



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E**  
**MOLECULAR**



**IMPLICAÇÕES EXTRÍNSECAS NA VIABILIDADE DE**  
*Pseudomonas aeruginosa* **EXPOSTA À IRRADIAÇÃO DE LED AZUL**

**VICTOR TARGINO GOMES**

**JOÃO PESSOA – PB**

**2024**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA  
CELULAR E MOLECULAR**



**IMPLICAÇÕES EXTRÍNSECAS NA VIABILIDADE DE  
*Pseudomonas aeruginosa* EXPOSTA À IRRADIAÇÃO DE LED AZUL**

**VICTOR TARGINO GOMES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular da UFPB, como requisito para obtenção do grau de Mestre (área: Microbiologia).

Orientador: Ulrich Vasconcelos da Rocha Gomes

**JOÃO PESSOA – PB**

**2024**

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

VICTOR TARGINO GOMES

IMPLICAÇÕES EXTRÍNSECAS NA VIABILIDADE DE *Pseudomonas aeruginosa* EXPOSTA À IRRADIAÇÃO DE LED AZUL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular da UFPB, como requisito para obtenção do grau de Mestre (área: Microbiologia) em 25 de março de 2024

**Banca examinadora**

Prof. Dr. Ulrich Vasconcelos da Rocha Gomes (DB/UFPB)

**Orientador**



Documento assinado digitalmente

ULRICH VASCONCELOS DA ROCHA GOMES  
Data: 25/03/2024 15:50:05-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Rafael de Almeida Travassos (DBCM/UFPB)

**Examinador interno**



Documento assinado digitalmente

RAFAEL DE ALMEIDA TRAVASSOS  
Data: 26/03/2024 16:58:17-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Felipe Queiroga Sarmiento Guerra (DCF/UFPB)

**Examinador externo**



Documento assinado digitalmente

FELIPE QUEIROGA SARMENTO GUERRA  
Data: 02/04/2024 08:27:10-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Catálogo na publicação  
Seção de Catalogação e Classificação**

G6331 Gomes, Victor Targino.

Implicações extrínsecas na viabilidade de  
pseudomonas aeruginosa exposta à irradiação de led azul  
/ Victor Targino Gomes. - João Pessoa, 2024.  
56 f. : il.

Orientação: Ulrich Vasconcelos da Rocha Gomes.  
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN.

1. Atividade bacteriana. 2. Energia luminosa. 3.  
Controle microbiano alternativos. I. Gomes, Ulrich  
Vasconcelos da Rocha. II. Título.

UFPB/BC

CDU 561.23(043)



Ata da Sessão Pública da Defesa de  
Dissertação de Mestrado do discente Victor  
Targino Gomes, candidato ao Título de  
Mestre em Biologia Celular e Molecular - Área  
de Concentração em Biologia Celular e  
Molecular.

1 Aos vinte e cinco dias do mês de março de dois mil e vinte e quatro, às dez horas,  
2 reuniram-se, na sala 01 do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IpeFarM)  
3 da UFPB, os membros da Banca Examinadora, composta pelos Professores Doutores:  
4 Ulrich Vasconcelos da Rocha Gomes (Orientador/Presidente), Rafael de Almeida  
5 Travassos (Examinador interno) e Felipe Queiroga Sarmiento Guerra (Examinador  
6 externo) constituída para examinar o candidato Victor Targino Gomes ao grau de  
7 Mestre em Biologia Celular e Molecular, área de concentração em Biologia Celular e  
8 Molecular. Iniciando a sessão, na qualidade de Presidente, o Professor Doutor  
9 Ulrich Vasconcelos da Rocha Gomes comunicou aos presentes a finalidade da reunião.  
10 A seguir, concedeu a palavra para que o candidato fizesse, oralmente, a exposição do  
11 trabalho intitulado "Implicações extrínsecas na viabilidade de *Pseudomonas aeruginosa*  
12 exposta à irradiação de LED azul". Concluída a exposição, o candidato foi arguido pela  
13 Banca Examinadora, que avaliou, julgou e proferiu o seguinte parecer: "aprovado". Ao  
14 final da sessão, o orientador preencheu a Ficha de Avaliação e emitiu o Relatório  
15 Final, para serem encaminhados ao Colegiado deste Programa para homologação. E,  
16 para constar, eu, Angela Camila Orbem Menegatti, Coordenadora do PPGBCM, lavrei  
17 a presente ata, que assino junto com o candidato e os membros da Banca  
18 Examinadora.

19

Documento assinado digitalmente  
 **ULRICH VASCONCELOS DA ROCHA GOMES**  
Data: 25/03/2024 15:50:05-0300  
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

Documento assinado digitalmente  
 **RAFAEL DE ALMEIDA TRAVASSOS**  
Data: 26/03/2024 16:56:59-0300  
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

---

**Ulrich Vasconcelos da Rocha Gomes**  
*Orientador / Presidente*

---

**Rafael de Almeida Travassos**  
*Examinador Interno*

Documento assinado digitalmente  
 **FELIPE QUEIROGA SARMIENTO GUERRA**  
Data: 02/04/2024 18:27:10-0300  
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

Documento assinado digitalmente  
 **VICTOR TARGINO GOMES**  
Data: 07/04/2024 22:52:09-0300  
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

---

**Felipe Queiroga Sarmiento Guerra**  
*Examinador Externo*

---

**Victor Targino Gomes**  
*Discente*

Documento assinado digitalmente  
 **ANGELA CAMILA ORBEM MENEGATTI**  
Data: 29/04/2024 20:57:00-0300  
Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

---

**Angela Camila Orbem Menegatti**  
*Coordenadora*

## AGRADECIMENTOS

Ao meu Bom Deus, que sempre me fortaleceu nas horas precisas, me fazendo ter discernimento, sabedoria, paciência (apesar de ser diminuta), fé e sentir amor em todos os que me rodeavam; agradeço pela vida e por mais uma etapa superada. Sou obra prima em Tuas mãos de artista. Um pingo de tinta em uma tela a se desenhar por Ti. Meu divino Amigo.

