

PADRONIZAÇÃO DA LUZ AZUL ANTIMICROBIANA: A IRRADIÂNCIA COMO DETERMINANTE DA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Standardizing Antimicrobial Blue Light: Irradiance as a Determinant of *Staphylococcus aureus* Growth Inhibition

Estandarizando la luz azul antimicrobiana: la irradiancia como determinante de la inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus*

Richard Luiz de Oliveira Carvalho¹, Roberto Fernandes Pacheco², Carolina Lúcia de Oliveira Pacheco², Fabrício dos Santos Cardoso¹, Sérgio Gomes da Silva^{1,3}, Patrícia Sardinha Leonardo⁴, Silvia Cristina Nuñez⁵, Fernando Luiz de Carvalho e Silva⁵, Rodrigo Álvaro Brandão Lopes Martins^{1,2,6}

RESUMO

Introdução: A luz azul antimicrobiana (aBL) atua sem fotossensibilizador exógeno ao excitar cromóforos endógenos, gerando ROS. No entanto, muitos estudos reportam apenas dose ($J \cdot cm^{-2}$), subespecificando irradiância e geometria, o que pode explicar resultados díspares. **Objetivo:** Quantificar a inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus* em ágar sob aBL e avaliar o papel crítico da irradiância. **Métodos:** *S. aureus* ATCC foi inoculado em ágar Mueller–Hinton e irradiado com um dispositivo de LEDs azuis (SkinLED) em doses nominais de 23, 53, 83, 117 e 162 $J \cdot cm^{-2}$; controles em escuro foram incluídos. O crescimento foi quantificado por análise de imagens e expresso como área de colônias relativa ao controle. **Resultados:** Todas as doses reduziram o crescimento versus controle, com inibição parcial (~45–51%) em 23–117 $J \cdot cm^{-2}$ e aumento acentuado em 162 $J \cdot cm^{-2}$ (~87%). **Conclusão:** Os achados apoiam a existência de um limiar dependente de irradiância para aBL eficaz. Protocolos devem especificar e controlar irradiância, espectro e geometria, e não apenas a dose total, para permitir padronização e reprodutibilidade. Em outras palavras, a potência do equipamento emissor é fundamental para o efeito antimicrobiano.

Palavras-chave (PT): luz azul antimicrobiana; irradiância; *Staphylococcus aureus*; fotoinativação; ROS; dosimetria óptica; ágar Mueller–Hinton; LED.

¹Hospital do Câncer de Muriaé, Fundação Cristiano Varella (FCV), Muriaé, MG, Brazil.

²Instituto Dr. Ellev – Rua Conde de Linhares 112 Bairro: Cidade Jardim, Belo Horizonte, Brazil

³Centro Universitário FAMINAS. Muriaé, MG, Brazil.

⁴Centro Universitário Afya Itaperuna, Itaperuna, RJ, Brazil.

⁵Instituto Federal Fluminense – Departamento de Engenharia da Computação. Campos dos Goytacazes - RJ

⁶Universidade Brasil. Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia.

ABSTRACT

Background: Antimicrobial blue light (aBL) inactivates bacteria by exciting endogenous chromophores and generating ROS, yet many reports under-specify irradiance and beam geometry, hampering reproducibility. **Objective:** To quantify aBL-mediated inhibition of *Staphylococcus aureus* on agar and examine the role of irradiance. **Methods:** An ATCC *S. aureus* strain was spread on Mueller–Hinton agar and exposed to blue LEDs (SkinLED) at nominal doses of 23, 53, 83, 117, and 162 J·cm⁻²; dark controls were included. Growth was measured by image analysis as colony-covered area relative to control. **Results:** All doses reduced growth, with partial inhibition (~45–51%) at 23–117 J·cm⁻² and a marked efficacy jump at 162 J·cm⁻² (~87%). **Conclusions:** Data support an irradiance-dependent threshold for effective aBL. Reporting and controlling irradiance, spectrum, and geometry—beyond total dose—are crucial for standardization and reproducibility. In other words, the power of the emitting device is essential for the antimicrobial effect.

Keyword: antimicrobial blue light; irradiance; *Staphylococcus aureus*; photoinactivation; reactive oxygen species; optical dosimetry; Mueller–Hinton agar; LED.

