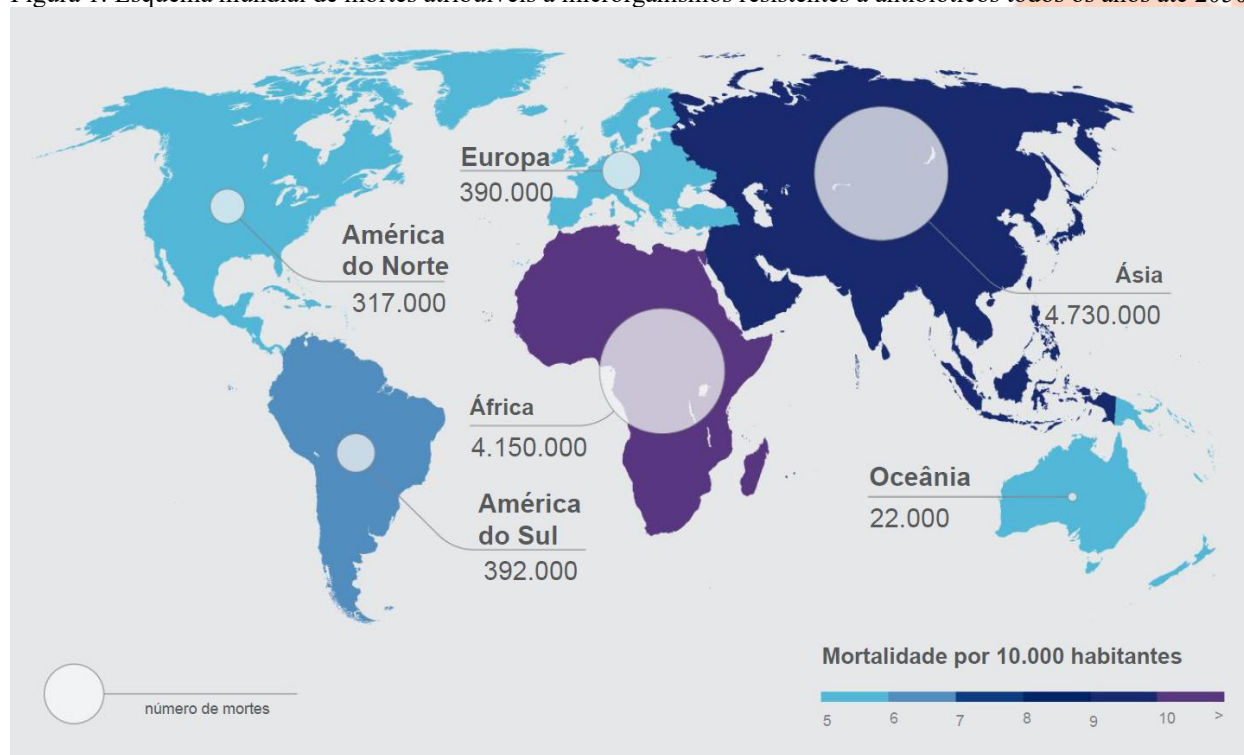


S. aureus evoluiu de um agente patogênico controlável para um adversário resistente, que hoje desafia a medicina moderna.

O início da terapia antibiótica contra *S. aureus* na década de 1930, com a sulfanilamida e, posteriormente, a penicilina, trouxe esperança (Brumfitt e Hamilton-Miller, 1989). No entanto, essa esperança foi rapidamente obscurecida pelo surgimento de cepas resistentes, alimentadas pela habilidade da bactéria de produzir betalactamase, uma enzima capaz de inativar a penicilina (Neu, 1994). A resistência antimicrobiana continuou a evoluir. Embora a meticilina tenha sido introduzida em 1960 para combater a resistência à penicilina, cepas resistentes a esse antibiótico começaram a surgir já na década de 1970.

Ainda mais alarmante foi o surgimento de cepas de *S. aureus* resistentes à vancomicina no início dos anos 2000, tanto no Brasil quanto nos Estados Unidos, Japão e Europa, evidenciando a gravidade de um problema de alcance global (Souza et al., 2007; Cunha e Baiense, 2023). A cada novo antibiótico introduzido, as bactérias parecem encontrar novas formas de resistência, tornando claro que a corrida entre o desenvolvimento de medicamentos e a adaptação bacteriana é uma batalha que estamos perigosamente próximos de perder. A Figura 1 ilustra que até 2050, segundo O'Neill, 2014, o mundo deve somar cerca de 10 milhões de mortes anuais por MRA.

Figura 1: Esquema mundial de mortes atribuíveis a microrganismos resistentes a antibióticos todos os anos até 2050.



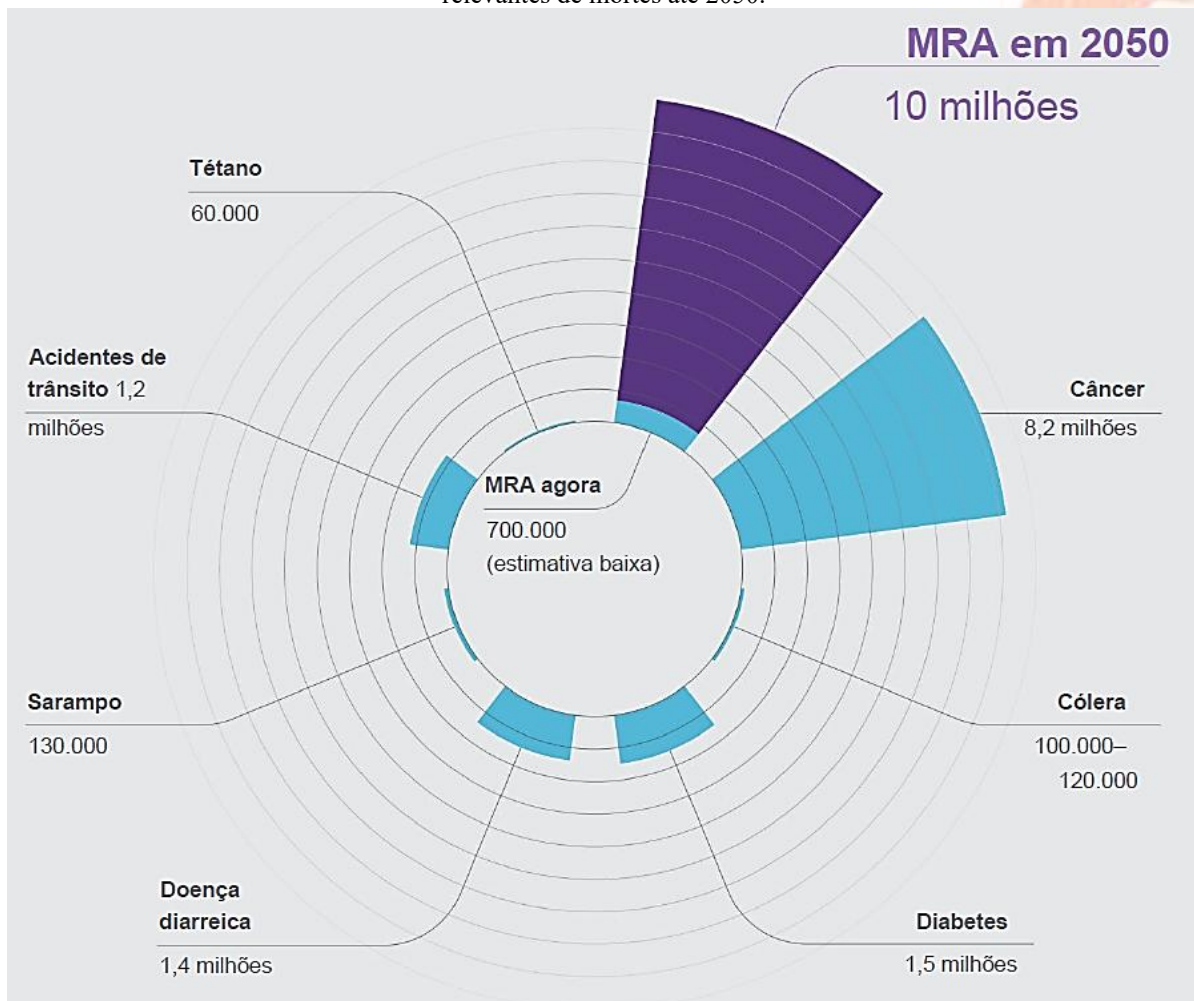
O impacto da resistência antimicrobiana vai além do *S. aureus*. A *E. coli*, um dos bacilos Gram-negativos mais prevalentes, também ilustra o quão devastador esse fenômeno pode ser. Responsável



por uma variedade de doenças, desde gastroenterites a infecções extra-intestinais graves como sepsé, a *E. coli* tem se tornado progressivamente mais resistente a uma gama de antibióticos. Estudos revelaram taxas assustadoras de resistência em cepas de *E. coli*, com a maioria das cepas demonstrando resistência a múltiplos antibióticos (Zhang et al., 2017; Freitas e Machado, 2018; Oliveira et al., 2023). A descoberta de cepas de *E. coli* resistentes à colistina na China em 2016 destaca a gravidade da situação, pois a colistina é um dos últimos recursos contra bactérias multirresistentes (Schwarz e Johnson, 2016; Huang et al., 2017).

A resistência antimicrobiana é uma das ameaças mais críticas à saúde global, como alertado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2024. A resistência a medicamentos continua a aumentar, comprometendo a eficácia de tratamentos para infecções bacterianas comuns e ameaçando reverter os avanços da medicina moderna. A OMS destaca que, se medidas efetivas não forem implementadas, poderemos enfrentar até 10 milhões de mortes anuais relacionadas a infecções resistentes até 2050, superando o impacto de muitas outras ameaças à saúde global (Figura 2) (OMS, 2023, 2024).

Figura 2: Mortes atribuídas a microrganismos resistentes a antibióticos todos os anos em comparação com outras causas relevantes de mortes até 2050.



Fonte: Adaptado de O'Neill, 2014.



Além das vidas perdidas, o impacto econômico será severo, com estimativas indicando que a resistência antimicrobiana poderá gerar custos de até 210 trilhões de dólares até 2050, consumindo até 1% do PIB (produto interno bruto) global (O'Neill, 2014; WHO, 2023, 2024). As infecções por bactérias resistentes, como *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, demonstram altos níveis de resistência, forçando o uso de antibióticos de última linha, para os quais a resistência também está aumentando.

Os desafios são ampliados pela resistência em fungos, HIV, tuberculose e malária, que exigem vigilância rigorosa e inovação contínua em tratamentos. A OMS enfatiza a necessidade de uma abordagem coordenada que integre a saúde humana, animal e ambiental para enfrentar efetivamente essa crise (WHO, 2023).

Portanto, o problema da resistência antimicrobiana não é apenas uma questão de saúde, mas uma crise iminente que ameaça nossa própria existência e prosperidade. A humanidade enfrenta uma encruzilhada: ou tomamos medidas drásticas e coordenadas para enfrentar essa ameaça, ou arriscamos retornar a uma era em que infecções simples podem novamente se tornar sentenças de morte. É imperativo que governos, indústrias, cientistas e cidadãos se unam para desenvolver novas soluções, promover o uso responsável de antibióticos e investir em pesquisa para combater essa crescente ameaça. O futuro da saúde global depende das ações que tomamos agora.

1.2 MECANISMO DE DESENVOLVIMENTO DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E SUA TRANSFERÊNCIA

A resistência antimicrobiana é um desafio global que ameaça a eficácia dos tratamentos médicos modernos, colocando em risco décadas de progresso no combate a doenças infecciosas (Castilho *et al.*, 2024). Este fenômeno é multifacetado, envolvendo uma série de mecanismos que permitem aos patógenos escapar dos efeitos dos antimicrobianos, tornando as infecções cada vez mais difíceis de tratar (Almeida *et al.*, 2023).

A resistência antimicrobiana pode ser classificada em três categorias principais: intrínseca, adaptativa e adquirida (Tenover, 2006). A resistência intrínseca refere-se a características naturais dos microrganismos, como a presença de uma barreira física que impede a penetração de antibióticos. Por exemplo, a parede celular espessa de peptidoglicano nas bactérias Gram-positivas ou a membrana externa adicional nas Gram-negativas são estruturas que conferem resistência natural a vários antibióticos, como a penicilina.

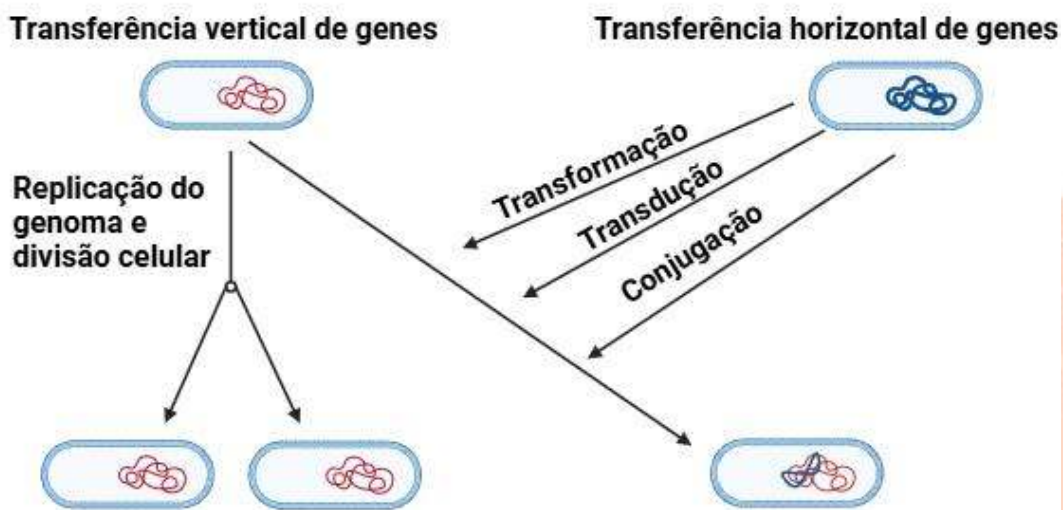
A resistência adaptativa, por sua vez, ocorre quando os microrganismos, em resposta a estímulos ambientais como estresse ou exposição a antibióticos em concentrações sub-inibitórias, sofrem mutações ou alterações na expressão genética que lhes permitem sobreviver a esses agentes.



Este tipo de resistência é transitório, mas pode rapidamente evoluir para uma forma de resistência adquirida se as mudanças adaptativas forem fixadas geneticamente.

A resistência adquirida, a mais preocupante, envolve a transferência de genes de resistência entre bactérias, podendo ocorrer de maneira vertical ou horizontal (Figura 3). Na transferência vertical, a resistência é passada de uma célula mãe para suas filhas durante a divisão celular. Já a transferência horizontal pode ocorrer por transformação, transdução ou conjugação. Por exemplo, a resistência adquirida através da conjugação é frequentemente observada em *Staphylococcus aureus*, onde plasmídeos contendo genes de resistência a múltiplos antibióticos, como a metilina, são transferidos de uma célula para outra, resultando na disseminação de cepas multirresistentes.

Figura 3: Esquema de transferências vertical e horizontal de genes resistentes entre bactérias.

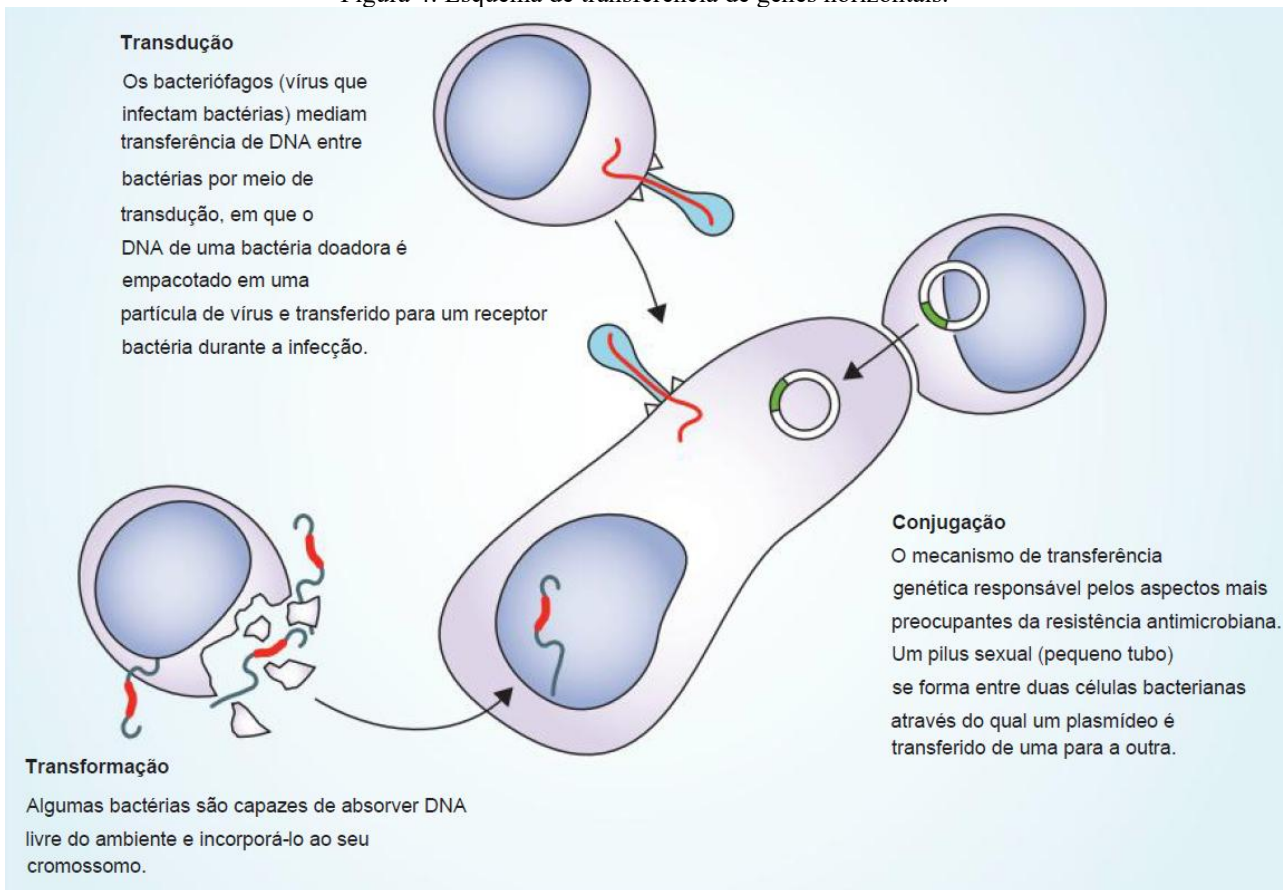


Fonte: Autor.