A minha família, por ser rocha de repouso e ancora. Meus pais, Adriana e Carlos, que são espelhos de pessoas e minha base humana. Aos meus irmãos, Pedro e André, que apesar da pluralidade no ser e no convívio, as personalidades únicas e fortes, nos fazíamos singulares ao existir, ao sentir e inspirar, uns aos outros. Foram meu refúgio e regozijo ao longo dessa vida e principalmente nessa caminhada.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ulrich Vasconcelos da Rocha Gomes, minha inspiração profissional e pessoal, pela paciência, conselhos, apoio, risos e colaborações. Nossos dias se tornam leves pelas pessoas que nos rodeiam, e disso tenho certeza, pois contribuição melhor não houve. Ao que iniciou como uma orientação, resultou em uma amizade enorme, firmada na reciprocidade, verdade e leveza. Sou eternamente grato em tê-lo conhecido e por haver me orientado por caminhos inéditos a minha caminhada profissional.

A minha madrinha, Priscila Ribeiro, ao qual levo no peito e na alma, fonte de amor fraterno que transparece paz, tranquilidade e afeto. Minha segunda mãe e irmã de vida, obrigado por ter estado ao meu lado em tantos momentos importantes e fazer o momento valer a pena e se tornar ainda mais especial. Sou imensamente e eternamente grato.

Aos meus amigos, aos vários, em especial: Samuel Fernandes, Joyce Eduarda, Marina Florencio, Keila Seabra, Joane de Lourdes, por terem estado presentes em minha vida e apoiado de todas as formas possíveis, as mais diversas e aleatórias.

Amigos que a vida profissional e acadêmica me presenteou, em especial aos colegas da Faculdade Internacional da Paraíba (FPB), atravessamos momentos únicos da tristeza até a alegria, em uma sintonia única.

Aos que, como tudo nesse mundo, findaram e concluíram sua história nesse universo. Tudo de belo, inclusive as estrelas, se esvaem, e sua falta ressona em todo o cosmo, acarretando mudanças e novas lacunas de vida. Minha tia Lúcia Targino e ao meu amigo/IRMÃO Saulo Fernandes, por terem confiado em mim, quando nem mesmo eu confiei; me dado abrigo, quando me negaram; por torcerem por mim e se orgulhado, mesmo quando a história ainda decorria, levo-os dentro mim por toda minha finitude mundana, e eternidade da alma. Meu sincero, triste e alegre: Muito obrigado.

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia Ambiental (LAMA), por tantos risos, trocas de conhecimento, apoio em experimentos e horas descontraídas em loucura nos intervalos dos testes, quebrando um pouco a solidão da ciência.

Aos professores do Centro de Biotecnologia (CBiotec), em especial os Profs. Rafael Travassos, Ian do Amaral e Sildivane Valcacia, por me inspirarem no agir, ensinar; pelas conversas e oportunidades cedidas em laboratório.

Aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular e a Universidade Federal da Paraíba (UFPB), por todo aprendizado e vínculos criados.

GOMES, Victor Targino. Implicações extrínsecas na viabilidade de *pseudomonas aeruginosa* exposta à irradiação de LED azul. João Pessoa, 2024. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular) – Universidade Federal da Paraíba, 2024.

## RESUMO

A utilização de métodos de controle microbiano alternativos aos tradicionais, que impactem em menor dano ao ecossistema, se fazem importantes no mundo contemporâneo, principalmente ao que remete ao controle de biofilme formado pela *Pseudomonas aeruginosa*. A energia luminosa da LED de alta potência remete sucesso nas competências de sustentabilidade e controle microbiano. Este trabalho objetivou avaliar o efeito da irradiação de LED sobre a viabilidade celular séssil e planctônica de isolados selvagens de *P. aeruginosa*. Analisando o contexto de meios e a desenvoltura em meio aos nutrientes disponíveis, fenotipagem de formação de biofilme e síntese de piocianina. Foram testados quatro isolados selvagens obtidos de meios imersos a agentes degermantes e desinfetantes, inoculados em caldo BHI e Mineral, acrescidos de fontes de carbonos. Após incubação, avaliados em adesão, percentual de inibição e injúria subletal. Também avaliados em exposição à energia luminosa da LED de alta potência por intervalos de tempo, remetendo a motilidade (*Twitching*, *Swarming*, *Swimming*), síntese de piocianina, percentual de inibição após exposição e fenotipagem pelo agar vermelho do Congo. O percentual de inibição em quase todos os testes remete a adesão forte e percentual de inibição fraco, com 0% de inibição a maior de 27,2%. A piocianina foi sintetizada em maior quantidade, 12,56 µg/L pelo isolado 002B e 11,92 µg/L atribuído ao 002A após 2 horas de exposição à irradiação luminosa emitindo cerca de 487,011 mW/cm<sup>2</sup>, como também as três modalidades de motilidade apresentaram aumentada em relação ao controle. Observou-se a ação injuriante notável e acentuada às células, mas com premissa de reparo e fenotipagem branda, remetendo a subjetividade de crescimento em meio. Conclui-se que a ação da LED de alta potência apresenta maiores danos celulares com menor tempo de exposição.

**Palavras-chave:** Atividade bacteriana, Energia luminosa, Piocianina, Vida séssil, Vida plantônica

GOMES, Victor Targino Extrinsic implications on the viability of *Pseudomonas aeruginosa* exposed to blue LED irradiation. João Pessoa, 2024. Masters Dissertation (Programme of Post-Graduation in Cellular and Molecular Biology) – Universidade Federal da Paraíba, 2024.