RESUMEN

Introducción: La luz azul antimicrobiana (aBL) inactiva bacterias al excitar cromóforos endógenos y generar ERO, pero numerosos estudios subespecifican la irradiancia y la geometría óptica, lo que dificulta la reproducibilidad. **Objetivo:** Cuantificar la inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus* en agar mediante aBL y evaluar el papel de la irradiancia. **Métodos:** Una cepa ATCC de *S. aureus* se sembró en agar Mueller–Hinton y se expuso a LED azules (SkinLED) con dosis nominales de 23, 53, 83, 117 y 162 J·cm⁻²; se incluyeron controles en oscuridad. El crecimiento se midió por análisis de imágenes como área de colonias relativa al control. **Resultados:** Todas las dosis redujeron el crecimiento; se observó inhibición parcial (~45–51%) en 23–117 J·cm⁻² y un salto de eficacia en 162 J·cm⁻² (~87%). **Conclusiones:** Los datos apoyan un umbral dependiente de la irradiancia para una aBL eficaz. Es esencial especificar y controlar irradiancia, espectro y geometría—más allá de la dosis total—para la estandarización y la reproducibilidad. En otras palabras, la potencia del dispositivo emisor es fundamental para el efecto antimicrobiano.

Palabras clave (ES): luz azul antimicrobiana; irradiancia; *Staphylococcus aureus*; fotoinactivación; especies reactivas de oxígeno; dosimetría óptica; agar Mueller–Hinton; LED.

INTRODUÇÃO

A terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) combina um fotossensibilizador, luz visível de comprimento de onda apropriado e oxigênio molecular para gerar espécies reativas de oxigênio (ROS) que danificam membranas microbianas, proteínas e ácidos nucleicos. Em dermatologia e no cuidado de feridas, a aPDT tem sido explorada não apenas para redução de carga microbiana, mas também por possíveis efeitos pró-cicatrização; entretanto, a heterogeneidade na escolha de fotossensibilizadores e nos parâmetros ópticos dificulta a comparação entre estudos e prejudica a padronização¹.

Dentro desse cenário, a luz azul antimicrobiana (aBL) ocupa um nicho distinto porque comumente opera sem fotossensibilizadores exógenos. A iluminação na faixa violeta–azul (~400–470 nm)—notadamente ao redor de 405 nm—excita cromóforos endógenos como porfirinas (e, em menor grau, flavinas), desencadeando a formação de ROS e amplo dano oxidativo^{2,3}. Experimentos fundamentais demonstraram o efeito bactericida mediado por LEDs de 405 nm contra bactérias de importância médica, incluindo *Staphylococcus aureus*, sem adição de fotossensibilizador². Trabalhos subsequentes estenderam os efeitos de aBL a biofilmes mono- e polimicrobianos e documentaram perturbação de membrana consistente com lesão foto-oxidativa⁴. Estudos mecanísticos em MRSA mostram depleção de coproporfirina intracelular induzida por aBL com rápido aumento de ROS, em alinhamento com uma via de morte mediada por porfirinas⁵.

Clinicamente, *S. aureus* permanece o patógeno dominante em infecções de pele e tecidos moles (SSTIs) e um importante fator de recorrência e de carga aos sistemas de saúde, tanto em cepas sensíveis quanto resistentes à meticilina. Essas realidades epidemiológicas sustentam o interesse por modalidades locais e não antibióticas que possam ser integradas às rotinas de cuidado de feridas⁶.

Apesar dos resultados encorajadores, os desfechos entre estudos de aBL variam substancialmente. Um determinante chave—e frequentemente subnotificado—é a irradiância (taxa de fluência, $\text{mW}\cdot\text{cm}^{-2}$) no plano da amostra, juntamente com a geometria e a largura espectral. Como a dose ($\text{J}\cdot\text{cm}^{-2}$) é igual à irradiância multiplicada pelo tempo, dois regimes isodose podem fornecer fluxos instantâneos de fótons, cinéticas de consumo de oxigênio, perfis térmicos e não uniformidades espaciais muito diferentes, o que, por sua vez, altera a geração de ROS e o efeito biológico^{3,6}. Análises experimentais que variam explicitamente a irradiância mantendo a dose total constante indicam que a eficiência germicida por joule depende da taxa de fluência e pode exibir comportamento limiar em irradiâncias mais altas⁷. Essas evidências indicam que relatar apenas a dose é insuficiente; dosimetria óptica rigorosa e controle geométrico são essenciais para resultados reprodutíveis com aBL^{3,7}.

Por fim, fototratamentos subletais podem, em princípio, selecionar fenótipos tolerantes. Em *S. aureus*, ciclos subletais repetidos de inativação fotodinâmica antimicrobiana ou de aBL têm sido associados a aumento de sobrevivência e alterações genômicas, embora a estabilidade e a relevância clínica de tais adaptações ainda precisem ser esclarecidas⁸. Em conjunto, a elevada carga clínica de *S. aureus* em SSTIs, o mecanismo de aBL sem fotossensibilizador exógeno e as evidências emergentes de eficácia dependente de irradiância motivam o presente trabalho, que examina a inibição do crescimento de *S. aureus* em ágar sob exposição à luz azul, enfatizando a irradiância e o controle geométrico.