A transferência horizontal (detalhada na Figura 4) por transformação ocorre quando bactérias com a capacidade de absorver e incorporar DNA livre no meio encontram matéria genética resistente. Já a transdução necessita de bacteriófagos, os quais são vírus que infectam bactérias. Esses agentes mediam a transferência de DNA entre bactérias, processo conhecido como transdução. Na Conjugação ocorre o surgimento de um pequeno tubo entre as duas bactérias, transferindo genomas resistentes. Esse tipo de transferência é o mais preocupante diante da sua relativa facilidade e por ocorrer entre bactérias viáveis.



Figura 4: Esquema de transferência de genes horizontais.



Fonte: Adaptado de (Holmes et al. 2016).

No ambiente hospitalar, microrganismos como *Escherichia coli* e *Clostridioides difficile* estão entre os principais responsáveis por infecções associadas a procedimentos invasivos, como o uso de cateteres e ventilação mecânica. Essas infecções são particularmente problemáticas devido à presença de cepas resistentes, como as produtoras de β -lactamase de espectro estendido (ESBL), que tornam os tratamentos com antibióticos tradicionais ineficazes (Sena et al., 2022).

Por outro lado, as infecções comunitárias ocorrem fora do ambiente hospitalar e são frequentemente causadas por patógenos como *Streptococcus pneumoniae*, responsável por pneumonias, ou *Staphylococcus aureus*, que pode causar infecções de pele. Em regiões onde o saneamento básico é precário, a exposição a água contaminada e alimentos mal preparados pode resultar em infecções gastrointestinais causadas por bactérias como *Salmonella* e *E. coli*, algumas das quais já demonstram resistência a tratamentos padrão, como as fluoroquinolonas (Furuya e Lowy, 2006; Cristina et al., 2023).

A ligação entre os mecanismos de resistência e as infecções observadas em diferentes contextos é clara. Por exemplo, a resistência adquirida por *Staphylococcus aureus* através da conjugação permite que cepas multirresistentes se disseminem rapidamente em ambientes hospitalares, especialmente em unidades de tratamentos intensivos, onde o uso intensivo de antibióticos cria uma pressão seletiva que favorece a sobrevivência dessas cepas (Nogueira et al., 2023). Da mesma forma, a resistência



adaptativa em *E. coli* pode ser exacerbada pelo uso inadequado de antibióticos na comunidade, levando ao surgimento de cepas resistentes que causam infecções recorrentes do trato urinário (Patel e Levitin, 2014).

A resistência antimicrobiana representa uma ameaça iminente à saúde global, exigindo uma resposta urgente e coordenada. Dessa forma, pesquisas científicas foram desenvolvidas de modo a viabilizar tratamentos alternativos, como a terapia fotodinâmica e agentes para desinfecção de superfícies por via de inativação fotodinâmica.

1.3 TRATAMENTOS: CONVENCIONAL E ALTERNATIVOS (INATIVAÇÃO FOTODINÂMICA)

Os antibióticos revolucionaram a medicina no século XX, reduzindo drasticamente a morbidade e a mortalidade por doenças infecciosas (Aminov, 2017). A descoberta da penicilina por Alexander Fleming em 1928 marcou o início da era dos antibióticos, com a produção em larga escala começando durante a Segunda Guerra Mundial (Bell, 2019). Desde então, várias classes de antibióticos foram desenvolvidas, visando diferentes componentes e processos bacterianos (Aminov, 2017). Esses medicamentos atuam inibindo a síntese de proteínas, DNA ou componentes da parede celular bacteriana, promovendo uma ampla eficácia contra patógenos, e melhoraram significativamente o tratamento de infecções, incluindo aquelas que afetam a vida íntima (Bell, 2019).

No entanto, o uso indiscriminado de antibióticos tem levado ao surgimento de resistência bacteriana, representando uma séria ameaça à saúde pública (Alves, 2021). As bactérias desenvolveram vários mecanismos de resistência, como alterar a entrada de medicamentos, degradar antibióticos ou modificar alvos de medicamentos (Alves, 2021). Para enfrentar esse desafio, os pesquisadores estão explorando novas abordagens, incluindo o uso de óleos essenciais, que se mostram promissores no combate a microrganismos resistentes com alta tolerabilidade e eficácia (Corrêa et al., 2020).

A resistência a antibióticos tornou-se uma preocupação crítica de saúde global, com *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* entre os patógenos mais problemáticos (Mancuso et al., 2021). *S. aureus*, particularmente as cepas resistentes à meticilina (MRSA), é uma das principais causas de infecções nosocomiais (infecções que não estão presentes ou incubadas no momento da admissão de um paciente em uma unidade de saúde, desenvolvendo-se após 48 horas ou mais da admissão) na América Latina (Sales e Silva, 2012).

O MRSA pode ser isolado de ambientes hospitalares e profissionais de saúde, destacando o risco de transmissão para pacientes hospitalizados (Ratti e Sousa, 2009). O uso generalizado e muitas vezes inadequado de antibióticos acelerou a disseminação de bactérias resistentes, com 25-50% das administrações de antibióticos em hospitais, consideradas irregulares (Carvalho et al., 2021).



Os mecanismos de resistência bacteriana incluem a modificação do antibiótico, impedindo a ação do antibiótico em seu alvo, alterando o local de ligação primário e produzindo alvos alternativos para contornar os efeitos do medicamento (Carvalho *et al.*, 2021). Essa multirresistência aumenta a morbidade, a mortalidade, o tempo de internação hospitalar e os custos de saúde, representando um desafio significativo para a saúde pública (Carvalho *et al.*, 2021).

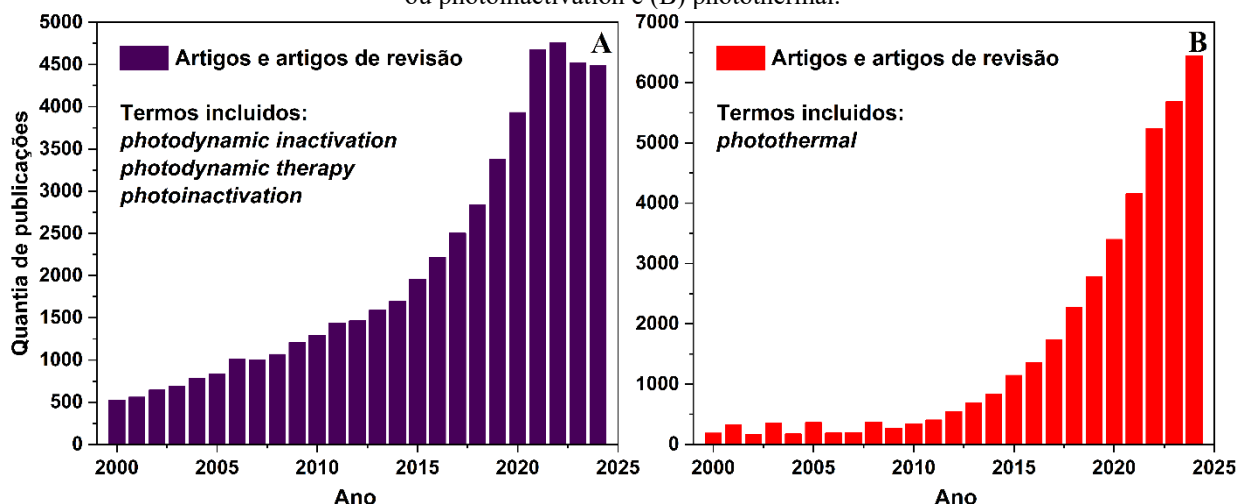
Para infecções por *S. aureus*, especialmente MRSA, a vancomicina continua sendo uma opção crucial de tratamento intravenoso, apesar das preocupações emergentes de resistência (Cruz *et al.*, 2021). Para enfrentar a crescente ameaça da resistência aos antibióticos, abordagens inovadoras como a terapia fágica (utilização médica de vírus que infetam exclusivamente bactérias) e a medicina evolutiva estão sendo exploradas (Moreira e Rinaldi Neto, 2024). À medida que a resistência aos antibióticos continua a evoluir, abordagens multidisciplinares e novas estratégias terapêuticas serão cruciais no combate a esse desafio de saúde global (Moreira e Rinaldi Neto, 2024).

A crise de resistência aos antibióticos impulsiona a busca por novas abordagens terapêuticas para combater infecções bacterianas (Moreira e Neto, 2024). A terapia fototérmica e a inativação fotodinâmica antimicrobiana (aIFD) emergem como uma alternativa promissora (a Figura 5 ilustra a quantidade de publicações sobre os assuntos desde 2000). A aIFD atua utilizando um fotossensibilizador (FS), luz e oxigênio molecular (O_2) para gerar Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) capazes de inativar microrganismos (Melo e Perussi, 2012a), já os processos fototérmicos envolvem a utilização de FS e luz para promover o aquecimento do FS e consequentemente aquecendo ao seu redor levando a danos celulares por hipertermia (Macneill *et al.*, 2013).

FSs de origem natural, como curcumina, clorina e riboflavina, têm demonstrado eficácia contra bactérias resistentes, com excelente biocompatibilidade (Vilaça *et al.*, 2023a). A nanotecnologia desempenha um papel crucial, oferecendo sistemas de entrega que melhoram a eficiência terapêutica ao aumentar a internalização dos FSs nas células microbianas (Garapati *et al.*, 2023). Essas abordagens inovadoras apresentam vantagens significativas, como a ausência de desenvolvimento de resistência bacteriana, tornando-as ferramentas valiosas no combate às infecções resistentes aos antibióticos convencionais (Melo e Perussi, 2012a; Vilaça *et al.*, 2023a).



Figura 5: Ilustração da quantidade de publicações com os termos: (A) photodynamic inactivation ou, photodynamic therapy ou photoinactivation e (B) photothermal.



Fonte: Web of science, 2024.

A Figura 5A mostra que, desde o ano 2000, o número de publicações contendo os termos *photodynamic inactivation* (inativação fotodinâmica), *photodynamic therapy* (terapia fotodinâmica) ou *photoinactivation* (fotoinativação) apresentou um aumento significativo (Web of science, 2024). O crescimento na Figura 5A atingiu um ápice em 2021 e 2022, anos marcados pela pandemia de COVID-19, chegando a ser quase dez vezes maior em comparação ao número de publicações de 2000. Já a Figura 5B evidencia que as pesquisas envolvendo o termo photothermal (fototérmico) exibem um crescimento exponencial desde 2010, ultrapassando, desde 2022, as publicações relacionadas aos outros três temas mencionados (Web of science, 2024). Esses dados sugerem que os processos fotodinâmicos continuam desempenhando um papel de destaque nas tecnologias emergentes, enquanto os processos fototérmicos, ainda em fase de expansão, têm potencial para alcançar um impacto igualmente significativo.

A terapia fotodinâmica (TFD) emerge como uma solução inovadora e promissora (Lima et al., 2022; Caires et al., 2023; Gholami et al., 2023). A TFD baseia-se na interação entre luz, um FS não-tóxico e oxigênio, resultando em EROs capazes de inviabilizar célula. Este processo ocorre por meio de dois mecanismos principais. O primeiro, conhecido como Mecanismo Tipo I, envolve a transferência de elétrons do FS excitado para o O₂, gerando íons-radicais que oxidam os componentes celulares do alvo, culminando em necrose. Simplificando, o Tipo I provoca danos diretos às células (Ribeiro e Jorge, 2005).

O segundo mecanismo da TFD, Tipo II, utiliza a transferência de energia do FS excitado para o O₂, produzindo oxigênio singleto (¹O₂), altamente citotóxico, que induz a apoptose, um processo de morte celular programada que evita danos aos tecidos adjacentes. Em termos simples, o Tipo II utiliza uma forma especial de oxigênio para eliminar as células controladamente, sem causar lesões aos tecidos circundantes (Ribeiro e Jorge, 2005).



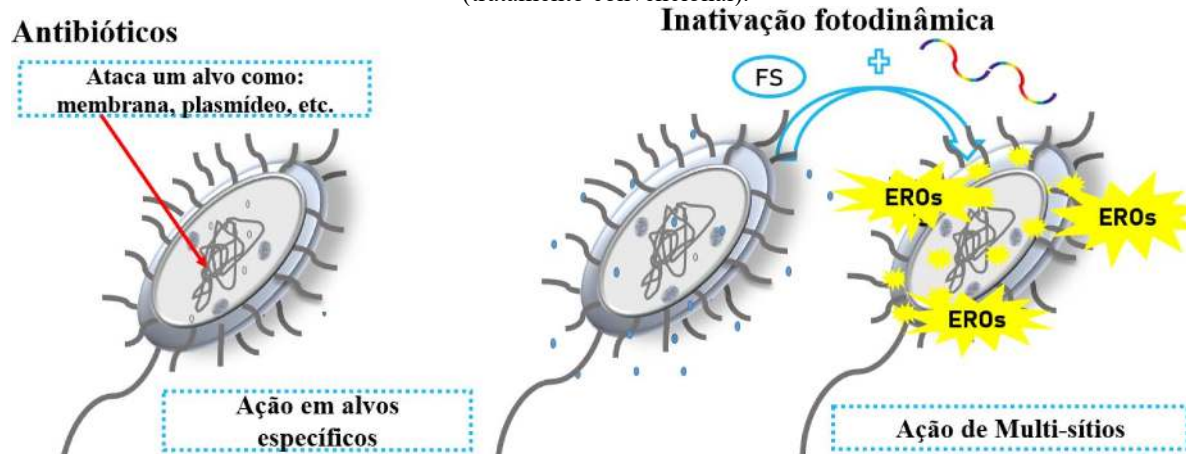
A TFD tem sido amplamente aplicada em países desenvolvidos, e suas aplicações clínicas são diversas. Inicialmente desenvolvida para tratar diferentes tipos de câncer, como o câncer de pulmão e esôfago, a TFD também se mostrou eficaz em condições como psoríase, degeneração macular da retina, doenças autoimunes, e infecções bacterianas resistentes a antibióticos. Especificamente, a TFD é usada com sucesso no tratamento de carcinomas basocelulares, uma forma comum de câncer de pele, e na remoção de verrugas na laringe, demonstrando sua versatilidade e eficácia (Felício et al., 2008; Setlik e Silva, 2016; Silva et al., 2021).

Os FSs desempenham um papel central na TFD. A primeira geração de FSs, derivada de porfirinas, embora eficaz no tratamento de tumores, apresentava limitações significativas, como a fotossensibilização prolongada da pele e a baixa penetração nos tecidos (O'Connor, Gallagher e Byrne, 2009). Esses desafios impulsionaram o desenvolvimento da segunda geração de FSs, que incluem compostos como clorinas e ftalocianinas (Mironov, 1996; Senge e Brandt, 2011; Bissani et al., 2024). Estes novos FSs possuem maior absorção em comprimentos de onda que permitem uma penetração mais profunda nos tecidos, menor toxicidade na ausência de luz e maior especificidade na acumulação nos tecidos-alvo. Além disso, a introdução de nanopartículas (NPs) como FSs representa um salto tecnológico significativo na TFD (Usacheva et al., 2016; Wang et al., 2018; Rani et al., 2020; Caires et al., 2023). As NPs permitem uma maior penetração celular e melhoram a especificidade tumoral, superando as limitações dos FSs convencionais.