### ABSTRACT

The use of alternative microbial control methods to the traditional ones, which cause less damage to the ecosystem, is important in the contemporary world, especially when it comes to controlling biofilm formed by *Pseudomonas aeruginosa*. The light energy of high-power LEDs represents success in sustainability and microbial control skills. This work aimed to evaluate the effect of LED irradiation on the sessile and planktonic cell viability of wild isolates of *P. aeruginosa*. Analyzing the context of media and resourcefulness in the midst of available nutrients, phenotyping of biofilm formation and pyocyanin synthesis. Four wild isolates obtained from media immersed in degerming and disinfectant agents were tested, inoculated in BHI and Mineral broth, with added carbon sources. After incubation, adhesion, percentage of inhibition and sublethal injury were evaluated. Also evaluated in exposure to light energy from high-power LED for time intervals, measuring motility (Twitching, Swarming, Swimming), pyocyanin synthesis, percentage of inhibition after exposure and phenotyping by Congo red agar. The percentage of inhibition in almost all tests indicates strong adhesion and a weak percentage of inhibition, with 0% inhibition being the highest of 27.2%. Pyocyanin was synthesized in greater quantities, 12.56 µg/L by isolate 002B and 11.92 µg/L attributed to 002A after 2 hours of exposure to light irradiation emitting around 487.011 mW/cm<sup>2</sup>, as well as the three motility modalities were increased in relation to the control. A notable and accentuated damaging action on cells was observed, but with the premise of repair and mild phenotyping, referring to the subjectivity of growth in the medium. It is concluded that the action of high-power LED causes greater cell damage with shorter exposure time.

**Key-words:** Bacterial activity, Light energy, Pyocyanin, Sessile lifestyle, Planktonic lifestyle

## **LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 01:</b> Gênese e estágios do biofilme	<b>09</b>
<b>Figura 02:</b> Esquema funcional de semicondutores P e N da LED	<b>10</b>
<b>Figura 03:</b> Representação da capela luminosa e suas dimensões	<b>14</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01:</b> Percentual de inibição de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em caldo BHI com adição de 0,1% e 0,5 % da fonte de carbono	<b>18</b>
<b>Tabela 02:</b> Percentual de inibição de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em caldo nutriente com adição de 0,1% e 0,5% da fonte de carbono	<b>19</b>
<b>Tabela 03:</b> Percentual de inibição de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em caldo BHI com adição de 0,1% e 0,5% da fonte de carbono	<b>19</b>
<b>Tabela 04:</b> Percentual de inibição de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em caldo mineral com adição de 0,1% da fonte de carbono	<b>20</b>
<b>Tabela 05:</b> Motilidade <i>twitching</i> de 24 e 48 horas após exposição à irradiação de LED de 460 nm (incubação no escuro)	<b>20</b>
<b>Tabela 06:</b> Motilidade <i>swimming</i> de 24 e 48 horas após exposição à irradiação de LED de 460 nm (incubação no escuro)	<b>21</b>
<b>Tabela 07:</b> Motilidade <i>swarming</i> de 24 e 48 horas após exposição à irradiação de LED de 460 nm (incubação no escuro)	<b>21</b>
<b>Tabela 08:</b> Concentração de piocianina ( $\mu\text{g/L}$ ) em intervalos de irradiação da energia luminosa, após incubação de 48 horas em estufa bacteriológica	<b>22</b>
<b>Tabela 09:</b> Percentual de inibição do biofilme da solução cristal violeta-etanol, representando as células em biofilme após exposição à irradiação da LED de alta potência a 460nm	<b>23</b>
<b>Tabela 10:</b> Análise fenotípica de formação de biofilme em 2 intervalos de tempo, incubados por 24 horas	<b>24</b>
<b>Tabela 11:</b> Injúria subletal em função da fonte de carbono a 0,1%	<b>25</b>
<b>Tabela 12:</b> Injúria subletal em fonte de carbono a 0,5%	<b>25</b>

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

BHI	<i>Brain Heart Infusion Broth</i>
CRA	<i>Congo red agar</i>
CTS	Sistema de Dois Componentes
eDNA	Ácido Desoxirribonucleico extracelular
ERO'S	Espécies Reativas de Oxigênio
LAMA	Laboratório de Microbiologia Ambiental
LED	<i>Light Emitting Diode</i>
ME	Matriz Extracelular
PCA	Ácido Fenazino1-carboxílico

# Sumário

1.	<b>INTRODUÇÃO</b>	6
2.	<b>OBJETIVOS</b>	9
2.1	Objetivo geral	9
2.2	Objetivos específicos	9
3.	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b>	10
3.1	Pseudomonas aeruginosa	10
3.3	Light Emitting Diode (LED)	12
3.4	Ação da LED sob os microrganismos	14
4.	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	16
4.1	Local da pesquisa	16
4.2	Microrganismos	16
4.3	Cultivo e preparação do pré-inóculo dos microrganismos	16
4.4	Atividade da irradiação de LED sobre células sésseis e planctônicas	16
4.4.3	Enumeração das células planctônicas	18
4.4.4	Quantificação do biofilme e dano subletal	18
4.4.5	Produção e quantificação de piocianina	19
4,4,6	Ensaio de motilidade	19
5.4.7	Fenotipagem das bactérias produtoras de biofilme	20
5	<b>RESULTADOS</b>	21
5.2	Células planctônicas	22
5.3	Motilidades	23
5.3.3	<i>Swarming</i> – Motilidade por flagelos e fimbrias	24
5.4	Síntese de piocianina	25
5.5	Inibição do biofilme sob irradiação da LED 460 nm	26
5.6	Fenotipagem das colônias em placa	26
5.7	Injúria subletal	27
6.	<b>DISCUSSÃO</b>	29
6.2	Motilidade e fenotipagem mediante exposição à energia luminosa da LED de 460nm	32
7.	<b>CONCLUSÃO</b>	36
	<b>APENDICE A - Leituras da densidade ótica</b>	<b>48</b>