Hipotetizamos que doses idênticas entregues com irradiância insuficiente resultariam em inibição parcial, ao passo que irradiâncias mais altas—na mesma dose ou em dose maior—produziriam supressão desproporcionalmente superior, consistente com a geração de ROS dependente da taxa de fluência^{3,7}.

Objetivamos (i) quantificar a inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus* em ágar sob exposição à luz azul em faixas de dose clinicamente práticas e (ii) examinar se a eficácia apresenta comportamento do tipo limiar ligado à irradiância (taxa de fluência).

MATERIAL E MÉTODOS

Desenho do estudo

Estudo experimental, controlado, em grupos paralelos, utilizando placas de ágar com inoculação superficial de *S. aureus* expostas à luz azul em doses nominais de energia predefinidas, com controles em escuro concomitantes. Desfecho primário: porcentagem de inibição da área ocupada por colônias em relação aos controles às 18–24 h.

Equipamento

Foi utilizado o equipamento SKIN LED (Zelotech Equipamentos, Divinópolis – MG) com as seguintes características: Área ativa (sobre as lentes/LEDs): $0,26 \text{ W/cm}^2$; Área média (painel completo): $0,09 \text{ W/cm}^2$.

Características Técnicas do SKIN LED

Dimensões gerais: Cada painel: $26 \text{ cm} \times 15,5 \text{ cm} \rightarrow$ área de 403 cm^2 . Três painéis juntos: 1.209 cm^2 de área total (403×3).

Cada painel contém 60 LEDs, portanto, o conjunto (3 painéis) possui 180 LEDs. A área de cada LED (diâmetro $1,7 \text{ cm} \rightarrow$ raio $0,85 \text{ cm}$): $\text{Área} = \pi \times r^2 = 3,1416 \times (0,85^2) \approx 2,27 \text{ cm}^2$.

A área total ocupada por 60 LEDs: $136,2 \text{ cm}^2$. Isso corresponde a 33,8% da área do painel sendo “coberta” pelas lentes/LEDs. Para os três painéis: Área de LEDs = $136,2 \times 3 = 408,6 \text{ cm}^2$.

Cepa bacteriana e condições de cultura

Uma cepa de referência ATCC de *S. aureus* foi semeada em ágar chocolate e incubada a 36–37 °C por 16 h. Um inóculo padronizado foi então preparado e espalhado em ágar Mueller–Hinton para obter tapetes confluentes/semi-confluentes após incubação. As placas foram equilibradas em temperatura ambiente por 60 minutos antes da irradiação para minimizar condensação.

Fonte de luz, espectro e geometria

As irradiações utilizaram o dispositivo **SkinLED** (Zelotech, Minas Gerais, Brasil), composto por três painéis com 60 emissores cada (potência elétrica nominal de 12 W por LED). As características de emissão foram de 20, 40, 60, 80 e 100% de Potência do equipamento. A distância placa–painel foi fixada em 15 Cm usando um gabarito rígido para garantir geometria reprodutível e minimizar variação angular. As placas tiveram as tampas removidas e cobertas com filme estéril e opticamente transparente para evitar contaminação.

Conjuntos experimentais e variáveis

Usamos três conjuntos experimentais sequenciais em placas de ágar Mueller–Hinton com inoculação superficial de uma cepa ATCC de *Staphylococcus aureus*. Salvo indicação em contrário, todos os procedimentos, radiometria, análise de imagens e estatística seguiram os protocolos descritos acima. A fonte de luz foi o SkinLED (Zelotech, Brasil) com geometria placa–fonte e elevação de temperatura mantida < 2 °C. A irradiância na superfície do ágar ($\text{mW}\cdot\text{cm}^2$) foi constante em toda a área. Conforme **Figura 1**.