A aIFD tem ganhado destaque devido à sua eficácia contra uma ampla gama de bactérias, incluindo cepas multirresistentes (Oliveira et al., 2023b). O mecanismo de ação da aIFD, que envolve múltiplos sítios nos microrganismos, torna improvável o desenvolvimento de resistência, uma vantagem significativa em comparação com os antibióticos tradicionais (Figura 6 demonstra os locais da ação do antibiótico frente a ação multissítios de FSs) (Perussi, 2007; Melo e Perussi, 2012). Estudos demonstram a eficácia da aIFD em cepas como *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, entre outras, mostrando inativações completas em muitos casos (Kashef et al., 2017; Caires et al., 2020; Sheng et al., 2022).



Figura 6: Ação multissítios da inativação fotodinâmica (tratamento alternativo) frente à ação localizada dos antibióticos (tratamento convencional).



Fonte: Lima, 2023.

Contudo, a aplicação da aIFD enfrenta desafios, principalmente relacionados à permeabilização do FS nas membranas celulares das bactérias. A estrutura das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, que possuem diferenças significativas na composição de suas membranas, pode dificultar a entrada do FS (Beveridge, 2001). Para superar essa barreira, pesquisadores têm utilizado compostos auxiliares como Dimetilsulfóxido (DMSO) até 5% e desenvolvido novas classes de FSs baseados em NPs, que possuem elevada capacidade de penetração celular devido às suas dimensões reduzidas (Wang et al., 2010; Li et al., 2013; Farjami et al., 2021).

Em um mundo cada vez mais ameaçado pela resistência antimicrobiana, a TFD e a aIFD não apenas oferecem uma nova esperança, mas também pavimentam o caminho para uma revolução terapêutica indispensável na luta contra microrganismos resistentes. Com os avanços contínuos em nanotecnologia e o desenvolvimento de novos fotossensibilizadores, a TFD e a aIFD têm o potencial de se tornarem pilares fundamentais no combate a infecções, redefinindo o futuro da medicina, onde o desenvolvimento e descobertas de moléculas para uso em aIFD será crucial.

1.4 MOLÉCULAS DE INTERESSE EM AIFD

Embora a TFD tenha raízes que datam de mais de um século, sua aplicação para a inativação de bactérias só foi reconhecida em 1960 com o uso do azul de toluidina como FS (Tappeiner, 1903; Ackroyd et al., 2001; Allison e Sibata, 2010). Desde então, o campo da TFD tem evoluído significativamente, com a descoberta e desenvolvimento de uma variedade de moléculas naturais e sintéticas para a aIFD de diversas cepas bacterianas (Vilaça et al., 2023).

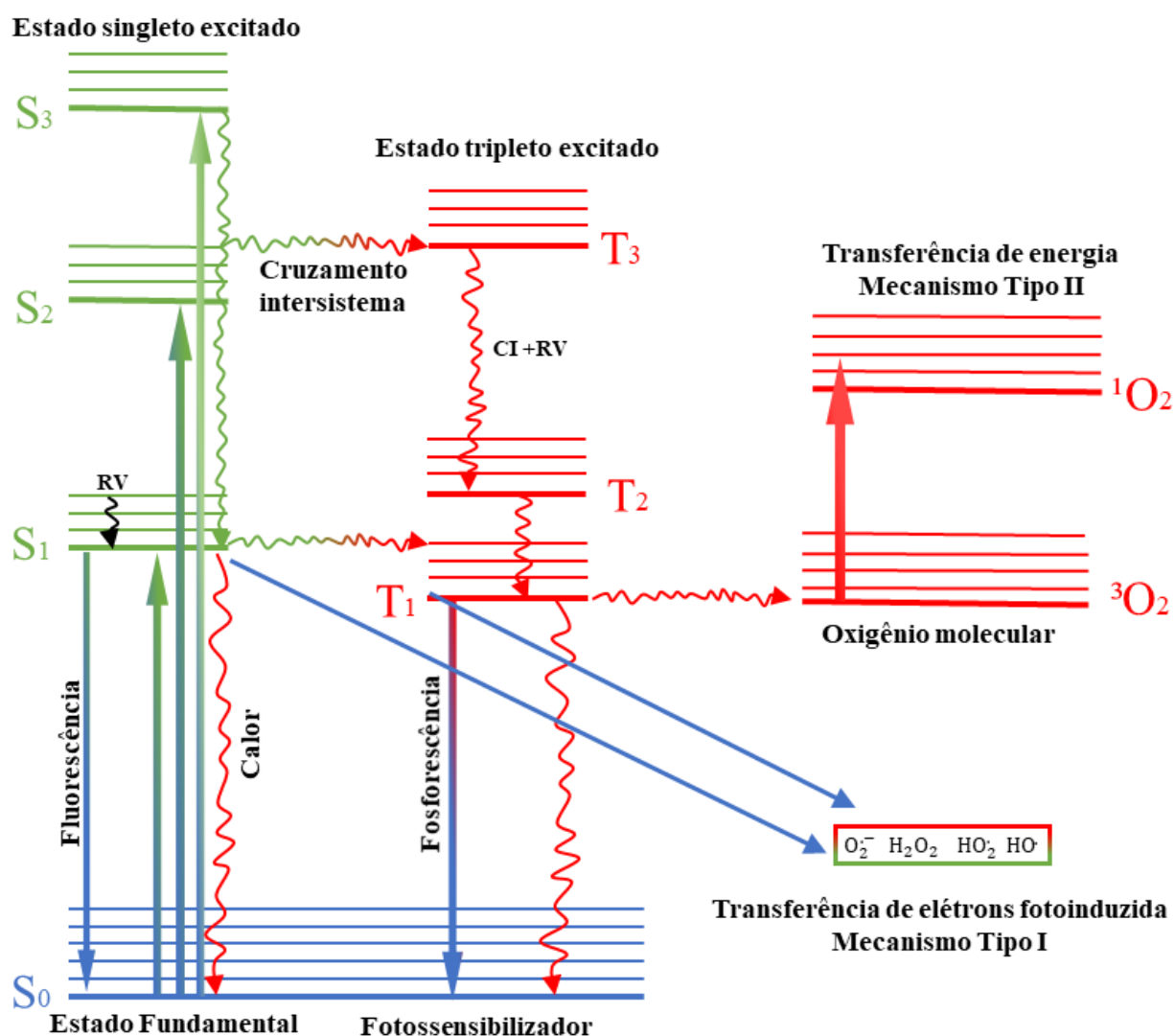
De maneira geral, os fotossensibilizadores usados em aIFD são classificados em dois grandes grupos: porfirinóides e não porfirinóides (Ormond e Freeman, 2013). Os porfirinóides, que incluem compostos como a porfirina, clorina, feoforbida e ftalocianina, são amplamente utilizados devido à sua excelente capacidade de absorver luz e gerar EROs. Estes compostos têm demonstrado eficácia em



várias aplicações clínicas devido à sua estabilidade e a capacidade de gerar danos significativos às células-alvo (Ormond e Freeman, 2013). Em contraste, os fotossensibilizadores não porfirinóides, como a eosina, o azul de toluidina, a hipericina e a curcumina, são valorizados por suas propriedades únicas, como menor toxicidade para tecidos saudáveis e eficácia em diferentes tipos de tratamento (Ormond e Freeman, 2013).

O Diagrama de Jablonski, ilustrado na Figura 7, fornece uma visão clara das transições energéticas que ocorrem quando um FS absorve luz. Este diagrama mostra como os elétrons no FS são excitados para um estado energético elevado, conhecido como estado singleto excitado. A partir deste estado, várias transições podem ocorrer, incluindo fluorescência, conversão interna (CI) e cruzamento de intersistema (Soini et al., 1987; Berezin e Achilefu, 2010; Cugnoasca e Santos, 2021). O cruzamento intersistema pode levar à transferência de elétrons para o oxigênio molecular, gerando EROs, um mecanismo conhecido como Tipo I.

Figura 7: Diagrama de Jablonski simplificado. RV – Relaxação vibracional, CI – conversão interna, 1O_2 – oxigênio singleto (estado excitado) e 3O_2 – oxigênio tripleto (estado fundamental do oxigênio molecular).



Fonte: Autor.



O mecanismo Tipo I envolve a formação de radicais livres que causam oxidação direta dos componentes celulares, enquanto o mecanismo Tipo II se baseia na produção de $^1\text{O}_2$, uma forma altamente reativa de oxigênio que induz danos significativos às estruturas celulares das bactérias. Ambos os mecanismos são eficazes na inativação de bactérias e contribuem para a eficácia da TFD sem gerar resistência antimicrobiana.

A nanotecnologia desempenha um papel crucial na melhoria da eficácia da aIFD. NPs, como as de ouro e óxido de grafeno, têm mostrado grande potencial em melhorar a penetração dos FSs nas células bacterianas, superando barreiras como a espessa parede celular das bactérias Gram-positivas e a dupla camada lipídica das Gram-negativas. Essas NPs podem ser projetadas para aprimorar a entrega e a eficácia dos FSs. Elas podem encapsular FSs hidrofóbicos, tornando-os solúveis, ou transportar antibióticos conjugados a FSs, combinando a ação antibiótica com os efeitos da aIFD, representando um avanço significativo (Blecher et al., 2011; Zong et al., 2022).

Portanto, o contínuo avanço na nanotecnologia e o desenvolvimento de novos fotossensibilizadores são essenciais para expandir as aplicações clínicas da TFD e aIFD. Esses avanços prometem melhorar significativamente o combate a infecções bacterianas e superar a resistência antimicrobiana, oferecendo novas esperanças para tratamentos mais eficazes e menos suscetíveis a resistência. Toda via, o FS precisa receber irradiação para atingir os estados excitados e dar início aos processos de geração de EROs e $^1\text{O}_2$, assim a fonte de luz se torna um fator crucial na TFD e aIFD.

1.5 FONTES DE LUZ

Na aIFD, a escolha da fonte de luz é um fator crítico que pode determinar o sucesso do tratamento, influenciando diretamente a eficácia e a segurança da terapia (Henderson e Dougherty, 1992). As fontes de luz utilizadas na TFD podem ser agrupadas em três grandes categorias: lâmpadas de amplo espectro (halógenas), diodos emissores de luz (do inglês: *light emitting diodes* – LEDs) e lasers (acrônimo inglês para *light amplification by stimulated emission of radiation*, que em português significa: amplificação de luz por emissão estimulada de radiação). Cada uma dessas fontes possui características distintas que afetam seu desempenho e aplicabilidade clínica.

As lâmpadas halógenas foram pioneiras na TFD, oferecendo uma faixa ampla de comprimentos de onda (Dougherty *et al.*, 1998). Essas lâmpadas emitem luz policromática e não coerente, cobrindo uma grande variedade de espectros de emissão. Apesar de seu espectro abrangente, o uso das lâmpadas halógenas é limitado pela significativa geração de calor, o que pode provocar desconforto e possíveis danos aos tecidos saudáveis. Esse fator térmico torna a aplicação das lâmpadas halógenas menos ideal em áreas sensíveis e em tratamentos que exigem alta precisão.

Os LEDs têm se destacado como uma escolha preferencial na TFD devido à sua capacidade de emitir luz em comprimentos de onda específicos e com alta intensidade. Eles são conhecidos por sua



eficiência energética e baixa geração de calor, proporcionando um tratamento mais confortável e seguro para os pacientes. Os LEDs permitem a seleção precisa do comprimento de onda necessário para ativar diversos fotossensibilizadores, tornando a terapia mais direcionada e eficaz. Na prática clínica, os LEDs são frequentemente utilizados em tratamentos dermatológicos, como para acne (doença das glândulas sebáceas) e psoríase (doença autoimune caracterizada por manchas na pele avermelhadas, pruriginosas e escamosas), devido à sua capacidade de minimizar efeitos adversos enquanto oferecem bons resultados terapêuticos (Barolet, 2008; Issa e Manela-Azulay, 2010; Barreto, 2023).

Os lasers são altamente valorizados na TFD pela sua precisão e controle na emissão de luz. Eles produzem luz coerente e unidimensional em um comprimento de onda específico, permitindo a focalização em áreas muito pequenas e oferecendo a maior precisão no tratamento. Os lasers são especialmente úteis para terapias direcionadas, como em tumores cutâneos e tratamentos de tecidos profundos. O desenvolvimento de lasers de diodo com maior precisão e potência está expandindo suas aplicações clínicas, melhorando a eficácia e possibilitando tratamentos mais personalizados (Catorze, 2009; Oliveira e Machado, 2023).

Os avanços tecnológicos têm proporcionado melhorias significativas em cada tipo de fonte de luz utilizada na TFD. A introdução de LEDs de múltiplas cores e lasers com maior precisão amplia as possibilidades de personalização dos tratamentos. Essas inovações não apenas melhoram a eficácia dos tratamentos, mas também ajudam a reduzir os efeitos colaterais e a melhorar a experiência do paciente (Lima *et al.*, 2021).

A escolha adequada da fonte de luz na TFD é crucial para maximizar os resultados terapêuticos e minimizar os efeitos adversos. Com os avanços contínuos na tecnologia de fontes de luz, a TFD está se tornando cada vez mais eficiente e adaptada às necessidades específicas dos pacientes, prometendo revolucionar ainda mais a eficácia desta abordagem inovadora.

Uma classe de FS capaz de amplos espectros de absorção, capacidade de emissão no infravermelho além de terem suas janelas ópticas ajustáveis por controles nos processos de fabricação são as NPs semicondutoras que se mostram promissoras na TFD.

1.6 MECANISMO DE AÇÃO DE NANOPARTÍCULAS SEMICONDUTORAS

As NPs semicondutoras emergem como ferramentas inovadoras na TFD, oferecendo estratégias avançadas para a inativação de microrganismos. Suas propriedades fotodinâmicas únicas são fundamentais para o desenvolvimento de novas abordagens no combate a infecções e na superação da resistência antimicrobiana.

Semicondutores são materiais cujas bandas de condução e de valência são separadas por uma lacuna de energia, conhecida como "gap" (Duboz, 1999). Esse gap de energia é crucial para determinar



a faixa de comprimento de onda da luz que o semicondutor pode absorver (Duboz, 1999; Chen et al., 2013; Zanatta, 2019). Semicondutores com um gap maior necessitam de luz com maior energia, como a luz ultravioleta, para serem ativados, enquanto aqueles com um gap menor podem ser excitados por luz visível (Duboz, 1999). A eficiência na geração de EROs e, conseqüentemente, na inativação bacteriana é diretamente influenciada por essa característica.

Quando a luz com energia suficiente incide sobre um semicondutor, ela excita os elétrons da banda de valência para a banda de condução, criando pares de elétrons livres e lacunas de elétrons. Esses elétrons livres podem interagir com o oxigênio molecular presente no meio, gerando radicais reativos como o ânion superóxido (O_2^-) e o radical hidroxila ($\cdot OH$). Esses radicais são extremamente reativos e podem causar danos significativos às membranas celulares, proteínas e ácidos nucleicos das bactérias, resultando em sua destruição. Abaixo temos alguns semicondutores e suas aplicações:

- **Nitrato de Carbono Grafítico (g-C₃N₄):** Este semicondutor é notável por seu gap de 2,4 eV, permitindo o uso de luz visível para a geração de EROs. Estudos demonstraram que o g-C₃N₄ é eficaz na inativação de *E. coli* quando exposto à luz de 465 nm por 60 minutos, destacando sua capacidade para aplicações práticas em TFD. Alguns semicondutores empregados para aIFD são:
- **Dióxido de Titânio (TiO₂) dopado com Cobre:** Conhecido por sua estabilidade e eficácia em ambientes aquosos, o TiO₂ dopado com cobre utiliza luz visível para promover fotorredução e foto-oxidação. Esse material tem mostrado eficácia na geração de EROs, ampliando seu potencial para aplicações em inativação bacteriana (Rychtowski *et al.*, 2022).
- **Nanopartículas de Polímeros Conjugados (PCs):** Estas NPs semicondutoras proporcionam a indução simultânea de dois efeitos sob iluminação: a geração de EROs (efeito fotodinâmico) e a geração de calor (efeito fototérmico) (Rychtowski *et al.*, 2022). A combinação desses efeitos pode ser aplicada para fotoinativar bactérias de forma sinérgica, aumentando a eficácia das terapias.

A nanotecnologia baseada em NPs semicondutoras está na vanguarda da inovação em TFD. A exploração das propriedades fotodinâmicas dessas NPs não só aprimora as técnicas de inativação de microrganismos, mas também abre novas possibilidades para enfrentar a resistência antimicrobiana e expandir as aplicações clínicas. O avanço contínuo nesta área é essencial para o desenvolvimento de novas soluções terapêuticas e para a ampliação das opções de tratamento.

Existe ainda uma classe de semicondutores que possuem características ópticas interessantes, que vão desde absorção e emissão intrínsecas até a adaptação das janelas ópticas com o controle de seu band gap. Os PCs ficam na vanguarda das tecnologias opticoelétricas.