## 1. INTRODUÇÃO

*Pseudomonas aeruginosa* é um bacilo Gram-negativo aeróbio, não fermentador, produtor de pigmento fluorescente, catalase e oxidase positivo (Algammal *et al.*, 2020), comumente isolada do solo, mas também pode ser isolada da água, plantas e animais (Diggle; Whiteley, 2020). No âmbito da saúde humana, coloniza o trato respiratório em pacientes imunocomprometidos hospitalizados, sendo causa de alto número de morbidade e mortalidade (Martínez-Alemán *et al.*, 2020).

*P. aeruginosa* possui a capacidade de se arranjar em forma de biofilme, estilo organizacional em que as células microbianas se aderem a uma superfície e passam a compartilhar estruturas (Paula; Hwang; Koo, 2020), além de possibilitar a transferência horizontal ou vertical de genes, devido a captação de materiais genéticos dispersos em meio devido a lise por injúrias, e substâncias relacionadas com a resistência (Qiu *et al.*, 2018).

A piocianina é um metabólito secundário de coloração azulada, secretada pela *P. aeruginosa* durante a fase estacionária. Sua síntese é mediada por mecanismos dependentes de densidade celular, ou *quorum-sensing* (Ozidal, 2019; Price-Whelan; Dietrich; Newman, 2007). A piocianina pode se apresentar na forma oxidada ou reduzida. Em meios aeróbicos, a piocianina doa um elétron ao oxigênio molecular ( $O_2$ ), formando superóxido ( $O_2^-$ ). Em meios com condições contrárias, a piocianina é o principal aceptor de elétrons advindos do NADH, fazendo com que a *P. aeruginosa*, em condições restritas de oxigênio, consiga persistir (KOOCHANA *et al.*, 2019; FAN *et al.*, 2020). Por sua característica oxidorreductora, a piocianina permite a formação de espécies reativas de oxigênio no meio intracelular de organismos eucariotos, além de garantir o antagonismo microbiano no meio no qual está sendo liberada (Islam *et al.*, 2018; Wongsaroj *et al.*, 2018).

Métodos de controle do crescimento microbiano são aplicados com a premissa de reduzir os microrganismos a um número controlável ou causar a morte das células (Liu *et al.*, 2019). Algumas técnicas apresentam limitações, que ocorrem pelo processo utilizado, se físico ou químico (Huo *et al.*, 2020), bem como danos ocupacionais (Alshammari; Alhussain; Rizk, 2021), tempo de aplicabilidade e duração do procedimento (Cumbo *et al.*, 2019), e desequilíbrio do ecossistema ocasionado pelo descarte inadequado das substâncias e/ou dos equipamentos utilizados (Datta; Mohi; Chander, 2018).

A tecnologia LED, sigla inglesa para *Light Emitting Diode*, é um sistema de iluminação considerado novo e vantajoso em razão das: alta durabilidade, disponibilidade de ampla faixa de comprimentos de onda, baixo consumo de energia e menos emissão de

---

poluentes secundários (Mukunda; Joshi; Mahato, 2020). Além disso, a aplicabilidade

---

da energia luminosa de LED como método de controle microbiano se tornou alternativo aos tratamentos tradicionais, uma vez que o dano gerado às colônias e às células planctônicas é alto (Cheng *et al.*, 2020; Martegani *et al.*, 2020).

Por mais que haja diversas formas de controle microbiano sendo empregadas atualmente, a maioria resulta em danos secundários, seja pela exposição de profissionais, seja pelo desgaste nos instrumentos submetidos à descontaminação, e em complemento, seja pela perturbação do ambiente (Ling *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2020). A LED de alta potência possui vantagens consideráveis no quesito segurança, eficácia, custo-benefício. Ao que compete a eficácia na inativação da formação do biofilme e na diminuição da taxa de adesão se torna importante avaliar e explorar o efeito básico da luz em seus diversos comprimentos de onda, bem como mecanismos de fotoproteção intrínsecos à *P. aeruginosa*.

Com métodos de controle microbianos tradicionais que, apesar de alto percentual de eficácia comprovada, afetam de diversas formas materiais, profissionais, meio ambiente e outros componentes expostos; tendo a utilização de forças físicas, agentes químicos isolados ou conjugados com fatores físicos; formas alternativas se fazem cada vez mais necessárias. A utilização da LED de alta potência para controle da formação de biofilme sem a utilização de agentes fotossensibilizantes se torna perspectiva emergente de avanço, no que diz respeito a manutenção da qualidade de materiais e do âmbito ocupacional, menos resíduos poluentes liberados na natureza, melhor economia e acessibilidade por diversos setores. Bem como a avaliação macro da ação da LED nos microrganismos, entender o efeito de tal agente e os fatores intrínsecos e extrínsecos na formação do biofilme e na fisiologia bacteriana garante adequação potencial e otimização da metodologia, para que mecanismos de resistência sejam controlados e a aplicação do método se torne eficiente e aplicável a todos setores que necessitarem.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito da irradiação de LED sobre a viabilidade celular séssil e planctônica de isolados selvagens de *P. aeruginosa*.