Figura 01 – Equipamento SKINLED

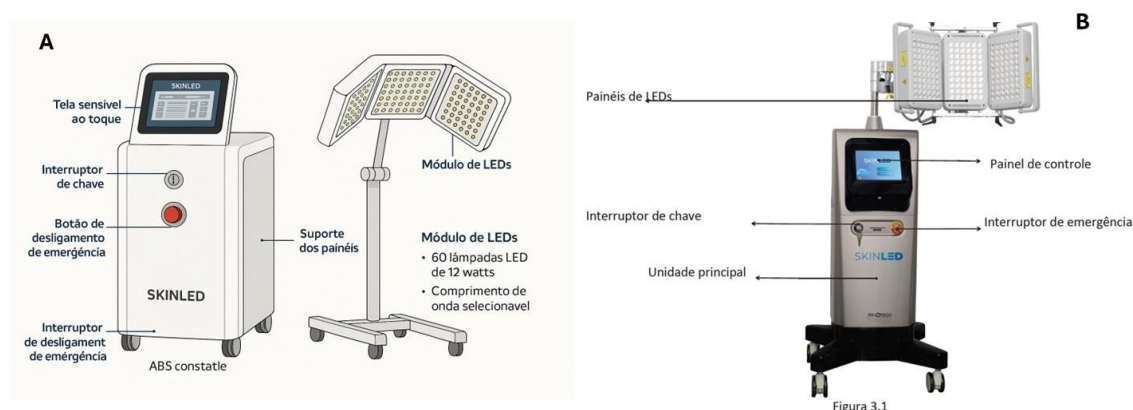


Figura 1. Equipamento SKINLED utilizado para irradiação das placas de cultura bacterianas

SET 1 — Resposta à dose de energia

Objetivo. Identificar a dose de energia que produza a inibição mais robusta com restrições térmicas e práticas aceitáveis.

Desenho. As placas foram irradiadas em doses nominais de 23, 53, 83, 117 e 162 J/cm² a uma irradiância fixa, ajustando-se o tempo de exposição por $t = \text{dose}/\text{irradiância}$. Um controle em escuro (0 J·cm²) acompanhou cada batelada.

Desfechos. Primário: porcentagem de inibição da área ocupada por colônias às 18–24 h versus controles em escuro concomitantes. ANOVA de uma via com pós-teste de Tukey entre doses; a “melhor” dose (E*) para os conjuntos subsequentes foi definida a priori como a menor dose que atingisse um limiar de inibição pré-especificado, acima de 80% de inibição do crescimento.

SET 2 — Modulação do tempo com energia total fixa (estudo de taxa de fluência, isodose)

Justificativa. Testar se variar o tempo de exposição com potência constante altera a eficácia antimicrobiana ao modificar a taxa de fluência (irradiância), dado que o fluxo instantâneo de fótons e a cinética de oxigênio podem influenciar o rendimento de ROS^{3,7}.

Desenho. Usando a energia ótima E^* do SET 1, as placas foram irradiadas por 15, 20, 25, 30 e 35 minutos. Para cada tempo t , a irradiância foi ajustada para $I = E^*/t$ a fim de manter a energia total constante (isodose). Registros térmicos confirmaram $\Delta T < 2^\circ\text{C}$ em todos os tempos.

SET 3 — Exposição fracionada (duas irradiações) no tempo mínimo efetivo

Justificativa. Investigar se duas irradiações separadas por 24h melhoram a inibição no tempo mínimo efetivo identificado no SET 2, potencialmente via repleção de oxigênio entre as frações.

Desenho. A energia total foi mantida igual a E^* (do SET 1). Selecionamos o menor tempo do SET 2 que atendeu ao critério de eficácia pré-definido e entregamos duas doses iguais de E cada. As frações foram separadas por um intervalo Δ de 24h

Aquisição de imagens e análise quantitativa do crescimento

Após incubação pós-irradiação por 16 h ($36\text{--}37^\circ\text{C}$), as placas foram fotografadas em uma caixa de luz customizada com distância de câmera, abertura e balanço de branco fixos. As imagens foram processadas no ImageJ/Fiji: (i) subtração de fundo; (ii) desconvolução de cor (quando necessário); (iii) limiarização para segmentar pixels de colônia; e (iv) cálculo da fração de área ocupada por colônias. A porcentagem de inibição foi definida como $100 \times (1 - \text{tratado/controle})$, normalizada pela média dos controles em escuro concomitantes. A análise foi realizada em cegamento de condição⁴.

Análise estatística

Os dados são relatados como média \pm DP. As comparações entre grupos utilizaram ANOVA de uma via com pós-teste de Tukey.

RESULTADOS

Resposta à diferentes doses de Energia em ágar (SET 1)

No arranjo padrão de irradiação, a luz azul reduziu o crescimento de *S. aureus* em todas as doses de energia testadas em relação aos controles em escuro (**Figura 2**). Os tempos de irradiação foram fixados em 15 minutos. A inibição média foi de 47,3% em $23 \text{ J}\cdot\text{cm}^{-2}$, 51,2% em $53 \text{ J}\cdot\text{cm}^{-2}$, 44,9% em $83 \text{ J}\cdot\text{cm}^{-2}$, 45,8% em $117 \text{ J}\cdot\text{cm}^{-2}$ e 87,0% em $162 \text{ J}\cdot\text{cm}^{-2}$. Assim, doses moderadas ($23\text{--}117 \text{ J}\cdot\text{cm}^{-2}$) produziram um platô relativamente plano de inibição parcial ($\sim 45\text{--}51\%$), ao passo que houve um salto acentuado de eficácia em $162 \text{ J}\cdot\text{cm}^{-2}$. Esse perfil não monotônico, porém, sugestivo de limiar, é consistente com um cenário em que a dose cumulativa por si só é insuficiente para prever o desfecho, sendo necessária uma maior entrega de fluência (via dose e/ou taxa de fluência) para alcançar um efeito antimicrobiano robusto.