1.7 POLÍMEROS CONJUGADOS

Os PCs são uma classe de materiais que se destacam por suas propriedades ópticas e elétricas excepcionais, posicionando-os na vanguarda da inovação em diversos setores. A estrutura π -conjugada, caracterizada por ligações alternadas simples (σ) e duplas (π) entre os átomos de carbono, confere aos PCs uma ampla gama de aplicações tecnológicas e biológicas (Moliton e Hiorns, 2004; Tuncel, 2019). Essa conjugação permite uma mobilidade eletrônica significativa e influência diretamente suas propriedades ópticas e elétricas.

A estrutura π -conjugada dos PCs é formada por orbitais π sobrepostos ao longo de uma cadeia de átomos de carbono, resultando em um sistema de ligações duplas alternadas. Essa estrutura permite a delocalização dos elétrons, afetando as propriedades ópticas e elétricas do polímero (Moliton e Hiorns, 2004; Tuncel, 2019). A capacidade dos PCs de absorver e emitir luz é diretamente relacionada ao band gap (gap de energia) entre a banda de valência e a banda de condução (Tuncel, 2019). Semicondutores com um band gap apropriado podem absorver luz visível e emitir luz quando os elétrons retornam ao seu estado fundamental.

Nos campos biológico e de saúde, os PCs solúveis em água são particularmente valiosos devido à sua capacidade de interagir com ambientes biológicos (Campbell *et al.*, 1994; Kahya, 2019; Volarić *et al.*, 2021). Estes PCs frequentemente possuem cadeias laterais carregadas, como grupos catiônicos de amônio quaternário, grupos carboxila aniônicos, grupos sulfônicos e grupos fosfato (Kahya, 2019; Volarić *et al.*, 2021). Suas aplicações incluem:

- **Diagnóstico e Imagem Fluorescente:** Facilitam visualizar tecidos e células com alta precisão, destacando áreas de interesse para análise (Yukawa e Baba, 2017; Peris-Fajarnés *et al.*, 2018).
- **Monitoramento e Entrega de Drogas:** Utilizados para rastreamento e liberação controlada de fármacos, permitindo uma abordagem mais eficaz na administração de medicamentos (Laviña *et al.*, 2004; Neves *et al.*, 2022).
- **Terapias Antimicrobianas e Anticâncer:** Aplicados na luta contra infecções e câncer, aproveitando suas propriedades bioativas e fotodinâmicas (Sharma *et al.*, 2012).

A produção de NPs de polímeros conjugados (PC-NPs) que podem ser dispersas em água representa uma inovação significativa (Kang *et al.*, 2022). Estas NPs podem ser funcionalizadas para melhorar a entrega de fármacos ou criar agentes de imagem fluorescentes altamente eficientes (Feng *et al.*, 2013). Assim, a capacidade de dispersão em água amplia suas aplicações em ciências da vida.

Sendo a baixa solubilidade ou completa hidrofobicidade dos PC sua principal barreira para aplicações biológicas, pois desde infecções de superfícies a tratamentos de inativação fotodinâmicas envolveriam meios aquosos para serem ministrados, dessa forma pesquisadores desenvolveram técnicas para tornar os PC solúveis em água, uma técnica se destaca, a fabricação de NPs de PC



apresenta variedades de polímeros empregados e possibilita seleção da janela óptica durante o processo de fabricação das NPs (Oliveira et al., 2018; Rabadan, 2020a).

1.8 NANOPARTÍCULAS DE POLÍMEROS CONJUGADOS

Os PCs são notáveis por suas propriedades ópticas e elétricas excepcionais, o que os torna valiosos em diversas aplicações, incluindo optoeletrônica e biomedicina (Silva, 2010; Soliman et al., 2020). No entanto, a limitação de solubilidade em água tem sido um desafio significativo para sua aplicação em sistemas aquosos, como fototerapia, entrega de fármacos, biossensores (*e.g.* diagnósticos médicos e veterinários), descontaminação ambiental (*e.g.* tratamento de águas), cosméticos e cuidados pessoais (Yadav *et al.*, 2022). Para superar essa limitação, pesquisadores têm se empenhado no desenvolvimento de NPs de polímeros conjugados (PC-NPs), que visam aproveitar as propriedades dos PCs enquanto resolvem problemas de solubilidade (Yadav *et al.*, 2022).

A síntese de PC-NPs pode ser realizada por diversos métodos, entre os quais se destacam a polimerização por nanoemulsão e a nanoprecipitação (Puig, 1999; Pulingam *et al.*, 2022). A polimerização por nanoemulsão envolve uma solução coloidal com a dissolução do PC em um solvente orgânico imiscível em água, sendo então misturado com uma solução aquosa contendo surfactantes. A homogeneização das NPs é obtida por forças de cisalhamento e agitação até a evaporação do solvente. Essa técnica é amplamente utilizada por sua capacidade de produzir NPs com morfologias bem definidas, mas pode exigir um controle rigoroso dos solventes e surfactantes para evitar aglomeração ou formação de partículas não desejadas (Rabadan, 2020a; Neves et al., 2022; Pulingam et al., 2022; Lima, 2023).

A nanoprecipitação, por sua vez, usa uma matriz de molécula anfifílica ou copolímero. Nessa técnica, prepara-se uma solução de PC em um solvente orgânico e uma solução contendo a molécula anfifílica e água. A solução de PC é adicionada à solução aquosa, muitas vezes por gotejamento, e a mistura é agitada vigorosamente. Embora seja um método mais simples e econômico, a eficácia da nanoprecipitação depende da escolha precisa do copolímero para alcançar o tamanho e a forma desejados das NPs. A principal diferença entre as duas técnicas ocorre, já que a nanoemulsão se trata de uma dispersão de duas fases (líquido-líquido), enquanto a nanoprecipitação é um processo de formação de NPs a partir de materiais solúveis (Li et al., 2013; Rabadan, 2020a; Neves et al., 2022; Pulingam et al., 2022; Lima, 2023).

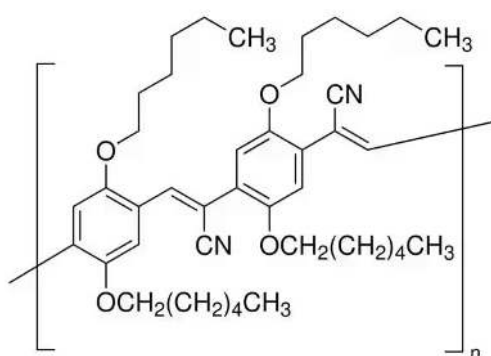
Entre os estudos significativos, destaca-se o trabalho de Zhang *et al.* (2020), que sintetizou NPs denominadas DMCNPs a partir dos polímeros dicetopirrolpirrol-tienotiofeno (PDPPTT) e o fotossensibilizador poli[2-metoxi-5-((2-etilhexil)oxi)-p-fenilenevinileno] (MEH-PPV) na presença de poli(estireno-co-anidrido maleico). Essas DMCNPs não apenas geram EROs e liberam calor durante a irradiação, mas também mostraram eficácia na inativação de cepas de *E. coli* resistente a ampicilina



em diferentes condições de irradiação (Zhang et al., 2020). A combinação dos efeitos fotodinâmicos e fototérmicos oferece uma abordagem promissora para combater infecções bacterianas resistentes.

Outro relevante exemplo é o trabalho de Facchinatto et al. (2022) que demonstrou que nanocompósitos de quitosana/Cn-PPV exibem atividades antimicrobianas e fotoantimicrobianas significativas, gerando EROs sob iluminação azul, contribuindo para um efeito fotobactericida notável. A combinação de quitosana com o Cn-PPV (cujo monômero é representado na Figura 8), juntamente com uma distribuição de tamanho nanométrico e uma superfície carregada positivamente, resulta em um desempenho bactericida elevado, especialmente contra *E. coli* e *S. aureus*.

Figura 8: Representação do monômero do polímero conjugado Cn-PPV.



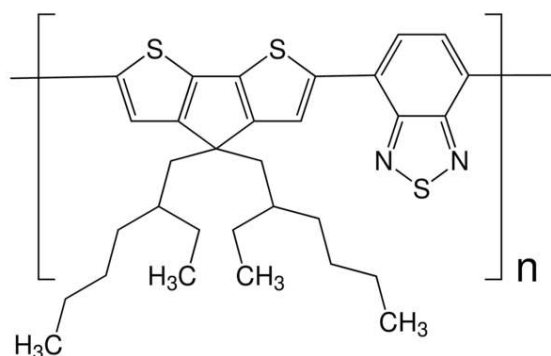
Fonte: Autor.

Outra pesquisa, realizada por Kemal *et al.* (2017), envolveu Cn-PPV-NPs com a matriz copolímero poly(ethylene glycol)methylether-block-poly(lactide-co-glycolide) (PEG-PLGA), com dimensões na ordem de 100 nm, que apresentaram fluorescência no infravermelho próximo (emissão de um pico estreito em 700 nm), dessa forma possibilitando a obtenção de imagens no infravermelho próximo (janela óptica com maior penetração na pele humana) (Kemal et al., 2017; Caires et al., 2023).

Outro protótipo relevante é o polímero conjugado poly[2,6-(4,4-bis-(2-ethylhexyl)-4H-cyclopenta[2,1-b;3,4-b']-dithiophene)-alt-4,7-(2,1,3-benzothiadiazole)] (PCPDTBT – monômero representado na Figura 9). Embora o PCPDTBT apresente uma ampla janela de absorção na região visível da luz, sua solubilidade em água é limitada. Para contornar essa limitação, pesquisadores desenvolveram NPs de PCPDTBT (PCPDTBT-NPs).



Figura 9: Representação do monômero do polímero conjugado PCPDTBT.



Fonte: Autor.

As PCPDTBT-NPs foram sintetizadas utilizando matrizes como o 1,2-dioctanoyl-sn-glicero-3-phosphocholine (DOPC) e 1,2-dioctanoyl-sn-glicero-3-phosphoethanolamine (DOPE). Essas NPs demonstraram não apenas um efeito fototérmico significativo em células HeLa, mas também potencial como agentes fluorescentes para o monitoramento celular, sendo classificadas como materiais teranósticos (Du *et al.*, 2021).

As PCPDTBT-NPs foram estudadas quanto à capacidade de regeneração celular em células *Hydra vulgaris* e na alteração da dinâmica de proliferação de queranócitos. Os resultados mostraram que essas NPs têm uma capacidade regenerativa significativa tanto na ausência quanto na presença de irradiação com luz branca (densidade de energia de $0,124 \text{ mW mm}^{-2}$ por 24 horas) (Onorato *et al.*, 2022). No entanto, também foram observados estresses oxidativos nas células e uma redução na migração dos queranócitos sob irradiação.

Um estudo realizado na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) demonstrou que as NPs de PCPDTBT foram obtidas por meio de nanoprecipitação. O PCPDTBT foi dissolvido em tetrahydrofurano (THF) a uma concentração de $0,23 \text{ mg mL}^{-1}$, e a solução resultante foi adicionada lentamente a uma solução aquosa de polissorbato 20 (*Tween 20*) com concentração de 1,2% (Caires *et al.*, 2024).

O estudo de Caires *et al.* (2024) realizou testes *in vitro*, utilizando PCPDTBT-NPs na concentração de $17 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, com uma dose de radiação de 250 J cm^{-2} . Observou-se uma redução de 97% em UFC mL^{-1} para a cepa de *E. coli*, enquanto a cepa resistente *E. coli mcr-1* (gene responsável por modificar a estrutura da membrana bacteriana, tornando-a menos suscetível à ação do antibiótico colistina) apresentou uma redução de 83%. As NPs produzidas por Caires *et al.* (2024) mostraram um diâmetro hidrodinâmico médio de $185 \pm 77 \text{ nm}$, refletindo seu tamanho em solução. As imagens de MEV revelaram um diâmetro médio de $122 \pm 45 \text{ nm}$, evidenciando suas dimensões geométricas e a regularidade de suas formas esféricas. Além disso, as NPs demonstraram estabilidade tanto sob luz quanto em condições de armazenamento. (Caires *et al.*, 2024).



Os estudos de Du *et al.* (2021), Onorato *et al.* (2022) e de Caires *et al.* (2024) sugerem que as NPs de PCPDTBT são fotossensibilizadores promissores para a inativação fotodinâmica e fototérmica de bactérias multirresistentes. Essa abordagem representa um avanço significativo no combate a infecções bacterianas resistentes a múltiplos medicamentos, oferecendo uma alternativa inovadora às terapias convencionais. As perspectivas futuras incluem o desenvolvimento de tratamentos mais eficazes e seguros, ampliando o uso de NPs em aplicações biomédicas e em terapias fotodinâmicas.

As NPs de PCs representam um avanço significativo na aplicação de PCs em sistemas aquosos. Sua capacidade de absorver e emitir luz, resultando em propriedades fotônicas e teranósticas, pode transformar tratamentos, diagnósticos, desinfecções de ambientes e superfícies, além de possibilitar mitigar impactos ambientais. O contínuo desenvolvimento e investigação dessas NPs são cruciais para maximizar seu potencial terapêutico e expandir suas aplicações clínicas.

Assim, o presente trabalho buscou combinar as propriedades complementares das NPs dos polímeros conjugados Cn-PPV e PCPDTBT em uma única e nova estrutura nanoencapsulada, denominada Cn-TBT-NPs. Essa abordagem permitiu explorar os potenciais desses materiais na aplicação de fotoinativação bacteriana, integrando suas características em um sistema otimizado. Para alcançar esse objetivo, foram definidos os seguintes propósitos gerais.

1.9 OBJETIVO GERAL

Formar e caracterizar micelas, NPs híbridas combinando os polímeros conjugados Cn-PPV e PCPDTBT, com foco na aplicação de fotoinativação de bactérias sob irradiação na faixa do visível com sistema de LED RGB via inativação fotodinâmica e sob a irradiação infravermelha (806 nm) por meio da inativação fototérmica.

1.10 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- **Gerar NPs:** Gerar micelas de PCPDTBT e Cn-PPV resultando em Cn-TBT, e com o método de nanoprecipitação, obter novas estruturas nanoparticuladas, denominadas Cn-TBT-NPs.
- **Caracterização Óptica:** Analisar as propriedades ópticas das NPs por meio de espectroscopia de absorção UV-visível, fluorescência e tempo de vida fluorescente.
- **Determinação do tamanho e estabilidade:** Medir o diâmetro hidrodinâmico das NPs usando espectroscopia de espalhamento dinâmico de luz (EDL) e avaliar a estabilidade das NPs através da medição do potencial Zeta.
- **Obtenção da morfologia das NPs:** Observar as NPs utilizando técnicas de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).



- **Potencial fotodinâmico:** Determinar a capacidade fotodinâmica das NPs através da medição da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e da produção de oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) usando as respectivas sondas fluores DPBF e DHE e espectroscopia de absorção.
- **Capacidade fotoinativadora:** Avaliar a eficácia das NPs como agentes fotoinativadores das bactérias *S. aureus* e *E. coli*, investigando seus efeitos fotodinâmicos sob irradiação com luz branca.
- **Potencial fototérmico:** Avaliar o potencial fototérmico das NPs ao determinar as curvas de aquecimento das NPs sob irradiação com laser de 806 nm.
- **Capacidade termoinativante:** Avaliar a eficácia das NPs como agentes em inativações fototérmica das bactérias *S. aureus* e *E. coli*, investigando seus efeitos termodinâmicos por irradiação com laser de 806 nm.
- **Avaliação de alterações morfológicas nas bactérias inativadas:** Investigar os efeitos morfológicos da fotoinativação e termoinativação nas bactérias utilizando MEV.

2 METODOLOGIA

2.1 PREPARO DAS NANOPARTÍCULAS

A síntese das NPs de polímeros conjugados foi realizada utilizando o método de nanoprecipitação, ilustrado na Figura 10. Este método é baseado na preparação de duas soluções separadas: uma orgânica e uma aquosa. A solução orgânica é gotejada lentamente na solução aquosa sob agitação constante, promovendo a formação de NPs (Lima, 2023; Caires et al., 2024).

Duas soluções de estoque são preparadas em tetraidrofurano (THF, IMPEX). Uma contendo 8,9 mg de PCPDTBT (Sigma Aldrich) (concentração final de $890 \mu\text{g mL}^{-1}$) e uma segunda com 4,9 mg de Cn-PPV (Sigma Aldrich) (concentração final de $490 \mu\text{g mL}^{-1}$). Ambas as soluções de estoque foram armazenadas em freezer a cerca $-12 \text{ }^\circ\text{C}$ por até 30 dias.

Já as soluções-trabalho foram preparadas a partir da diluição das soluções estoques. Cada solução foi diluída em THF a fim de obter as concentrações finais de $400 \mu\text{g mL}^{-1}$ em 2 mL. Dessa forma, foram preparadas três soluções orgânicas de trabalho:

- Solução de PCPDTBT a $400 \mu\text{g mL}^{-1}$;
- Solução de Cn-PPV a $400 \mu\text{g mL}^{-1}$;
- Solução combinada de PCPDTBT e Cn-PPV, com concentrações de $200 \mu\text{g mL}^{-1}$ para cada polímero, totalizando 2 mL, intitulada Cn-TBT com concentração final de $400 \mu\text{g mL}^{-1}$.