### 2.2 Objetivos específicos

- Determinar a perturbação das células planctônicas sob ação da irradiação de LED;
- Avaliar a perturbação da formação do biofilme sob a irradiação de LED;
- Extrair e quantificar a piocianina e correlacionar a concentração do pigmento com a taxa de inibição do biofilme;
- Apurar a ação da irradiação sobre a motilidade;
- Analisar o impacto da irradiação da LED sob a fenotipagem de linhagens selvagens em placa.

### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 *Pseudomonas aeruginosa*

Sendo umas das espécies bacterianas com alto impacto em diversos setores da sociedade, *Pseudomonas aeruginosa* é caracterizada por ser um bacilo não fermentador, catalase positiva, aeróbio, ubíquo, apresenta fácil adaptação as mais diversas condições e oscilações térmicas, resistindo a temperaturas amenas até mais elevadas (Bhardwaj *et al.*, 2021). Patógeno oportunista em âmbito hospitalar; contaminante alimentar; de grande interesse de elucidação nas vertentes ambientais, seus fatores de virulência e de resistência são inúmeros, até então não compreendidos totalmente (Tang *et al.*, 2021; Virieux-Petit *et al.*, 2022). Seu crescimento em placa é marcado por colônias isoladas arredondadas e lisas, além de característico eflúvio que lembra o doce odor de uvas (Pellissier *et al.*, 2021; Ali *et al.*, 2022).

Possui capacidade de síntese de fenazinas, pigmentos fluorescentes em luz UV, dentre eles a piocianina que apresenta cor azul enérgico, conferido a bactéria capacidade de oxidorredução, reduzindo o oxigênio (O<sub>2</sub>) rapidamente em superóxido ou peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Sua síntese, junto a outros fatores conferem a *P. aeruginosa* maneiras de sobreviver em ambientes abióticos ou que a exponha a agentes tóxicos, fazendo com que haja a colonização e consequente injúria ao loco ou sítio e adjacentes (Bogiel *et al.*, 2021; Ernst *et al.*, 2022).

Fatores de injúria ao biofilme e/ou às células bacterianas fazem com que mecanismos de síntese sejam ativados e o pigmento seja excretado para o meio externo (Maillard; Pascoe, 2023). À sua síntese, a piocianina apresenta duas subunidades de N-metil-1- hidroxifenazina, o ácido corísmico serve como precursor; sendo convertido em Ácido Fenazino1-carboxílico (PCA) (García-Reyes; Soberón-Chávez; Cocotl-Yanez, 2020). Tal síntese advém da ação de dois operons (*phzA1B1C1D1E1F1G1 ephzA2B2C2D2E2F2G2*) expresso por sete genes. Sugere-se ainda que dois passos são seguidos a partir do PCA, tendo a expressão e regulação dos genes *phzM* e *phzS*; o ácido 5- metilfenazina-1-carboxílico betaína (MPCBA) é originado pela Metiltransferase fenazina- específica (*phzM*), em seguida é catalisado pela Mono-oxigenase flavina dependente (*phzS*); a hidroxilação da betaína da MPCBA em 1-hidróxi-5 metil fenazina resulta na piocianina (Montelongo-Martínez *et al.*; 2023; Soto-Aceves *et al.*, 2022).

Outros pigmentos também podem ser sintetizados pela bactéria: Pioverdina – Cor verde, sendo sideróforo em ambiente onde exige a depleção do ferro exógeno à bactéria (Gillani *et al.*, 2023); Fluoresceína - Cor amarela, direcionada ao aspecto fisiológico bacteriano excelente, sendo fluorescente (Shekarbeygi, 2020);

Piorrubina A e B – Cor de ferrugem, ação semelhante a outro pigmento, sideróforo atuante ao desempenho da formação do biofilme, tal coloração remete a oxidação da molécula (Urganci *et al.*, 2022); Piomelanina – Cor marrom claro, atuante como mecanismo de fotoproteção e ação inibitória a agentes oxidativos (Bayram, 2021). Cada qual sintetizado pela necessidade fisiológica de estresse, limitação e competição por substratos (Rani; Azmi, 2019).

Em vertentes de estudos de controle e interação, a análise de síntese em ambiente laboratorial se dá sob meios com baixa de nutrientes e condições estressantes à célula bacteriana e o biofilme (Fazeli-Nasab *et al.*; 2022). A suplementação de glicerol no meio e a diminuição dos íons  $PO_4^{3-}$  e  $CA^{2+}$ , contribuem para a síntese do pigmento e sua difusão na placa. Podendo ocorrer sua visualização em meio de 48 a 72h e odor detectável (Chakraborty *et al.*, 2019).