A **figura 3** mostra as placas de cultura bacterianas analisadas pelo software Image J nas diferentes doses de energia utilizadas no experimento. A figura ilustra os resultados apresentados no gráfico da figura 2.

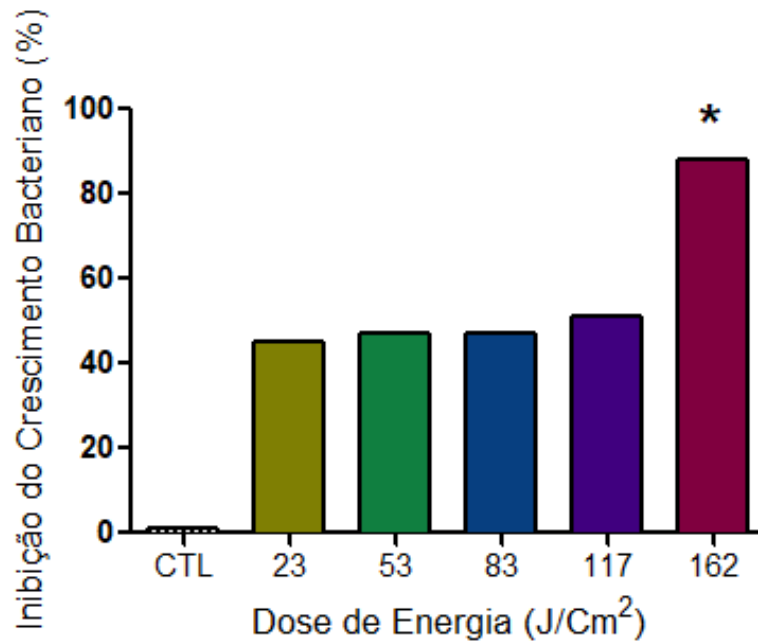


Figura 2. Inibição do crescimento bacteriano com LED azul em diferentes doses de energia no ágar Mueller–Hinton. As barras mostram a inibição média (%) em relação aos controles em escuro do mesmo dia; as doses testadas foram 0, 23, 53, 83, 117 e 162 J·cm⁻² (da esquerda para a direita). Observou-se inibição parcial em 23–117 J·cm⁻² (44,9–51,2%), com aumento pronunciado em 162 J·cm⁻² (87,0%).