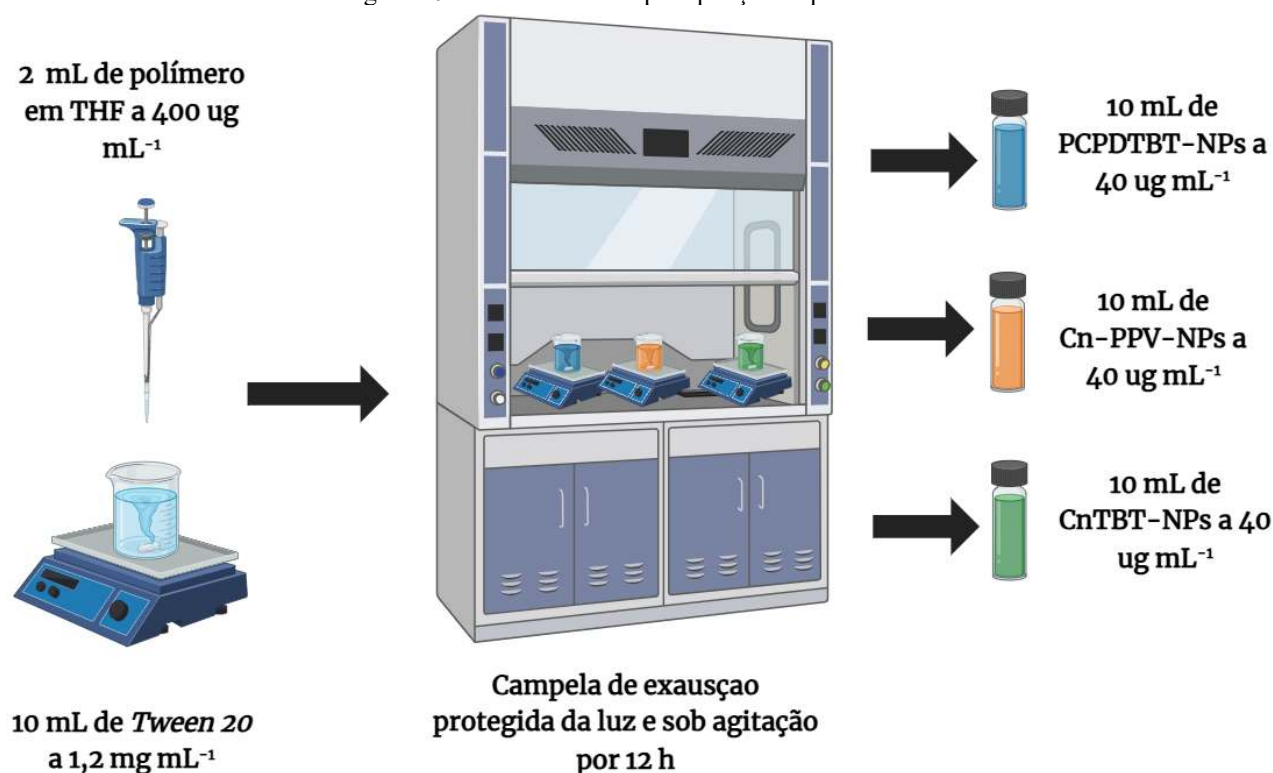
Cada uma dessas soluções orgânicas foi gotejada separadamente em soluções aquosas, assim três soluções aquosas foram preparadas da seguinte forma: 1,2 mL de uma solução aquosa de Polissorbato 20 (*Tween 20*, Quimesp Química) a 10 mg mL^{-1} , que foi diluído com 8,8 mL de água



destilada, resultando em um volume total de 10 mL com concentração final de $1,2 \text{ mg mL}^{-1}$. Estas soluções aquosas foram expostas sob agitação a 700 rpm por 2 min antes de receberem as soluções orgânicas.

Para o gotejamento de cada solução orgânica a 400 mg mL^{-1} , a solução aquosa teve sua agitação regulada para 1600 rpm, e em seguida a solução orgânica foi gotejada para cada gota ter um intervalo de 2 s da anterior, conforme ilustrado na Figura 10. Após a adição das soluções orgânicas, as três misturas foram protegidas da luz e mantidas sob agitação a 700 rpm em uma capela de exaustão por 12 horas para permitir a evaporação do THF.

Figura 10: Processo de nanoprecipitação esquematizado.



Fonte: Autor.

Após o período de 12 h, devido à evaporação, o volume de água foi ajustado para obter soluções de NPs com concentração final de 40 µg mL^{-1} em um volume total de 10 mL, como descrito na Figura 10. Todas as soluções de NPs foram armazenadas protegidas da luz em geladeira a 7 °C por até 7 dias. As NPs obtidas foram denominadas conforme segue:

- Cn-PPV-NPs: nanopartículas de Cn-PPV.
- PCPDTBT-NPs: nanopartículas de PCPDTBT.
- Cn-TBT-NPs: nanopartículas de Cn-TBT, resultantes da combinação dos polímeros Cn-PPV e PCPDTBT.



2.2 CARACTERIZAÇÕES ESPECTROSCOPIAS: NO ULTRAVIOLETA PRÓXIMO E VISÍVEL (UV-VIS), FLUORESCÊNCIA E TEMPO-DE-VIDA

Os polímeros dissolvidos em THF foram analisados frente às suas formas NPs em solução aquosa a fim de verificar mudanças nos perfis espectrais. Assim, os estoques dos polímeros, em THF e armazenados em freezer, foram diluídos para obter uma concentração final de $16 \mu\text{g mL}^{-1}$ em THF. As NPs de cada polímero, confeccionadas no mesmo dia e armazenadas na geladeira, foram diluídas para atingir a mesma concentração de $16 \mu\text{g mL}^{-1}$ em meio aquoso. Uma amostra de controle foi preparada utilizando Tween 20 a uma concentração de $0,48 \text{ mg mL}^{-1}$ (concentração presente nas soluções de NPs a $16 \mu\text{g mL}^{-1}$) para avaliar o efeito do agente surfactante nas medições subsequentes.

As amostras diluídas (NPs, controle e polímeros em THF) foram analisadas utilizando o espectrofotômetro LAMBDA™ 265 UV/Vis. Para cada medição, foram utilizadas cubetas de quartzo com um caminho óptico de 10 mm com quatro faces polidas. O equipamento fez a leitura de 250 a 800 nm.

Após a medição de absorção, a fluorescência das amostras foi avaliada usando o espectrofluorímetro Scinco FluoroMate FS-2. As condições experimentais para a espectroscopia de fluorescência foram de 700 V para a potência da lâmpada, tempo de integração de 5 ms, velocidade de digitalização de 1200 nm min^{-1} , filtro de emissão de 435 nm e fendas de excitação e de emissão com a mesma abertura de 5 nm.

O tempo de vida fluorescente das NPs em meio aquoso foi determinado utilizando a cubeta de quartzo no espectrofluorímetro FluoTime 100. Para a excitação das NPs, foi empregado um laser pulsado do equipamento PicoQuant PDL 800-B, com comprimento de onda de 635 nm. A potência máxima do laser foi utilizada, com a frequência de repetição ajustada para 16 MHz. As medições do tempo durante o qual as NPs permanecem em seu estado excitado antes de retornar ao estado basal foram realizadas no FluoTime 100. Essas medições forneceram dados sobre a dinâmica da emissão fluorescente das NPs, permitindo uma análise detalhada de seu comportamento luminescente.

2.3 ESPALHAMENTO DINÂMICO DA LUZ E POTENCIAL ZETA

As NPs, preparadas no dia anterior, Cn-PPV-NPs, PCPDTBT-NPs e Cn-TBT-NPs, cada uma com concentração inicial de $40 \mu\text{g mL}^{-1}$, foram diluídas para a análise. Para cada tipo de nanopartícula, foram misturados 80 μL da solução concentrada com 1920 μL de água destilada, resultando em uma solução diluída com uma concentração final de $1,6 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Lima, 2023; Caires et al., 2024).

A distribuição de tamanho das NPs foi obtida utilizando o equipamento Malvern Zetasizer, equipado com uma cubeta de eletroforese (DTS1070). O método de aproximação selecionado foi o método de Smoluchowski, adequado para a análise de partículas com base na dimensão das NPs (Liyanage et al., 2016).



O potencial Zeta das NPs foi também analisado no mesmo equipamento e utilizando a mesma cubeta. Para a análise de potencial Zeta, as NPs foram dispersas em solução salina. A solução salina foi preparada misturando 80 μL da suspensão de NPs com 1920 μL de salina a 10 mM, que foi previamente filtrada para remover impurezas antes da diluição das NPs (Lima, 2023; Caires et al., 2024).

2.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) DAS NPS

As amostras de NPs (PCPDTBT-NPs, Cn-PPV-NPs e Cn-TBT-NPs), 48 horas após suas confecções, foram diluídas em meio aquoso até uma concentração final de 16 $\mu\text{g mL}^{-1}$, cada uma. Em seguida, 3 μL de cada amostra diluída foram cuidadosamente gotejados de forma independente em placas de sílica, utilizadas como substrato. As placas de sílicas foram então levadas à estufa a 60 °C, onde permaneceram secando por 7 dias. Para a análise por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), as amostras depositadas nas placas de sílica, após a secagem, foram recobertas com uma camada de ouro, por um processo de metalização, para torná-las condutoras e evitar a acumulação de carga durante a varredura do feixe de elétrons. Para a obtenção das imagens, foi empregado o equipamento Jeol modelo JSM-6380LV.

2.5 GERAÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

Para se investigar quais os mecanismos de indução da morte celular via processo fotodinâmico, foram utilizados os marcadores Dihidroetídio para Fluorescência (DHE, Group JKlab) e 1,3-diphenylisobenzofuran (DPBF, Group JKlab) para determinar, respectivamente, se as NPs poderiam induzir morte celular via mecanismo Tipo I (produção de EROs) e Tipo II (produção de oxigênio singleto).

Para a determinação da produção de EROs e identificar o fotoprocesso do Tipo I, foi utilizado um marcador conhecido e usado para esse fim, o DHE. Segundo Yazdani, 2015, essa sonda não fluorescente reage com superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), peroxinitrito (ONOO^-) e ácido hipocloroso (HOCl), gerando na presença desses EROs o 2-hidroxi-etídio (DH), um composto fluorescente com um pico de emissão em torno de 610 nm, quando excitado em 500 nm. De acordo com Ziolkonka, 2010, o DHE não reage com $^1\text{O}_2$. Portanto, é possível acompanhar o aumento da produção de EROs a partir da emissão de fluorescência das espécies geradas.

No experimento de produção de EROs, foram utilizados 0,14 mL de NPs (preparadas a 72 h) na concentração de 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 40 μL de DHE (a 5,4 mM), todos solubilizados em 1 mL de DMSO. A irradiação foi realizada com um LED vermelho irradiando a cubeta diretamente com uma potência de 8,3 mW cm^{-2} . A geração de EROs (determinada a partir do surgimento do 2-hidroxi-etídio) foi



monitorada pela redução da intensidade de absorção em 359 nm em função do tempo de irradiação. As medidas de absorção foram realizadas com o auxílio do espectrofotômetro LAMBDA™ 265 UV/Vis.

Apesar de convencionalmente a geração de EROs ser monitorada pela fluorescência do 2-hidroxi-tídio, sendo as NPs fluorescentes quando excitadas em torno de 500 nm, não seria conveniente esse monitoramento, pois sendo as NPs altamente fluorescentes quando excitadas entre 460 e 580 nm acabam por suprimir a fluorescência do DH. Uma vez que a formação do 2-hidroxi-tídio advém da combinação do DHE com as EROs, resulta na diminuição de intensidade de absorção do DHE que possui uma banda de característica em 359 nm. Uma vez que a diminuição da banda em 359 nm deve ser diretamente ligada ao surgimento de EROs, pode-se aplicar uma cinética de primeira ordem para esse tipo de processo dada Equação 1.

$$A(t) = A_0 - R_0 e^{-kt} \quad [1]$$

- $A(t)$ é a absorbância em 359 nm no tempo t ,
- A_0 é a absorbância inicial (no tempo zero),
- R_0 é a quantidade total de variação de absorbância que ocorre devido à reação (neste caso, relacionada à geração de EROs ou oxigênio singletos). Quando a função atinge o seu mínimo (para $t \rightarrow \infty$, quando a reação está completa), a variação total de absorbância desde $t = 0$ será igual a R_0 .
- k é a constante de geração ou degradação (no caso, o coeficiente de geração de EROs),
- t é o tempo de exposição à fonte geradora de EROs.

Essa equação vem da cinética química de primeira ordem, aplicada quando a taxa de reação é diretamente proporcional à concentração de um reagente (no caso, a sonda DHE ou as EROs). Quando se monitora a redução da absorbância, é observada a diminuição da concentração de DHE, indicando a reação com EROs. O coeficiente k é obtido a partir do ajuste da curva experimental aos dados de absorbância em função do tempo.

O DPBF é utilizado para investigar a presença de 1O_2 , pois na presença do 1O_2 o DPBF se decompõe formando 1,2-dibenzoilbenzeno (DPB). Em virtude dessa decomposição, é possível mensurar a diminuição da absorbância do DPBF e relacionar com a produção de 1O_2 , (Carlioni, *et al.*, 1993).

Para o experimento que determinou a geração de 1O_2 , utilizou-se uma solução contendo 140 μL de NPs (PCPDTBT-NPs, Cn-PPV-NPs ou Cn-TBT-NPs) a $40 \mu\text{g mL}^{-1}$, 60 μL de DPBF (solução estoque em concentração de 6,1 mM) e 1000 μL de DMSO (obtendo-se uma solução final de 1200 μL colocada numa cubeta de quartzo com caminho óptico de 10 mm e quatro faces polidas). A irradiação



foi realizada com um LED vermelho irradiando diretamente a cubeta com uma potência de 8,3 mW cm⁻². A produção de ¹O₂ (degradação do DPBF) foi monitorada pela redução da absorbância no comprimento de onda de 415 nm, em função do tempo de irradiação. As medidas de absorção UV-Vis foram realizadas com o auxílio de um espectrofotômetro LAMBDA 265 UV/Vis (Perkin Elmer), o procedimento adaptado de Pivetta, *et al.*, (2017).

Do mesmo modo, que com o DHE, uma vez que a diminuição da banda em 415 nm deve ser diretamente ligada ao surgimento de ¹O₂, pode-se aplicar uma cinética de primeira ordem para esse tipo de processo dada pela Equação 1.

2.6 GRADIENTE DE TEMPERATURA

Inicialmente, as NPs foram diluídas em PBS (*Phosphate Buffered Saline* - salina tamponada com fosfato, Sigma Aldrich) até a concentração final de 16 µg mL⁻¹. Como controle, foi preparada uma solução de PBS sem a adição de NPs. Cada amostra, incluindo o controle, teve o volume de 200 µL dispersos em poços individuais de uma microplaca de 96 poços. A solução de PBS é usada como solvente e controle. Ao ser aplicado como solvente do caldo de bactérias nos bioensaios, o PBS foi escolhido para o bioensaio por promover controle de osmose e tamponar o pH (Junior, 2020).

As amostras foram então submetidas à irradiação utilizando um laser de diodo modelo BWF2-808-2, operando a um comprimento de onda de 806 nm. O laser foi configurado para operar com uma corrente de 2,74 A, entregando uma potência de 1,4 W cm⁻² em cada poço da microplaca. Cada poço contendo uma amostra foi irradiado por um período de 20 minutos.

Durante o processo de irradiação, uma câmera térmica modelo FLIR-C5 foi utilizada para captar imagens térmicas em intervalos de tempo específicos de 0-5 min (em intervalos de 30 s) de 5-10 min (em intervalos de 60 s) e entre 10-20 min (em intervalos de 120 s). Essas imagens térmicas registraram as mudanças de temperatura ao longo do tempo em cada amostra, permitindo uma análise detalhada do aquecimento induzido pela irradiação das NPs.

2.7 INATIVAÇÃO FOTODINÂMICA

Os experimentos foram realizados com as cepas *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 25922). As quais são mantidas em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) acrescidas de glicerol a 20% e armazenadas em freezer (-12 °C). As suspensões bacterianas foram preparadas a partir do estoque disposto em um microtubo mantido no freezer. Para a inoculação das cepas, foram adicionados 40 µL do estoque em 2 mL de caldo BHI. Em seguida, a solução foi mantida em um agitador orbital com incubadora (Marconi, MA 420) com agitação de 150 rpm e com controle de temperatura em 37 °C, durante 24 h para o crescimento bacteriano.