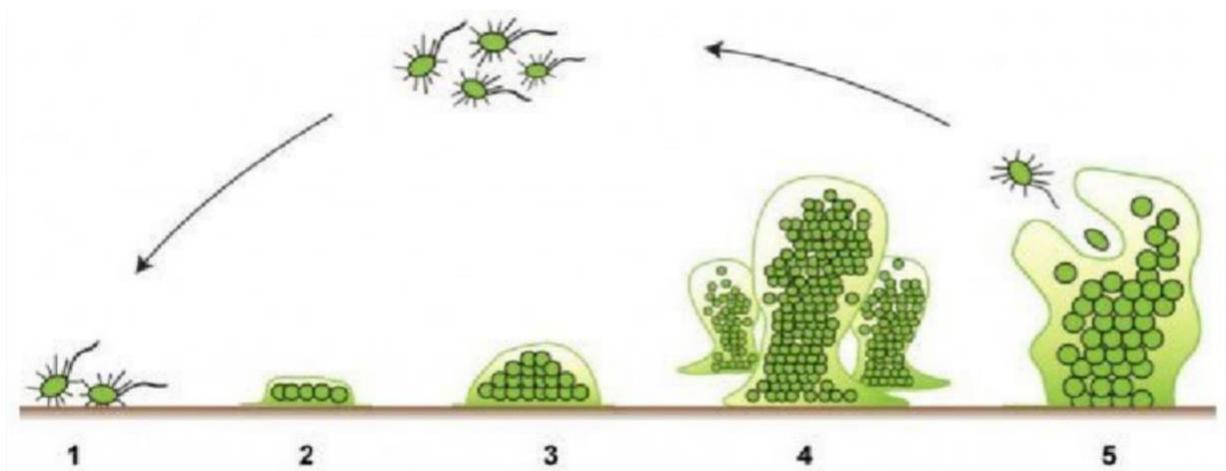
### 3.2 Biofilme

Como forma de proteção as mais diversas condições e/ou agentes, alguns microrganismos desenvolveram formas de se proteger de possíveis agressões. O biofilme é caracterizado por agregado microbiano, tais microrganismos envolvidos e conectados por uma matriz extracelular (ME) autoproduzida, matriz essa composta por polissacarídeos, proteínas, alguns lipídios e DNA extracelular (eDNA); possibilitando também a comunicação microbiana, reparo a regiões afetadas e manutenção da ME (Labadie *et al.*, 2021; Rather *et al.*, 2021; Vandana, 2022).

A formação do biofilme é marcada por processos sutis, mas com grau de precisão e complexidade tremendo. À sua gênese, as células microbianas planctônicas a depender de interações e ambiente favorável, meio aquoso com disponibilidade de nutrientes, inicia o processo de adesão, ainda de forma reversível, que com o aumento da agregação e síntese da ME mediada pelo *Quorum-sensing*. A superfície de adesão também compreende vital fator, tanto na formação do biofilme, como na colonização; estando envolvidas a rugosidade e jogo de carga. Então as células planctônicas se fixam à superfície através da motilidade bacteriana e o próprio movimento no meio, a gravidade e a força dos fluídos circundantes estão envolvidas diretamente nesse processo, e no desenvolvimento do biofilme (Petrova; Sauer, 2016). Uma vez aderidas e acondicionadas, forças físicas naturais influenciam na dinâmica, sendo a força de atração de van der Waals, forças eletrostáticas e interações hidrofóbicas, fatores importantes de transição da fase reversível para a fase irreversível, podendo haver repulsão da célula bacteriana, camada condicionadora e a superfície (Sauer *et al.*, 2022).

Estando cessada as forças físicas, as células planctônicas se aderem umas às outras, e estas à superfície de adesão, ligadas firmemente e irreversivelmente. Com os substratos disponíveis no ambiente e/ou interação com outros microrganismos, o biofilme forma uma estrutura semelhante a um cogumelo, caracterizando sua forma sésil e irreversível (Mancera *et al.*, 2021; Scribner *et al.*, 2022). Ao aumento do tamanho, influenciado por fatores ambientais, como: descamação, erosão, abrasão ou injúria química; e por fatores fisiológicos: limitação de nutrientes dispersos nos fluídos, efeitos de cisalhamento, proteínas secretoras e repressão catabólica, a estrutura se rompe ocorrendo a eliminação de células filhas ativas e viáveis a crescimento (Ghasemi; Chang; Sivaloganathan, 2021). A perda de nutrientes e esgotamento de  $O_2$  contido na parte inferior da estrutura, como o inverso, ao aumento súbito de nutrientes no líquido ou na ME, contribuem fortemente para a violação da estrutura e então os microrganismos são liberados no meio externo, com alto potencial de formação de novos biofilmes, como demonstrado na Figura 1. A formação de biofilme não se restringe apenas ao ambiente natural, mas sim as mais diversas projeções ambientais, desde que as condições sejam necessárias para formação e manutenção (Brown *et al.*, 2022).

**Figura 01:** Gênese e estágios do biofilme



**Fonte:** adaptado de Emery Pharma (2019)

### 3.3 Light Emitting Diode (LED)

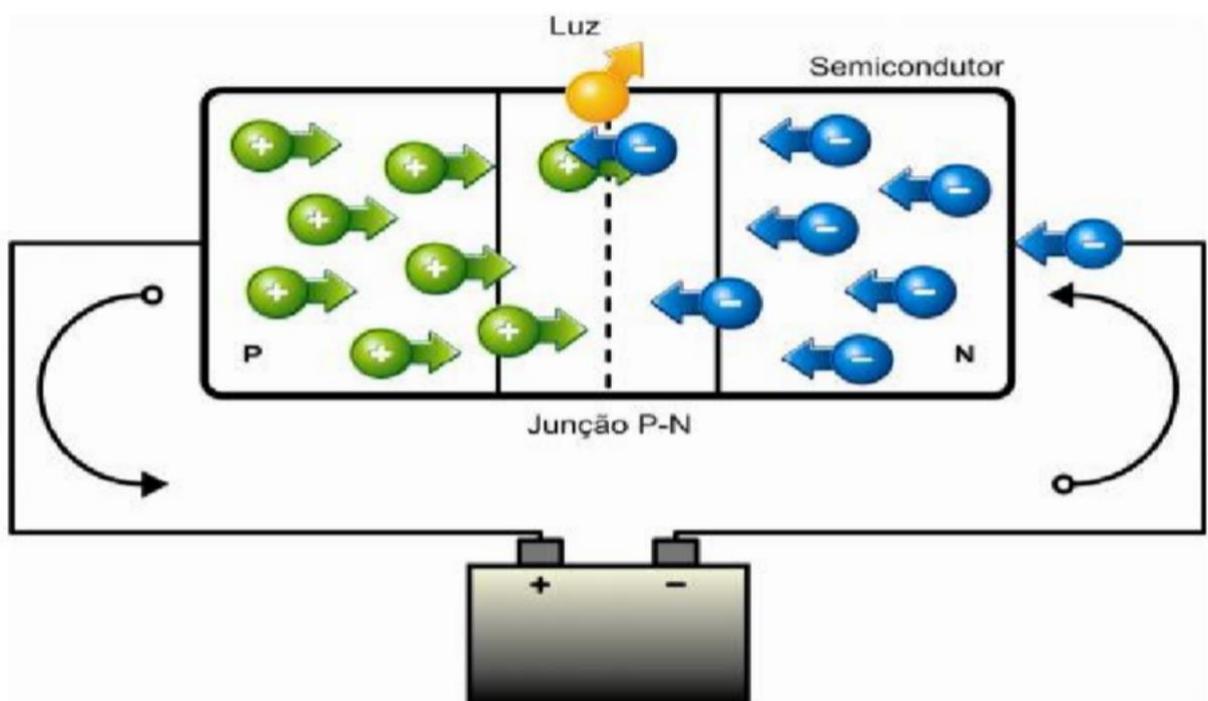
A lâmpada de LED (*Light Emitting Diode*), consiste em um sistema de iluminação por eletroluminescência, sem a utilização de gases tóxicos como os tradicionais métodos de luminosidade (Pode, 2020). Descoberta em 1961 por Nick Holonyak Jr°, em que se observou