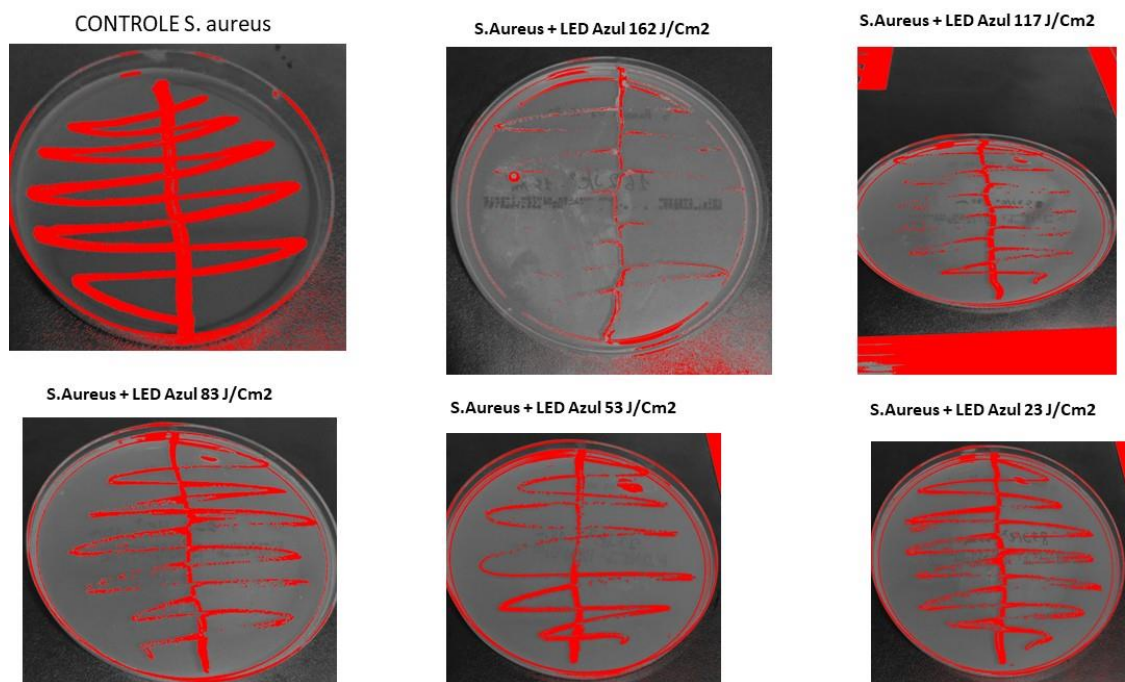


Figura 3: A figura é composta por seis placas de Petri com estrias de *S. aureus*. No canto superior esquerdo está o controle, sem irradiação, mostrando crescimento bacteriano típico ao longo das estrias. As demais imagens apresentam culturas expostas à luz LED azul do equipamento SKINLED em diferentes doses de energia (em J/cm²): 162 (superior centro), 117 (superior direita), 83 (inferior esquerda), 53 (inferior centro) e 23 (inferior direita). Em todas as placas são visíveis as linhas de estriamento e o crescimento bacteriano correspondente.

Potência Fixa e Variações do Tempo de Irradiação (SET 2)

Com a potência do equipamento fixa (isto é, energia crescente com irradiações mais longas), a luz azul produziu inibição consistentemente alta em todos os tempos (Figura 3). A inibição média foi de 88% em 15 min, 85% em 20 min, 89% em 25 min, 91% em 30 min e 89% em 35 min. Assim, estender a exposição de 15 para 35 minutos resultou apenas em variação modesta (faixa de 85–91%), com um pico suave em 30 minutos. A curva sugere efeito quase máximo entre 25–30 minutos, com ganho adicional limitado daí em diante, compatível com uma saturação prática da resposta nessas condições. Contrastes pareados mostraram 30 minutos modestamente superior a 20 minutos, enquanto os demais tempos não diferiram materialmente entre si. Como a potência foi mantida fixa, esses resultados implicam que, além de determinada faixa de energia cumulativa, o benefício incremental torna-se marginal, apoiando a seleção de ~25–30 minutos como janela de eficiência ótima para este arranjo.

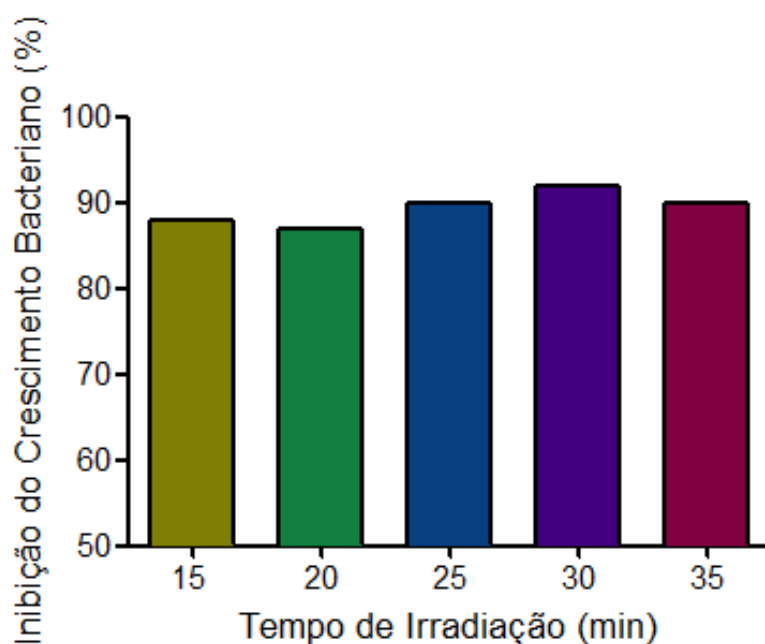


Figura 4. Inibição do crescimento bacteriano com LED azul em diferentes tempos de irradiação sob potência fixa. As barras mostram a inibição média (%) em relação aos controles em escuro do mesmo dia para 15, 20, 25, 30 e 35 minutos. A inibição permaneceu alta em todos os tempos (85–91%), com um máximo suave em 30 minutos (91%). As barras de erro representam réplicas biológicas por condição; elevação da temperatura de superfície < 2 °C.

Efeito de Duas Irradiações (SET 3)

Usando o tempo mínimo efetivo selecionado no SET 2 (exposição contínua única entregando a energia total E^*), comparamos uma ou duas irradiações com intervalo de 24 (Figura 4). A condição em duas irradiações apresentou aumento modesto de aproximadamente 2–3 pontos percentuais sobre a referência de apenas uma irradiação.