Após esse período, os inóculos de *E. coli* e *S. aureus* foram diluídos, separadamente, em solução PBS até a obtenção de turvação de 1,0 da escala de McFarland. Cada inóculo no padrão 1 McFarland teve o volume de 0,5 mL distribuído igualmente em sete eppendorfs. Na sequência, foi adicionado 0,5 mL da solução contendo NPs (preparadas a 72 h), com as concentrações de (i) 0,0 (ii) 16 e (iii) 32 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Por conta disso, os grupos finais foram (i) 0,0; (ii) 8 Cn-PPV; (iii) 16 Cn-PPV; (iv) 8 PCPDTBT; (v) 16 PCPDTBT; (vi) 8 Cn-TBT; (vii) 16 Cn-TBT. Assim, temos uma solução contendo as NPs em cada uma das concentrações já mencionadas, e as bactérias na concentração de $1,5 \cdot 10^8 \text{ UFC mL}^{-1}$ (*i.e.*, 0,5 na escala de McFarland), cada uma com volume final de 1 mL.

Após as bactérias *S. aureus* e *E. coli* serem expostas às soluções de tratamento, elas foram protegidas da luz e destinadas a um agitador orbital com incubadora com agitação de 120 rpm e com controle de temperatura em 37 °C por um período de 30 min para o processo de internalização das NPs. Na sequência, 200 μL de cada amostra foram retirados e dispostos em duas microplacas de 96 poços separadamente, como dois grupos - (i) irradiado e (ii) controle não irradiado.

Os grupos irradiados foram expostos à luz branca (vermelho, azul e verde, 27 mW cm^{-2}), todas as luzes foram emitidas pelo mesmo painel de LED durante o período de 60 e 90 min, resultando em doses de 250 e 375 J cm^{-2} aplicadas no *S. aureus* e na *E. Coli*, respectivamente.

A seguir, foram realizadas diluições seriadas para ambos os grupos, irradiado e não-irradiado (escuro), a diluição de 1:32 foi selecionada para plaqueamento. Desse modo, foram retirados separadamente 1 μL de cada poço da diluição 1:32, os quais foram semeados e espalhados em placas contendo meio PCA (*Plate Count Agar*, JKLab), em duplicatas. Estas placas foram dispostas em estufa com controle de temperatura de 37 °C durante 24 h.

Por fim, o crescimento bacteriano foi avaliado e as unidades formadoras de colônias (UFC) foram contadas. Logo, avaliou-se a sobrevivência ou morte das bactérias frente ao efeito fotodinâmico das NPs. Todas as análises ocorreram em duplicata, e o experimento foi repetido em outras ocasiões. Através do Teste T-Student, por meio do software Origin 2024, foram realizadas as análises estatísticas de variância dos resultados.

2.8 INATIVAÇÃO FOTOTÉRMICA

Os experimentos foram realizados com as mesmas cepas e a inoculação foi realizada de forma idêntica ao empregado na fotoinativação, com a diferença que somente a maior concentração foi empregada e as NPs apresentavam 96 h de armazenamento após seu preparo. Assim, as concentrações finais foram de (i) 0,0 e (ii) 16 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Resultando em solução contendo as NPs na concentração de 16 $\mu\text{g mL}^{-1}$ cada uma, e as bactérias na concentração de $1,5 \cdot 10^8 \text{ UFC mL}^{-1}$.

Após as bactérias *S. aureus* e *E. coli* serem expostas às soluções de tratamento, elas foram protegidas da luz e destinadas à estufa em temperatura de 37 °C por um período de 30 min para o



processo de internalização das NPs. Na sequência, 200 μL de cada amostra foram retirados e dispostos em uma microplaca de 96 poços.

Os grupos irradiados foram expostos a laser em 806 nm com potência de $1,4 \text{ W cm}^{-2}$ durante 20 min (dose total de 1680 J cm^{-2}). Foi coletado 10 μL nos tempos 0, 5, 15 e 20 min, representando respectivamente as doses de 420, 1.260 e 1680 J cm^{-2} . O volume coletado foi diluído em 1:32 e 1 μL desse diluído foi semeado e espalhado em placas contendo meio PCA. Estas placas foram dispostas em estufa com controle de temperatura de $37 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 24 h.

Por fim, o crescimento bacteriano foi avaliado e as UFC foram contadas. Logo, avaliou-se a sobrevivência ou morte das bactérias frente ao efeito térmico das NPs. Todas as análises ocorreram em duplicata, e o experimento foi repetido em outras ocasiões. Através do Teste T-Student, por meio do software Origin 2024, foram realizadas as análises estatísticas de variância dos resultados.

2.9 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) DAS BACTÉRIAS INATIVADAS

Após os processos de plaqueamento dos grupos irradiados com LED, as soluções contendo *S. aureus* e *E. coli* irradiadas e escuro foram selecionadas nas concentrações de (i) 0,0; (ii) 16 Cn-PPV; (iii) 16 PCPDTBT e (iv) 16 Cn-TBT. Os grupos de *S. aureus* e *E. coli* irradiados com Laser nos tempos 0 e 20 min tratados com (i) Cn-PPV, (ii) PCPDTBT e (iii) Cn-TBT, também foram selecionados.

Todos os grupos selecionados tiveram 100 μL diluídos em 1 mL de GTA (Glutaraldeído, Vetec química fina) a 2,5% em PBS. As amostras foram armazenadas protegidas de luz em geladeira por quatro dias, a fim de o GTA promover a fixação das células. Após os quatro dias, as amostras foram levadas a uma centrifuga refrigerada (KASVI, modelo K14-4415R) a 10.000 rpm por 5 min, com temperatura em $18 \text{ }^\circ\text{C}$.

Após centrifugado, as amostras tiveram seus sobrenadantes removidos e 1 mL de etanol 10% foi adicionado. Essas amostras foram levadas ao ultrassom por 1 min e novamente foram centrifugadas a 10.000 rpm por 5 min com temperatura em $18 \text{ }^\circ\text{C}$. Esse processo de remoção do sobrenadante, adição de álcool, ultrassom e centrifugação foi repetido para álcool e 20, 30, 40, 50, 70 e 100%. As soluções contendo álcool 100% tiveram 10 μL gotejados separadamente em placas de vidros. As placas de vidro foram então deixadas em estufa a $65 \text{ }^\circ\text{C}$ por 3 dias e, posteriormente, recobertas por ouro e levadas para a obtenção de imagens por MEV no equipamento Jeol modelo JSM-6380LV.



REFERÊNCIAS

- Abelha, T.F. et al. (2019) 'Low molecular weight PEG–PLGA polymers provide a superior matrix for conjugated polymer nanoparticles in terms of physicochemical properties, biocompatibility and optical/photoacoustic performance', *Journal of Materials Chemistry B*, 7(33), pp. 5115–5124. Available at: <https://doi.org/10.1039/C9TB00937J>.
- Ackroyd, R. et al. (2001) 'The History of Photodetection and Photodynamic Therapy', *Photochemistry and Photobiology*, 74(5), p. 656. Available at: [https://doi.org/10.1562/0031-8655\(2001\)074<0656:THOPAP>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1562/0031-8655(2001)074<0656:THOPAP>2.0.CO;2).
- Agel, M.R. et al. (2019) 'Curcumin loaded nanoparticles as efficient photoactive formulations against gram-positive and gram-negative bacteria', *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 178, pp. 460–468. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.03.027>.
- Allison, R.R. and Sibata, C.H. (2010) 'Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: A clinical review', *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 7(2), pp. 61–75. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2010.02.001>.
- Almeida, Mateus Lima et al. (2023) 'Resistência bacteriana: uma ameaça global', *Brazilian Journal of Health Review*, 6(5), pp. 19741–19748. Available at: <https://doi.org/10.34119/bjhrv6n5-028>.
- Al-Sharqi, A. et al. (2019) 'Enhancement of the Antibacterial Efficiency of Silver Nanoparticles against Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria Using Blue Laser Light', *International Journal of Photoenergy*, 2019, pp. 1–12. Available at: <https://doi.org/10.1155/2019/2528490>.
- Alves de Oliveira Kézia Cristine Barbosa Ferreira Nádia Rezende Barbosa Raposo, B. et al. (2018) 'Preparação de sistemas nanoparticulados para a solubilização e incorporação de ativos hidrofóbicos', *Principia: Caminhos da Iniciação Científica*, 18(2), pp. 10–10. Available at: <https://doi.org/10.34019/2179-3700.2018.V18.29870>.
- Alves, J.W. da S. (2021) 'ANTIBIÓTICOS E MECANISMOS DE RESISTÊNCIA BACTERIANA: UMA QUESTÃO DE SAÚDE PÚBLICA', in *Anais do I Congresso Nacional de Microbiologia Clínica On-Line. Revista Multidisciplinar em Saúde*. Available at: <https://doi.org/10.51161/rem/1195>.
- Aminov, R. (2017) 'History of antimicrobial drug discovery: Major classes and health impact', *Biochemical Pharmacology*, 133, pp. 4–19. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.10.001>.
- Arvizo, R.R. et al. (2011) 'Modulating Pharmacokinetics, Tumor Uptake and Biodistribution by Engineered Nanoparticles', *PLoS ONE*, 6(9), p. e24374. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024374>.
- Bachir, G. and Abouni, B. (2015) 'Escherichia coli and Staphylococcus aureus most common source of infection'.
- Banerji, N. et al. (2010) 'Exciton Formation, Relaxation, and Decay in PCDTBT', *Journal of the American Chemical Society*, 132(49), pp. 17459–17470. Available at: <https://doi.org/10.1021/ja105290e>.
- Barolet, D. (2008) 'Light-Emitting Diodes (LEDs) in Dermatology', *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery*, 27(4), pp. 227–238. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.sder.2008.08.003>.



Barreto, A.C. de A. (2023) 'O USO DO LED COMO POTENCIALIZADOR NO TRATAMENTO DA ACNE VULGAR: UMA REVISÃO DE LITERATURA', *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*, 9(11), pp. 3021–3027. Available at: <https://doi.org/10.51891/rease.v9i11.11779>.

Bekmukhametova, A. et al. (2020) 'Photodynamic therapy with nanoparticles to combat microbial infection and resistance', *Nanoscale*, 12(41), pp. 21034–21059. Available at: <https://doi.org/10.1039/D0NR04540C>.

Bell, V. (2019) 'Medicamentos e vida privada na primeira metade do século xx: o combate às infecções antes e depois da penicilina', *Revista Portuguesa de História*, 47, pp. 359–379. Available at: https://doi.org/10.14195/0870-4147_47_17.

Berezin, M.Y. and Achilefu, S. (2010) 'Fluorescence Lifetime Measurements and Biological Imaging', *Chemical Reviews*, 110(5), pp. 2641–2684. Available at: <https://doi.org/10.1021/cr900343z>.

Beveridge, T. (2001) 'Use of the Gram stain in microbiology', *Biotechnic & Histochemistry*, 76(3), pp. 111–118. Available at: <https://doi.org/10.1080/bih.76.3.111.118>.

Bissani, F.M. et al. (2024) 'Avaliação da organização molecular de filmes finos de ftalocianina de gadolínio antes e após annealing', *OBSERVATÓRIO DE LA ECONOMÍA LATINOAMERICANA*, 22(5), p. e4805. Available at: <https://doi.org/10.55905/oelv22n5-145>.

Blecher, K., Nasir, A. and Friedman, A. (2011) 'The growing role of nanotechnology in combating infectious disease', *Virulence*, 2(5), pp. 395–401. Available at: <https://doi.org/10.4161/viru.2.5.17035>.

Brumfitt, W. and Hamilton-Miller, J. (1989) 'Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*', *New England Journal of Medicine*, 320(18), pp. 1188–1196. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJM198905043201806>.

Bruna C. S. Pinto et al. (2022) 'Desenvolvimento de um Método de Nanoprecipitação para o Aprisionamento de Fármaco em nanopartículas de Poli-e- Caprolactona', *Revista Processos Químicos*, 17(31), pp. 65–69. Available at: <https://doi.org/10.19142/rpq.v17i31.632>.

Caires, Anderson R.L., Lima, T.H.N. and Abelha, T.F. (2023) 'Conjugated polymer nanoparticles with tunable antibacterial photodynamic capability', *Materials Advances*, 4(7), pp. 1664–1670. Available at: <https://doi.org/10.1039/d2ma00970f>.

Caires, Anderson R. L., Lima, T.H.N. and Abelha, T.F. (2023) 'Conjugated polymer nanoparticles with tunable antibacterial photodynamic capability', *Materials Advances*, 4(7), pp. 1664–1670. Available at: <https://doi.org/10.1039/D2MA00970F>.

Caires, C.S.A. et al. (2020) 'Photodynamic Inactivation of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* by a Natural Food Colorant (E-141ii)', *Molecules*, 25(19), p. 4464. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules25194464>.

Caires, C.S.A. et al. (2024) 'Photoinactivation of Multidrug-Resistant mcr-1 -Positive *E. coli* Using PCPDTBT Conjugated Polymer Nanoparticles under White Light', *ACS Applied Bio Materials* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1021/acsabm.4c01049>.



Cambón, A. et al. (2013) 'Cytocompatibility and P-glycoprotein Inhibition of Block Copolymers: Structure–Activity Relationship', *Molecular Pharmaceutics*, 10(8), pp. 3232–3241. Available at: <https://doi.org/10.1021/mp4002848>.

Campbell, E.J. et al. (1994) 'Biocompatible Surfaces Using Methacryloylphosphorylcholine Laurylmethacrylate Copolymer', *ASAIO Journal*, 40(3), pp. M853–M857. Available at: <https://doi.org/10.1097/00002480-199407000-00118>.

Carvalho, J.J.V. de et al. (2021) 'Bactérias multirresistentes e seus impactos na saúde pública: Uma responsabilidade social', *Research, Society and Development*, 10(6), p. e58810616303. Available at: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i6.16303>.

Castilho, P.F. de et al. (2024) 'Desafios e alternativas promissoras na luta contra a resistência antimicrobiana', *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, 24(5), p. e15237. Available at: <https://doi.org/10.25248/reas.e15237.2024>.

Castro, C.A. et al. (2012) 'Photocatalytic production of $1O_2$ and OH mediated by silver oxidation during the photoinactivation of *Escherichia coli* with TiO_2 ', *Journal of Hazardous Materials*, 211–212, pp. 172–181. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.08.076>.

Catorze, M.G. (2009) 'Laser: fundamentos e indicações em dermatologia'.

Chen, Z. et al. (2013) 'UV-Vis Spectroscopy', in, pp. 49–62. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-4614-8298-7_5.

Colaneri, N.F. et al. (1990) 'Photoexcited states in poly(p -phenylene vinylene): Comparison with trans , trans -distyrylbenzene, a model oligomer', *Physical Review B*, 42(18), pp. 11670–11681. Available at: <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.42.11670>.

Corrêa, L.T. et al. (2020) 'CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS PRINCIPAIS ANTIMICROBIANOS: UMA REVISÃO DE LITERATURA', *Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade*, 13(2), pp. 38–47. Available at: <https://doi.org/10.22280/revintervol13ed2.453>.

Cristina, G.P.R. e L., PAULA, L.C.A.G. DE and RODRIGUES, G.P. (2023) 'STAPHYLOCOCCUS AUREUS NO AMBIENTE HOSPITALAR', in *Anais do IV Congresso Brasileiro de Ciências Biológicas On-line. Revista Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente*. Available at: <https://doi.org/10.51189/conbracib2023/16933>.

Cruz, L.F. da et al. (2021) 'Avaliação do perfil de sensibilidade de *Escherichia coli* isoladas de infecção do trato urinário aos antimicrobianos', *Research, Society and Development*, 10(10), p. e184101018742. Available at: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i10.18742>.

Cugnasca, B.S. and Dos Santos, A.A. (2021) 'FLUORESCÊNCIA: PRINCÍPIOS E ALGUMAS APLICAÇÕES', in 9º Workshop do Mestrado Profissional Instituto de Química Universidade de São Paulo. Editora Blucher, pp. 71–79. Available at: <https://doi.org/10.5151/9786555501407-06>.

Cui, Y. et al. (2012) 'The molecular mechanism of action of bactericidal gold nanoparticles on *Escherichia coli*', *Biomaterials*, 33(7), pp. 2327–2333. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.11.057>.