que gases contidos em diodos, quando conectados a uma corrente elétrica, emitiam um feixe vermelho de luz não perceptível ao olho humano; um ano após, 1962, foi possível evidenciar um raio de luz vermelha no comprimento espectral visível, e este estando mantido por muito tempo, sendo direcionado para estado de funcionamento de eletrônicos. Em 1990, a luz de LED azul teve sua intensidade aumentada, tornando-se de alta potência, já que esta apresentava uma baixa intensidade. Desde então, foi cada vez mais aperfeiçoada e os diversos comprimentos de onda são empregados, desde o ultravioleta até o infravermelho (Palucka, 2012; Canale, 2023).

Diodo Emissor de Luz, consiste na projeção de dois semicondutores, P e N, aos quais são adicionadas “impurezas” elementos químicos, como o silício ou germânico que causam transformação estruturais em cada (Xiang et al., 2021). O semicondutor P é caracterizado por apresentar lacunas em seu interior, pelo silício não conseguir realizar ligações quadrivalentes, tornando-se a região receptora; já o semicondutor N é tido como região doadora, devido impurezas doadoras reestruturar seu interior em forma de rede e gerar um excesso eletrônico, sendo o fósforo a impureza adicionada.

Quando sujeito a tensão e direcionamento específico de energia a junção P e N, os elétrons migram para a porção P e a acoplagem a cada lacuna se faz, essa recombinação resulta na liberação de fótons, representado na Figura 02.

**Figura 02:** Esquema funcional de semicondutores P e N da LED



**Fonte:** adaptado de Project Management Knowledge Base (2006).

Como a dopagem de impurezas em ambas as porções é controlada, o comprimento de onda pode ser selecionado estando dentro da densidade ótica visível, como também sua frequência e potência, fazendo-se uma ferramenta versátil e de certa forma prática (Wang *et al.*, 2021; Lian *et al.*, 2022).

Desenvolvido com o objetivo de otimizar o sistema de iluminação atual, tendo como diferencial a diminuição do consumo de eletricidade, conseqüentemente gerando mais economia; alta durabilidade quando comparado com as lâmpadas que utilizam gases tóxicos para gerar luz; menos impacto ambiental com poluente danosos ao ambiente e a saúde dos seres vivos; modulação do comprimento de onda possibilitando a utilização de comprimentos de luz visível e conseqüentemente aplicações em diversas áreas (Füchtenhans; Grosse; Glock, 2021; Katzin; Marcelis; Mourik, 2021). A aplicação da LED se faz versátil à medida que o comprimento de onda pode ser modulado, sendo inserido à necessidade do setor e na perspectiva de redução de impactos ambientais. A luz emitida é caracterizada como de alta potência e regulada de menos a mais enérgica, ao que quanto maiora frequência das ondas mais energia é liberada (Alotaibi; Bukhari, 2021; Ding; Hu, 2021).

### **3.4 Ação da LED sob os microrganismos**

A LED é empregada em vários setores, devido sua versatilidade, mais ainda, quando se trata da microbiologia, seja para estimular crescimento de microrganismos, síntese de metabólitos, produção de alimentos e seus derivados, como também para o controle de microrganismos em diversas situações e áreas (D'souza *et al.*, 2015; Firouz; Mohi-Alden; Omid, 2021; Rather *et al.*, 2023).

Os efeitos nas estruturas das células microbianas são variáveis e sofrem impactos de diversos fatores impostos ao meio (Ren *et al.*, 2022; Zahid *et al.*, 2022). A luz ao ser direcionada sofre ação da ótica, sendo a refração e reflexão os dois principais princípios que interferem na intensidade da luz, sendo assim, a energia sofre alternância desde a sua emissão da fonte luminosa até a dispersão no meio onde estão contidos os microrganismos (Uppinakudru *et al.*, 2024; Song *et al.*, 2023).

O aquecimento do meio pela energia emitida pela irradiação da LED no comprimento de onda adequado, de forma controlada, favorece o desenvolvimento dos microrganismos, otimizando o processo desenvolvidor celular, otimizando o metabolismo e a depender do

intuito, produção de metabólitos ou pigmentos almeçados pela indústria (Orlandi *et al.*, 2022; Pereira; Otero, 2021; Silva *et al.*, 2024).

Devido ao aquecimento e estímulo luminoso, a célula microbiana tende a acelerar o metabolismo, consumindo mais substratos e nutrientes disponíveis, fazendo com que haja liberação de metabólitos, aumento de eDNA de biofilme, fermentação de meios ou alimentos, como também o estresse gerado aumenta a quantidade de pigmentos bacterianos, quando comparado com uma condição escura (Feng *et al.*, 2021; Chen *et al.*, 2022).