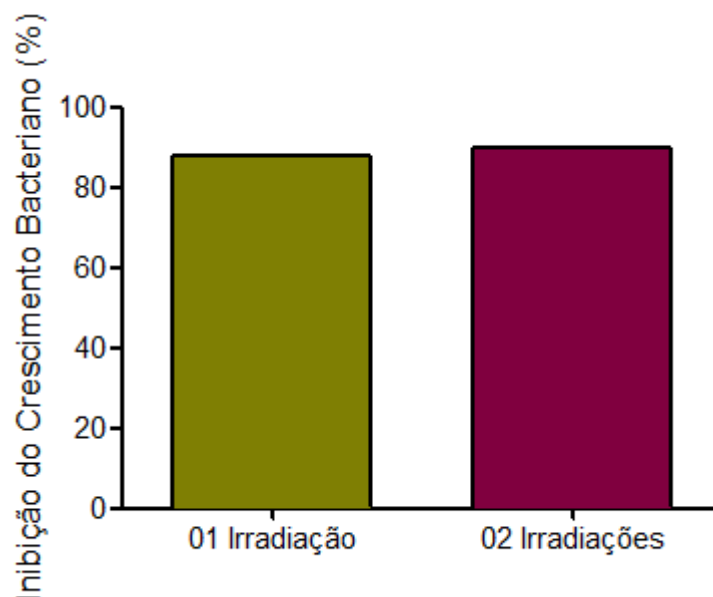


Figura 5. Inibição do crescimento bacteriano com LED azul: exposição única vs. duas irradiações. As barras mostram a inibição média (%) em relação aos controles em escuro do mesmo dia para uma exposição contínua única entregando a energia total. O tratamento com duas aplicações com intervalo de 24h produziu um pequeno aumento absoluto (~2–3 pontos percentuais) em relação à irradiação única.

DISCUSSÃO

Nossos achados de inibição de *Staphylococcus aureus* por luz azul antimicrobiana (aBL) alinham-se ao corpo de evidências de que comprimentos de onda entre 400–470 nm promovem fotoinativação bacteriana sem fotossensibilizador exógeno, sobretudo via excitação de cromóforos endógenos e geração de espécies reativas de oxigênio (ERO)^{2,6}.

O papel central dos porfirínicos endógenos em *S. aureus* é amplamente descrito e inclui coproporfirinas e protoporfirinas; há também indícios de participação de flavinas como aceitadores ópticos na faixa azul, contribuindo para a formação de ERO. esses mecanismos justificam a suscetibilidade tanto de cepas sensíveis quanto de MRSA e sustentam a aplicabilidade clínica da aBL como estratégia adjuvante não antibiótica⁵.

Um ponto crítico deste estudo é a ênfase na irradiância (taxa de fluência) como determinante do desfecho, e não apenas na dose total ($J \cdot cm^{-2}$). Modelos experimentais recentes demonstraram que, mantendo-se a dose constante, variações na irradiância resultam em eficiências germicidas distintas, com zonas de maior “eficiência por joule” em faixas específicas de irradiância e indícios de limiares para matar ou apenas inibir⁷. Por outro lado, há relatos de regimes de baixa irradiância, aplicados por longos períodos, que também podem ser eficazes, sugerindo a existência de múltiplos regimes operacionais dependentes da fisiologia do microrganismo, disponibilidade de oxigênio e termodinâmica local⁹. Juntos, esses dados corroboram nossa observação de comportamento não linear e suportam a recomendação de relatar explicitamente a irradiância no plano da amostra, além da geometria do feixe e do espectro⁷.

Em *S. aureus*, a dependência de oxigênio dissolvido é outro componente que conecta irradiância ao efeito final: irradiâncias mais altas podem acelerar a geração instantânea de ERO a taxas que excedem a reposição de O_2 , produzindo dano oxidativo irreparável; já irradiâncias baixas, embora entreguem a mesma dose ao longo do tempo, permitem reequilíbrio de O_2 e maior ativação de vias de reparo^{2,4}. essa interpretação mecanicista está em consonância com nosso salto de eficácia na maior dose/irradiância testada.

Além de planktonicidas, há evidências de ação sobre biofilmes de *S. aureus* e biofilmes polimicrobianos, ainda que com exigência de doses/irradiâncias superiores devido às barreiras de matriz

extracelular e gradientes de O₂. Estudos em 405 nm mostram reduções expressivas em biofilmes de *S. aureus* e patógenos associados, com relevância translacional para feridas crônicas e dispositivos médicos⁴. Nossos resultados em ágar reforçam a plausibilidade de escalonamento para cenários de biofilme, desde que se especifique a irradiância e a uniformidade espacial do campo óptico^{2,4}.