- Cunha, H.P. da and Baiense, A.S.R. (2023) 'USO DE VANCOMICINA NO TRATAMENTO DE INFECÇÕES CAUSADAS POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE À METICILINA (MRSA)', *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*, 9(4), pp. 9242–9258. Available at: <https://doi.org/10.51891/rease.v9i4.9642>.
- Dougherty, T.J. et al. (1998) 'Photodynamic Therapy', *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, 90(12), pp. 889–905. Available at: <https://doi.org/10.1093/jnci/90.12.889>.
- DUBOZ, J.-Y. (1999) 'Matériaux semi-conducteurs à grand gap III-V à base de GaN', *Électronique [Preprint]*. Available at: <https://doi.org/10.51257/a-v1-e1995>.
- Du, C. et al. (2021) 'Polymeric photothermal agents for cancer therapy: recent progress and clinical potential', *Journal of Materials Chemistry B*, 9(6), pp. 1478–1490. Available at: <https://doi.org/10.1039/D0TB02659J>.
- Eroy-Reveles, A.A. and Mascharak, P.K. (2009) 'Nitric Oxide-Donating Materials and Their Potential in Pharmacological Applications for Site-Specific Nitric Oxide Delivery', *Future Medicinal Chemistry*, 1(8), pp. 1497–1507. Available at: <https://doi.org/10.4155/fmc.09.111>.
- Espinosa, M.F. et al. (2020) 'Systematic review and meta-analysis of time-temperature pathogen inactivation', *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 230, p. 113595. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2020.113595>.
- Etzold, F. et al. (2012) 'The Effect of Solvent Additives on Morphology and Excited-State Dynamics in PCPDTBT:PCBM Photovoltaic Blends', *Journal of the American Chemical Society*, 134(25), pp. 10569–10583. Available at: <https://doi.org/10.1021/ja303154g>.
- Facchinatto, W.M. et al. (2022) 'Antimicrobial and Photoantimicrobial Activities of Chitosan/CNPPV Nanocomposites', *International Journal of Molecular Sciences*, 23(20), p. 12519. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms232012519>.
- Farhat, A., Di Mascio, P. and Pedroso, C. (2023) 'Generation And Detection Of Singlet Oxygen (1O₂) By Upconversion Nanoparticles (UCNP)', *Free Radical Biology and Medicine*, 208, p. S121. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2023.10.275>.
- Farjami, A. et al. (2021) 'The Factors Determining the Skin Penetration and Cellular Uptake of Nanocarriers: New Hope for Clinical Development', *Current Pharmaceutical Design*, 27(42), pp. 4315–4329. Available at: <https://doi.org/10.2174/1381612827666210810091745>.
- Fedatto Abelha, T. and Rodrigues Lima Caires, A. (2021) 'Light-Activated Conjugated Polymers for Antibacterial Photodynamic and Photothermal Therapy', *Advanced NanoBiomed Research*, 1(7), p. 2100012. Available at: <https://doi.org/10.1002/ANBR.202100012>.
- Felício, L.B.A. de et al. (2008) 'A terapia fotodinâmica com ácido 5-aminolevulínico como modalidade de tratamento para neoplasias cutâneas não-melanoma', *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 83(4), pp. 309–316. Available at: <https://doi.org/10.1590/S0365-05962008000400004>.
- Feng, L. et al. (2013) 'Conjugated polymer nanoparticles: preparation, properties, functionalization and biological applications', *Chemical Society Reviews*, 42(16), p. 6620. Available at: <https://doi.org/10.1039/c3cs60036j>.



Ferreira, M. et al. (2023) 'Epidemiology of bacteremia in a pediatric population – A 10-year study', *Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica (English ed.)*, 41(2), pp. 85–91. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.eimce.2021.06.006>.

Fischer, F.S.U. et al. (2013) 'Influence of Processing Solvents on Optical Properties and Morphology of a Semicrystalline Low Bandgap Polymer in the Neutral and Charged States', *Macromolecules*, 46(12), pp. 4924–4931. Available at: <https://doi.org/10.1021/ma400939z>.

Freitas, F.B.F. de and Machado, A.L. (2018) 'Caracterização fenotípica do perfil de resistência a antimicrobianos em cepas de *Escherichia coli* isoladas de carne moída em feiras livres da região do Alto Oeste Potiguar, Rio Grande do Norte', *Brazilian Journal of Food Research*, 9(2), p. 30. Available at: <https://doi.org/10.3895/rebrapa.v9n2.5654>.

Furuya, E.Y. and Lowy, F.D. (2006) 'Antimicrobial-resistant bacteria in the community setting', *Nature Reviews Microbiology*, 4(1), pp. 36–45. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrmicro1325>.

Gao, Q. et al. (no date) 'Enhanced visible photocatalytic oxidation activity of perylene diimide/g-C₃N₄ n-n heterojunction via π - π interaction and interfacial charge separation', 271, p. 118933. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2020.118933>.

Gao, Y. et al. (2023) 'Nanomaterial-based photodynamic therapy for antibacterial applications: a comprehensive review', *Frontiers in Materials*, 10. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmats.2023.1260887>.

Garapati, C. et al. (2023) 'Photodynamic therapy: A special emphasis on nanocarrier-mediated delivery of photosensitizers in antimicrobial therapy', *Arabian Journal of Chemistry*, 16(4), p. 104583. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.104583>.

Garcez, A.S. et al. (2020) 'Effects of antimicrobial photodynamic therapy on antibiotic-resistant *Escherichia coli*', *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 32, p. 102029. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.102029>.

Garcia, P.R. de A.F. (2020) *Rotas de síntese e métodos de caracterização estrutural para sistemas de nanopartículas metálicas*. Universidade de São Paulo. Available at: <https://doi.org/10.11606/T.43.2020.tde-24032020-185222>.

Ge, X., Liu, J. and Sun, L. (2017) 'Controlled optical characteristics of lanthanide doped upconversion nanoparticles for emerging applications', *Dalton Transactions*, 46(48), pp. 16729–16737. Available at: <https://doi.org/10.1039/C7DT03049E>.

Gholami, L. et al. (2023) 'Clinical applications of antimicrobial photodynamic therapy in dentistry', *Frontiers in Microbiology*, 13. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1020995>.

Grey, J.K. et al. (2006) 'Size-Dependent Spectroscopic Properties of Conjugated Polymer Nanoparticles', *The Journal of Physical Chemistry B*, 110(51), pp. 25568–25572. Available at: <https://doi.org/10.1021/jp065990a>.

Hamblin, M.R. (2002) 'Polycationic photosensitizer conjugates: effects of chain length and Gram classification on the photodynamic inactivation of bacteria', *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 49(6), pp. 941–951. Available at: <https://doi.org/10.1093/jac/dkf053>.



Henderson, B.W. and Dougherty, T.J. (1992) 'HOW DOES PHOTODYNAMIC THERAPY WORK?', *Photochemistry and Photobiology*, 55(1), pp. 145–157. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1992.tb04222.x>.

Hinze, F., Ripperger, S. and Stintz, M. (1999) 'Praxisrelevante Zetapotentialmessung mit unterschiedlichen Meßtechniken', *Chemie Ingenieur Technik*, 71(4), pp. 338–347. Available at: <https://doi.org/10.1002/cite.330710405>.

H. Neu (1994) 'Emerging trends in antimicrobial resistance in surgical infections. A review', *The European journal of surgery. Supplement.* - PMID: 7524800 [Preprint].

Holmes, A.H. et al. (2016) 'Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance', *The Lancet*, 387(10014), pp. 176–187. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00473-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00473-0).

Huang, X. et al. (2017) 'High Prevalence of Colistin Resistance and mcr-1 Gene in Escherichia coli Isolated from Food Animals in China', *Frontiers in Microbiology*, 8. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00562>.

Imberti, C. et al. (2020) 'Synthesis and in vivo evaluation of PEG-BP–BaYbF5 nanoparticles for computed tomography imaging and their toxicity', *Journal of Materials Chemistry. B*, 8(34), p. 7723. Available at: <https://doi.org/10.1039/D0TB00969E>.

Issa, M.C.A. and Manela-Azulay, M. (2010) 'Terapia fotodinâmica: revisão da literatura e documentação iconográfica', *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 85(4), pp. 501–511. Available at: <https://doi.org/10.1590/S0365-05962010000400011>.

Jim O'Neill (2014) *Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations*, https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf. Available at: https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf (Accessed: 12 September 2024).

Junior, N. (2020) 'Phosphate Buffered Saline (PBS) v1'. Available at: <https://doi.org/10.17504/protocols.io.bfypjpvv>.

Kahya, N. (2019) 'Water Soluble Chitosan Derivatives and their Biological Activities: A Review', *Polymer Sciences*, 05(01). Available at: <https://doi.org/10.36648/2471-9935.5.1.44>.

Kang, S. et al. (2022) 'Review of Conjugated Polymer Nanoparticles: From Formulation to Applications', *ACS Applied Nano Materials*, 5(12), pp. 17436–17460. Available at: <https://doi.org/10.1021/acsanm.2c04730>.

Kashef, N., Huang, Y.-Y. and Hamblin, M.R. (2017) 'Advances in antimicrobial photodynamic inactivation at the nanoscale', *Nanophotonics*, 6(5), pp. 853–879. Available at: <https://doi.org/10.1515/nanoph-2016-0189>.

Kavanagh, K.T. (2019) 'Control of MSSA and MRSA in the United States: protocols, policies, risk adjustment and excuses', *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 8(1), p. 103. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0550-2>.



Kemal, E. et al. (2017) 'Bright, near infrared emitting PLGA-PEG dye-doped CN-PPV nanoparticles for imaging applications', *RSC Advances*, 7(25), pp. 15255–15264. Available at: <https://doi.org/10.1039/C6RA25004A>.

Klaseboer, E. and Chan, D.Y.C. (2020) 'On the derivation of the Smoluchowski result of electrophoretic mobility', *Journal of Colloid and Interface Science*, 568, pp. 176–184. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.02.032>.

Klein, M. et al. (2020) 'Advanced nanomedicine characterization by DLS and AF4-UV-MALS: Application to a HIV nanovaccine', *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 179, p. 113017. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.113017>.

Laviña, E.H., Angulo, L.J.S. and Saez, V. (2004) 'Mecanismos de liberación de fármacos desde materiales polímeros', in. Available at: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:169381857>.

Lazzari, S. et al. (2012) 'Colloidal stability of polymeric nanoparticles in biological fluids', *Journal of Nanoparticle Research*, 14(6), p. 920. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11051-012-0920-7>.

Leventis, A. et al. (2018) 'Highly Luminescent Encapsulated Narrow Bandgap Polymers Based on Diketopyrrolopyrrole', *Journal of the American Chemical Society*, 140(5), pp. 1622–1626. Available at: <https://doi.org/10.1021/jacs.7b13447>.

Li, A. et al. (2011) 'Superhydrophobic conjugated microporous polymers for separation and adsorption', *Energy & Environmental Science*, 4(6), p. 2062. Available at: <https://doi.org/10.1039/c1ee01092a>.

Li, L., Sun, J. and He, Z. (2013) 'Deep Penetration of Nanoparticulate Drug Delivery Systems into Tumors: Challenges and Solutions', *Current Medicinal Chemistry*, 20(23), pp. 2881–2891. Available at: <https://doi.org/10.2174/09298673113209990004>.

Lima, A.R. et al. (2022) 'Photoinactivation of *Aedes aegypti* larvae using riboflavin as photosensitizer', *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 39. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2022.103030>.

LIMA, M.F.P., B.M.A., P.R.S., V.J.R.C., & D.O.M.E. (2015) 'Staphylococcus aureus E AS INFECÇÕES HOSPITALARES – REVISÃO DE LITERATURA.', 21.

Lima, R.B.W. e et al. (2021) 'Terapia fotodinâmica no tratamento endodôntico: Uma revisão integrativa', *Research, Society and Development*, 10(9), p. e48610918142. Available at: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i9.18142>.

Liu, X. et al. (2018) 'Zeta Potential of Beta Zeolites: Influence of Structure, Acidity, pH, Temperature and Concentration', *Molecules*, 23(4), p. 946. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules23040946>.

Liyanage, D.D. et al. (2016) 'An Analysis of Nanoparticle Settling Times in Liquids', *Journal of Nanomaterials*, 2016, pp. 1–7. Available at: <https://doi.org/10.1155/2016/7061838>.

Macneill, C.M. et al. (2013) 'Low band gap donor-acceptor conjugated polymer nanoparticles and their NIR-mediated thermal ablation of cancer cells', *Macromolecular bioscience*, 13(1), pp. 28–34. Available at: <https://doi.org/10.1002/MABI.201200241>.



Mancuso, G. et al. (2021) 'Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens', *Pathogens*, 10(10), p. 1310. Available at: <https://doi.org/10.3390/pathogens10101310>.

Martins, M.G. (2017) 'Encapsulamento de nanopartículas magnéticas em polímeros acrílicos e avaliação de hipertermia para potencial tratamento de câncer'.

Mayoral, B., Moreno, A.C. and Martín-Martínez, E. (2014) 'Potencial zeta en la determinación de carga superficial de liposomas.', *Latin-American Journal of Physics Education* [Preprint].

Melo, W. de C.M.A. de and Perussi, J.R. (2012a) 'Comparando inativação fotodinâmica e antimicrobianos', *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada* [Preprint].

Melo, W. de C.M.A. de and Perussi, J.R. (2012b) 'Comparando inativação fotodinâmica e antimicrobianos', *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada* [Preprint].

Méndez-Pfeiffer, P.A. et al. (2019) 'Damage on Escherichia coli and Staphylococcus aureus using white light photoactivation of Au and Ag nanoparticles', *Journal of Applied Physics*, 125(21). Available at: <https://doi.org/10.1063/1.5090273>.

Meng, H.-F. (1998) 'Excimers in light-emitting conjugated polymers', *Physical Review B*, 58(7), pp. 3888–3892. Available at: <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.58.3888>.

Messner, K.R. and Imlay, J.A. (1999) 'The Identification of Primary Sites of Superoxide and Hydrogen Peroxide Formation in the Aerobic Respiratory Chain and Sulfite Reductase Complex of Escherichia coli', *Journal of Biological Chemistry*, 274(15), pp. 10119–10128. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.274.15.10119>.

Metryka, O. et al. (2023) 'Undesirable consequences of the metallic nanoparticles action on the properties and functioning of Escherichia coli, Bacillus cereus and Staphylococcus epidermidis membranes', *Journal of Hazardous Materials*, 446, p. 130728. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.130728>.

Mironov, A.F. (1996) 'Second-generation photosensitizers based on natural chlorines and bacteriochlorines', in A. V. Ivanov and M.A. Kazaryan (eds), pp. 150–164. Available at: <https://doi.org/10.1117/12.229483>.

Modicano, P. et al. (2020) 'Enhanced optical imaging properties of lipid nanocapsules as vehicles for fluorescent conjugated polymers', *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 154, pp. 297–308. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2020.07.017>.

Moliton, A. and Hiorns, R.C. (2004) 'Review of electronic and optical properties of semiconducting π -conjugated polymers: applications in optoelectronics', *Polymer International*, 53(10), pp. 1397–1412. Available at: <https://doi.org/10.1002/pi.1587>.

Moreira, A.P.G. and Rinaldi Neto, S. (2024) 'ESTUDO DA RESISTÊNCIA DE BACTÉRIAS A ANTIBIÓTICOS E NOVOS MÉTODOS DE TRATAMENTO', *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*, 10(6), pp. 2755–2764. Available at: <https://doi.org/10.51891/rease.v10i6.14590>.

Neves, K.J. da S. et al. (2022) 'Sistemas de entrega de drogas baseados em nanotecnologia: nanopartículas poliméricas para tratamento de câncer / Nanotechnology-based drug delivery systems: review of recent nanodrug development for cancer treatment', *Brazilian Journal of Development*, 8(4), pp. 24770–24787. Available at: <https://doi.org/10.34117/bjdv8n4-139>.



Nguyen, B.T. et al. (2006) 'Enhancing the Photoluminescence Intensity of Conjugated Polycationic Polymers by Using Quantum Dots as Antiaggregation Reagents', *Langmuir*, 22(10), pp. 4799–4803. Available at: <https://doi.org/10.1021/la053399j>.

Nikhil John, K. and Arnepalli, D.N. (2019) 'Factors Influencing Zeta Potential of Clayey Soils', in, pp. 171–178. Available at: https://doi.org/10.1007/978-981-13-0899-4_21.

Nogueira, J.O.S. et al. (2023) 'Staphylococcus aureus resistente em unidade de terapia intensiva', *Research, Society and Development*, 12(6), p. e7312642006. Available at: <https://doi.org/10.33448/rsd-v12i6.42006>.

Noronha, M.L. de C. (2015) 'Síntese de Copolímeros anfífilicos: relação entre estrutura molecular e agregação em solução aquosa'.

Oba, T. (2007) 'Photosensitizer Nanoparticles for Photodynamic Therapy', *Current Bioactive Compounds*, 3(4), pp. 239–251. Available at: <https://doi.org/10.2174/157340707783220248>.

O'Connor, A.E., Gallagher, W.M. and Byrne, A.T. (2009) 'Porphyrin and Nonporphyrin Photosensitizers in Oncology: Preclinical and Clinical Advances in Photodynamic Therapy', *Photochemistry and Photobiology*, 85(5), pp. 1053–1074. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2009.00585.x>.

Oliveira, K.G. and Machado, F.C. (2023) 'Tipos de lasers e suas aplicações na clínica geral odontológica e odontopediátrica: revisão de literatura', *Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences*, 5(4), pp. 2769–2788. Available at: <https://doi.org/10.36557/2674-8169.2023v5n4p2769-2788>.

de Oliveira Lacerda Fonseca, M., Ramos Soares, C. and Barcelos Valiatti, T. (2023) 'PERFIL DE RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS DE Escherichia coli ISOLADAS DE INFECÇÃO DO TRATO URINÁRIO EM RONDÔNIA', *Interfaces Científicas - Saúde e Ambiente*, 9(2), pp. 411–423. Available at: <https://doi.org/10.17564/2316-3798.2023v9n2p411-423>.