Fatores pigmentares como a estafiloxantina podem conferir proteção antioxidante e exigir ajustes de protocolo. Abordagens de dupla faixa (p.ex., 460+405 nm) ou estratégias que perturbem a estafiloxantina foram capazes de sensibilizar MRSA e ampliar a letalidade da aBL. Sugerindo que, em contextos clínicos com alta carga de MRSA, o espectro e o pré-condicionamento reduzem a variabilidade de resposta⁶.

Por fim, a resistência adaptativa à aBL parece improvável, mas ainda pouco documentada; estudos de exposição seriada e passagens múltiplas devem integrar agendas futuras para monitorar tolerância e selecionar parâmetros que minimizem subletalidade repetida. Incluir, em trabalhos subsequentes, métricas de ROS intracelular, danos de membrana e avaliação tardia (48–72 h) permitirá consolidar o racional de limiar dependente de irradiância observado aqui^{4,5}.

Assim, equipamentos de baixa potência/irradiância tendem a ser menos eficazes ou mesmo ineficazes, mesmo quando operados por períodos prolongados para “igualar” a dose, pois não transpõem o limiar biocida necessário. À luz desses achados, a padronização de protocolos deve incluir, obrigatoriamente, a especificação de irradiância no plano da amostra, além de espectro, geometria do feixe (distância, área e uniformidade) e controle térmico, sob pena de comprometer a reprodutibilidade e a comparabilidade entre estudos e dispositivos. Do ponto de vista translacional, a seleção e o uso de tecnologias de aBL devem priorizar a capacidade de fornecer irradiância suficiente e homogênea na área de interesse clínica; mais tempo com irradiância baixa não substitui a taxa adequada de excitação fotoquímica. Em síntese, a eficácia da aBL não depende apenas de “quanto” de energia é entregue, mas de “como” ela é entregue no tempo e no espaço. Em outras palavras, a potência do equipamento emissor é fundamental para o efeito antimicrobiano.

CONCLUSÕES

Este estudo demonstra que a luz azul antimicrobiana (aBL) inibe o crescimento de *Staphylococcus aureus* de maneira não linear e dependente de parâmetros ópticos específicos, destacando-se a irradiância (mW·cm²) como determinante do desfecho. Ainda que regimes distintos possam entregar a mesma dose total (J·cm²), diferenças na taxa instantânea de entrega de fótons alteram a geração de espécies reativas de oxigênio e a dinâmica local de oxigênio dissolvido, resultando em níveis de dano celular distintos.

REFERÊNCIAS

1. Negri LB, Korupolu S, Farinelli W, Jolly AK, Redmond RW, Aggarwal S, Rahme LG, Gilchrist KH, Anderson RR, Gelfand JA. Antimicrobial Blue Light Reduces Human-Wound Pathogens' Resistance to Tetracycline-Class Antibiotics in Biofilms. *Cells*. 2025; 14(3):219.
2. Maclean M, Macgregor SJ, Anderson JG, Woolsey GA. The role of oxygen in the visible-light inactivation of *Staphylococcus aureus*. *J Photochem Photobiol B*. 2008 Sep 18;92(3):180-4.
3. Huang S, Zhao J, Zhang Y, Wang L, Xu Z. The parameters affecting antimicrobial efficiency of antimicrobial blue light therapy: a review and prospect. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2023, 42:103490.
4. Ferrer-Espada R, Liu X, Goh XS, Dai T. Antimicrobial Blue Light Inactivation of Polymicrobial Biofilms. *Front Microbiol*. 2019; 9:10721.
5. Wu J, Chu Z, Ruan Z, Wang X, Dai T, Hu X. Changes of Intracellular Porphyrin, Reactive Oxygen Species, and Fatty Acids Profiles During Inactivation of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* by Antimicrobial Blue Light. *Front Physiol*. 2018 28;9:1658.
6. Leanse LG, Goh XS, Cheng JX, Hooper DC, Dai T. Dual-wavelength photo-killing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *JCI Insight*. 2020 4;5(11): e134343.
7. Sinclair LG, Anderson JG, MacGregor SJ, Maclean M. Enhanced antimicrobial efficacy and energy efficiency of low irradiance 405-nm light for bacterial decontamination. *Arch Microbiol*. 2024; 23:206(6):276.
8. Rapacka-Zdonczyk, A., Wozniak, A., Pieranski, M. *et al.* Development of *Staphylococcus aureus* tolerance to antimicrobial photodynamic inactivation and antimicrobial blue light upon sub-lethal treatment. *Sci Rep* 2019; 9: 9423.
9. Hernandez R, Pöder J, LaPorte KM, Malek TR. Engineering IL-2 for immunotherapy of autoimmunity and cancer. *Nat Rev Immunol*. 2022: 22(10):614-628.