Oliveira, M.E. de F.A.G. de, Peixoto, C.A. and Amorim, R.V. da S. (2019) 'Ultrastructural Analysis of Chitosan Antibacterial Activity against Clinical Isolates of <i>Staphylococcus aureus</i> and <i>Escherichia coli</i>', *Advances in Microbiology*, 09(10), pp. 893–903. Available at: <https://doi.org/10.4236/aim.2019.910055>.

OMS, O.M. da S. (2022) Relatório sinaliza aumento da resistência a antibióticos em infecções bacterianas em humanos e necessidade de melhores dados, organização mundial de saúde. Available at: <https://www.who.int/news/item/09-12-2022-report-signals-increasing-resistance-to-antibiotics-in-bacterial-infections-in-humans-and-need-for-better-data> (Accessed: 1 August 2024).

Onorato, G. et al. (2022) 'Optical Control of Tissue Regeneration through Photostimulation of Organic Semiconducting Nanoparticles', *Advanced Healthcare Materials*, 11(19). Available at: <https://doi.org/10.1002/adhm.202200366>.

Ormond, A. and Freeman, H. (2013) 'Dye Sensitizers for Photodynamic Therapy', *Materials*, 6(3), pp. 817–840. Available at: <https://doi.org/10.3390/ma6030817>.

Patel, T. and Levitin, A. (2014) 'Escherichia Coli Adaptive Resistance to Clinical Antibiotics'.



Peris-Fajarnés, G. et al. (2018) 'Capture and analysis of autofluorescence in biological tissues for identification and demarcation of lesions.', in Proceedings INNODOCT/18. International Conference on Innovation, Documentation and Education. València: Editorial Universitat Politècnica de València. Available at: <https://doi.org/10.4995/INN2018.2018.8914>.

Perussi, J.R. (2007) 'Inativação fotodinâmica de microrganismos', *Química Nova*, 30(4), pp. 988–994. Available at: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000400039>.

Puig, J.E. (1999) 'Synthesis and applications of nanoparticles via microemulsion polymerization', *Revista Mexicana De Física*, 45, pp. 18–20. Available at: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:101676889>.

Pulingam, T. et al. (2022) 'Exploring Various Techniques for the Chemical and Biological Synthesis of Polymeric Nanoparticles', *Nanomaterials*, 12(3), p. 576. Available at: <https://doi.org/10.3390/nano12030576>.

Rabadan, K.K.G. (2020a) 'Desarrollo de nanopartículas a partir de polímeros y moléculas con estructura donador-aceptor: estudio de su fluorescencia originada por la absorción de uno y dos fotones'.

Rabadan, K.K.G. (2020b) 'Desarrollo de nanopartículas a partir de polímeros y moléculas con estructura donador-aceptor: estudio de su fluorescencia originada por la absorción de uno y dos fotones'.

Rani, D.J. et al. (2020) 'Chitosan nanoparticle-mediated delivery of curcumin and phycocyanin for photodynamic therapy against biofilm forming bacteria', *Materials Express*, 10(11), pp. 1854–1870. Available at: <https://doi.org/10.1166/mex.2020.1861>.

Ratti, R.P. and Sousa, C.P. (2009) 'Staphylococcus aureus meticilina resistente (MRSA) e infecções nosocomiais', *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 30(2), pp. 137–143. Available at: <https://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/436> (Accessed: 17 December 2024).

Rauscher, U. et al. (1990) 'Exciton versus band description of the absorption and luminescence spectra in poly(p-phenylenevinylene)', *Physical Review B*, 42(16), pp. 9830–9836. Available at: <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.42.9830>.

Rengifo-Herrera, J.A. et al. (2007) 'A Comparison of Solar Photocatalytic Inactivation of Waterborne E. coli Using Tris (2,2'-bipyridine)ruthenium(II), Rose Bengal, and TiO₂', *Journal of Solar Energy Engineering*, 129(1), pp. 135–140. Available at: <https://doi.org/10.1115/1.2391319>.

Ribeiro, J.N. and Jorge, R.A. (2005) 'Determinação do mecanismo de destruição de células mediado por meso-tetramesitylporfirina, octaetilporfirina, octaetilporfirina de vanadil e luz visível', *Eclética Química*, 30(1), pp. 7–13. Available at: <https://doi.org/10.1590/S0100-46702005000100001>.

Rychtowski, P. et al. (2022) 'Impact of TiO₂ Reduction and Cu Doping on Bacteria Inactivation under Artificial Solar Light Irradiation', *Molecules*, 27(24), p. 9032. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules27249032>.

Saini, N., Pandey, K. and Awasthi, K. (2021) 'Conjugate polymer-based membranes for gas separation applications: current status and future prospects', *Materials Today Chemistry*, 22, p. 100558. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2021.100558>.



Sales, L.M. and Silva, T. (2012) ‘Staphylococcus aureus METICILINA RESISTENTE: UM DESAFIO PARA A SAÚDE PÚBLICA’, *Acta Biomedica Brasiliensia* [Preprint].

Salviano Silva de Oliveira, R. et al. (2023a) ‘APLICAÇÃO DA TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA NO TRATAMENTO ENDODÔNTICO: REVISÃO INTEGRATIVA’, *Revista Formadores*, 20(Suplementar), p. e2001. Available at: <https://doi.org/10.25194/rf.v20iSuplementar.2001>.

Salviano Silva de Oliveira, R. et al. (2023b) ‘APLICAÇÃO DA TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA NO TRATAMENTO ENDODÔNTICO: REVISÃO INTEGRATIVA’, *Revista Formadores*, 20(Suplementar), p. e2001. Available at: <https://doi.org/10.25194/rf.v20iSuplementar.2001>.

Sansone, P. et al. (2022) ‘Cefiderocol for Carbapenem-Resistant Bacteria: Handle with Care! A Review of the Real-World Evidence’, *Antibiotics*, 11(7), p. 904. Available at: <https://doi.org/10.3390/antibiotics11070904>.

Schwarz, S. and Johnson, A.P. (2016) ‘Transferable resistance to colistin: a new but old threat: Table 1.’, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(8), pp. 2066–2070. Available at: <https://doi.org/10.1093/jac/dkw274>.

Sena, N. da S. et al. (2022) ‘Infecções hospitalares em Unidade de Terapia Intensiva: Uma revisão integrativa’, *Research, Society and Development*, 11(10), p. e353111032591. Available at: <https://doi.org/10.33448/RSD-V11I10.32591>.

Senge, M.O. and Brandt, J.C. (2011) ‘Temoporfin (Foscan®), 5,10,15,20-Tetra(m-hydroxyphenyl)chlorin—A Second-generation Photosensitizer †, ‡’, *Photochemistry and Photobiology*, 87(6), pp. 1240–1296. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2011.00986.x>.

Setlik, J. and Silva, R. (2016) ‘O uso da terapia fotodinâmica como tratamento alternativo para o câncer de pele do tipo não-melanoma’.

Sharma, S.K. et al. (2012) ‘Photodynamic Therapy for Cancer and for Infections: What Is the Difference?’, *Israel Journal of Chemistry*, 52(8–9), pp. 691–705. Available at: <https://doi.org/10.1002/ijch.201100062>.

Sheng, L., Li, X. and Wang, L. (2022) ‘Photodynamic inactivation in food systems: A review of its application, mechanisms, and future perspective’, *Trends in Food Science and Technology*. Elsevier Ltd, pp. 167–181. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.04.001>.

Sherwood, G.A. et al. (2010) ‘Chain Length and Substituent Effects on the Formation of Excimer-Like States in Nanoaggregates of CN-PPV Model Oligomers’, *The Journal of Physical Chemistry C*, 114(28), pp. 12078–12089. Available at: <https://doi.org/10.1021/jp100517n>.

Silva, S. (2010) ‘Propriedades Ópticas e Elétricas de Semicondutores Orgânicos à Base de Polímeros Conjugados’.

Silva, V.B. da et al. (2021) ‘Terapia fotodinâmica no tratamento de lesões em câncer de pele não melanoma: revisão integrativa’, *Research, Society and Development*, 10(1), p. e7410111257. Available at: <https://doi.org/10.33448/RSD-V10I1.11257>.



Slavin, Y.N. et al. (2017) 'Metal nanoparticles: understanding the mechanisms behind antibacterial activity', *Journal of Nanobiotechnology*, 15(1), p. 65. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12951-017-0308-z>.

Soci, C. et al. (2007) 'Photoconductivity of a Low-Bandgap Conjugated Polymer', *Advanced Functional Materials*, 17(4), pp. 632–636. Available at: <https://doi.org/10.1002/adfm.200600199>.

Soini, E., Lövgren, T. and Reimer, C.B. (1987) 'Time-Resolved Fluorescence of Lanthanide Probes and Applications in Biotechnology', *C R C Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 18(2), pp. 105–154. Available at: <https://doi.org/10.1080/10408348708542802>.

Soliman, N. et al. (no date) 'Encapsulation of a Ru(II) Polypyridyl Complex into Polylactide Nanoparticles for Antimicrobial Photodynamic Therapy', 12(10), p. 961. Available at: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12100961>.

Soos, Z.G. et al. (1993) 'Excitation and relaxation energies of trans -stilbene: Confined singlet, triplet, and charged bipolarons', *Physical Review B*, 47(4), pp. 1742–1753. Available at: <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.47.1742>.

Souza, M.V., Reis, C. and Pimenta, F.C. (2007) 'REVISÃO SOBRE A AQUISIÇÃO GRADUAL DE RESISTÊNCIA DE Staphylococcus aureus AOS ANTIMICROBIANOS', *Revista de Patologia Tropical*, 34(1). Available at: <https://doi.org/10.5216/rpt.v34i1.2134>.

Spagnolo, A.M. (2024) 'Bacterial Infections: Surveillance, Prevention and Control', *Pathogens*, 13(2), p. 181. Available at: <https://doi.org/10.3390/pathogens13020181>.

v. Tappeiner, H. (1903) 'Ueber die Wirkung fluorescirender Substanzen auf Fermente und Toxine', *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 36(3), pp. 3035–3038. Available at: <https://doi.org/10.1002/CBER.19030360370>.

Tenover, F. (2006) 'Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria.', *American Journal of Infection Control* [Preprint].

T. H. N. Lima (2023) 'Síntese, caracterização e avaliação do potencial fotossensibilizador de nanopartículas do polímero conjugado PCPDTBT visando a fotoinativação de bactérias'. Available at: <https://repositorio.ufms.br/jspui/retrieve/8ae37df8-4bb9-4ba0-afdc-027e0afeb96a/Disserta%C3%A7%C3%A3o-Thalita%20HN%20Lima%20-%20FINAL%20assinada.pdf> (Accessed: 21 October 2024).

Tuncel, D. (2019) ' π -Conjugated nanostructured materials: preparation, properties and photonic applications', *Nanoscale Advances*, 1(1), pp. 19–33. Available at: <https://doi.org/10.1039/C8NA00108A>.

Usacheva, M. et al. (2016) 'Nanoparticle-Mediated Photodynamic Therapy for Mixed Biofilms', *Journal of Nanomaterials*, 2016, pp. 1–11. Available at: <https://doi.org/10.1155/2016/4752894>.

Vilaça, R.M.A. et al. (2023a) 'Fotossensibilizadores de origem natural: extração, caracterização e recentes avanços na fotoinativação bacteriana', *Brazilian Journal of Health Review*, 6(5), pp. 23436–23457. Available at: <https://doi.org/10.34119/bjhrv6n5-405>.

Vilaça, R.M.A. et al. (2023b) 'Fotossensibilizadores de origem natural: extração, caracterização e recentes avanços na fotoinativação bacteriana', *Brazilian Journal of Health Review*, 6(5), pp. 23436–23457. Available at: <https://doi.org/10.34119/bjhrv6n5-405>.



Volarić, J. et al. (2021) 'Molecular photoswitches in aqueous environments', *Chemical Society Reviews*, 50(22), pp. 12377–12449. Available at: <https://doi.org/10.1039/D0CS00547A>.

Wang, D. et al. (2018) 'Synthesis of Self-Assembled Porphyrin Nanoparticle Photosensitizers', *ACS Nano*, 12(4), pp. 3796–3803. Available at: <https://doi.org/10.1021/acsnano.8b01010>.

Wang, H. et al. (2010) 'Enhancement of TAT cell membrane penetration efficiency by dimethyl sulphoxide', *Journal of Controlled Release*, 143(1), pp. 64–70. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2009.12.003>.

Wang, S. et al. (2016) 'Surfactant-free, low band gap conjugated polymer nanoparticles and polymer:fullerene nanohybrids with potential for organic photovoltaics', *Nanotechnology*, 27(24), p. 245601. Available at: <https://doi.org/10.1088/0957-4484/27/24/245601>.

Wang, S.-G., Chen, Yen-Chun and Chen, Yu-Chie (2018) 'Antibacterial Gold Nanoparticle-Based Photothermal Killing of Vancomycin-Resistant Bacteria', *Nanomedicine*, 13(12), pp. 1405–1416. Available at: <https://doi.org/10.2217/nnm-2017-0380>.

Web of science (2024). Available at: <https://www-webofscience-com.ez51.periodicos.capes.gov.br/wos/woscc/basic-search> (Accessed: 18 December 2024).

WHO (2023) Antimicrobial resistance.

WHO (2024) WHO updates list of drug-resistant bacteria most threatening to human health.

Wu, W. et al. (2017) 'A Highly Efficient and Photostable Photosensitizer with Near-Infrared Aggregation-Induced Emission for Image-Guided Photodynamic Anticancer Therapy', *Advanced Materials*, 29(33). Available at: <https://doi.org/10.1002/adma.201700548>.

Yadav, K. et al. (2022) 'Techniques For Increasing Solubility: A Review Of Conventional And New Strategies', *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 10(2), pp. 144–153. Available at: <https://doi.org/10.22270/ajprd.v10i2.1054>.

Youssef, F. et al. (2020) 'Comparative Study of Antibacterial Effects of Titanium Dioxide Nanoparticles Alone and in Combination with Antibiotics on MDR *Pseudomonas aeruginosa* Strains', *International Journal of Nanomedicine*, Volume 15, pp. 3393–3404. Available at: <https://doi.org/10.2147/IJN.S246310>.

Yukawa, H. and Baba, Y. (2017) 'In Vivo Fluorescence Imaging and the Diagnosis of Stem Cells Using Quantum Dots for Regenerative Medicine', *Analytical Chemistry*, 89(5), pp. 2671–2681. Available at: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b04763>.

Zanatta, A.R. (2019) 'Revisiting the optical bandgap of semiconductors and the proposal of a unified methodology to its determination', *Scientific Reports*, 9(1), p. 11225. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47670-y>.

Zanetti-Ramos, B.G. et al. (2010) 'Characterization of Polymeric Particles with Electron Microscopy, Dynamic Light Scattering, and Atomic Force Microscopy', *Particulate Science and Technology*, 28(5), pp. 472–484. Available at: <https://doi.org/10.1080/02726351.2010.504133>.

Zhang, H. et al. (2020) 'Dual-Mode Antibacterial Conjugated Polymer Nanoparticles for Photothermal and Photodynamic Therapy', *Macromolecular Bioscience*, 20(2). Available at: <https://doi.org/10.1002/mabi.201900301>.



Zhang, P. et al. (2017) 'Surveillance of antimicrobial resistance among Escherichia coli from chicken and swine, China, 2008–2015', *Veterinary Microbiology*, 203, pp. 49–55. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.02.008>.

Zhang, Y. et al. (2020) 'Influence of the Spatial Distribution of Cationic Functional Groups at Nanoparticle Surfaces on Bacterial Viability and Membrane Interactions', *Journal of the American Chemical Society*, 142(24), pp. 10814–10823. Available at: <https://doi.org/10.1021/jacs.0c02737>.

Zhao, M. et al. (2023) 'The Role of Stabilizing Copolymer in Determining the Physicochemical Properties of Conjugated Polymer Nanoparticles and Their Nanomedical Applications', *Nanomaterials*, 13(9), p. 1543. Available at: <https://doi.org/10.3390/nano13091543>.

Zhao, Y. et al. (2010) 'Adsorbed Tween 80 is unique in its ability to improve the stability of gold nanoparticles in solutions of biomolecules', *Nanoscale*, 2(10), p. 2114. Available at: <https://doi.org/10.1039/c0nr00309c>.

Zharov, V.P. et al. (2006) 'Photothermal Nanotherapeutics and Nanodiagnostics for Selective Killing of Bacteria Targeted with Gold Nanoparticles', *Biophysical Journal*, 90(2), pp. 619–627. Available at: <https://doi.org/10.1529/biophysj.105.061895>.

Zhou, Y. et al. (2002) 'Synthesis of Novel Stable Nanometer-Sized Metal (M = Pd, Au, Pt) Colloids Protected by a π -Conjugated Polymer', *Langmuir*, 18(1), pp. 277–283. Available at: <https://doi.org/10.1021/la011323r>.

Zong, T.-X. et al. (2022) 'Recent Advances in Antimicrobial Nano-Drug Delivery Systems', *Nanomaterials*, 12(11), p. 1855. Available at: <https://doi.org/10.3390/nano12111855>.