O impacto da energia luminosa intensa nos microrganismos remete desde danos à membrana celular, como na transcrição gênica e regulação metabólica (Gallé *et al.*, 2021). A luz incidente ao meio de crescimento e desenvolvimento dos microrganismos faz com que ocorra um desequilíbrio metabólico, o consumo de substratos para manutenção da comunidade sésil e/ou celular, em concomitante ao estresse gerado pela energia luminosa irradiada diretamente na estrutura celular como também no meio, faz com que, em primeiro momento, enzimas de controle de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO's) não consigam conter seu aumento exponencial, havendo crescimento da concentração intracelular de tal (Kim; Kan, 2021; Pousty *et al.*, 2021).

Danos à membrana e parede celular começam a acontecer, interferindo no equilíbrio osmótico, podendo gerar a morte dos microrganismos. Prejuízos ao material genético também acontecem, impactando na síntese de proteínas e enzimas importantes para o desenvolvimento e reparo celular; como no caso da enzima superóxidodimutase que controla o superóxido, ERO's que impacta de forma significativa o desenvolvimento celular. Ressaltando que essas alterações não necessariamente remetem a ação de substâncias adicionais, que tem a função de sofrer excitação pela energia luminosa e potencializar o dano, mas sim, apenas a irradiação da LED de alta potência, apresentando propriedades antimicrobiana por afetar a sua fisiologia (Hyun; Lee, 2020; Wang *et al.*, 2020; Rapacka-Zdończyk *et al.*, 2021).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Local da pesquisa

O estudo foi realizado no Laboratório de Microbiologia Ambiental (LAMA) no Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba - UFPB.

### 4.2 Microrganismos

Foram utilizados 04 isolados selvagens de *P. aeruginosa*, 002A, 002B, 003A, e 003B, mantidas no acervo de microrganismo do LAMA e cadastrados no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob códigos: ADBF7C7; A630377; AEC4165; e A473A1B. Para fins de comparação foi utilizada a linhagem padrão *P. aeruginosa* UFPEDA 416.

### 4.3 Cultivo e preparação do pré-inóculo dos microrganismos

Os isolados de *P. aeruginosa* foram incubados em ágar nutriente por 24 horas a 30°C. Em seguida foi realizada uma suspensão de células em NaCl a 0,9%, com turbidez padronizada pelo tubo nº 0.5 da escala de MacFarland.

### 4.4 Atividade da irradiação de LED sobre células sésseis e planctônicas

#### 4.4.1 Análise *in vitro* da formação do biofilme

O teste inicialmente identificou a fonte de carbono que forneceria melhor condição de crescimento e maior adesão de *P. aeruginosa* na superfície de poliestileno. Em seguida, o ensaio de inibição da formação biofilme foi conduzido com o substrato adicionado ao meio.

Alíquotas de 100 µL da suspensão de *P. aeruginosa* foram adicionados em microtubos com capacidade para 1,5 mL contendo 900 µL de caldo *Brain Heart Infusion Broth* (BHI) adicionado com citrato, glutamato, lactato ou sacarose 0,1 e 0,5 % (m/v). O controle do teste foi utilizado apenas o caldo BHI. Em seguida foram incubados por 72h à 29±1°C.

Para verificar o percentual de adesão das células em biofilme, foi realizado o teste do cristal violeta (Ommen *et al.*, 2017). Inicialmente, o sobrenadante dos microtubos foi reservado para o teste de atividade sobre células planctônicas, e as paredes dos microtubos

foram lavadas com água corrente e deixadas para secar por 1 hora. Em seguida, foi adicionado 1000  $\mu\text{L}$  da solução de cristal violeta e após 20 minutos, a solução de cristal violeta foi desprezada e o excesso removido com água corrente, preenchendo-se os microtubos com 1000  $\mu\text{L}$  de etanol absoluto. A absorbância da solução cristal violeta-etanol foi medida em um espectrofotômetro (Abs) com  $\lambda = 590 \text{ nm}$  (Kasvi, 320-1020 nm, 4NM). O percentual de adesão foi calculado empregando a equação:

$$\% \text{ adesão} = [(Abs - Abs_{\text{controle}}) \div Abs] \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

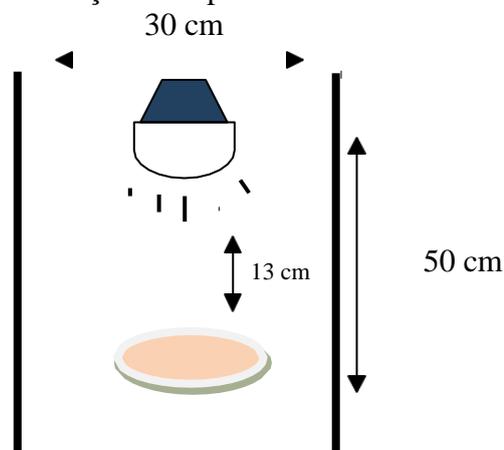
Os experimentos foram realizados em triplicata.

#### 4.4.2 Inativação da *P. aeruginosa* com irradiação de lâmpada de LED

A partir de células de cultivo recente foram preparadas suspensões em solução tampão fosfato com turbidez padronizada. Alíquotas da suspensão foram dispostas em uma placa de Petri com diâmetro conhecido, representado na Figura 03, e durante 4h será exposta à diferentes comprimentos de onda à temperatura ambiente.

A energia foi emitida por uma lâmpada de LED de alta potência (G-light, A60, China) com luz RGB 3W 60Hz e base E27, disposta à uma distância conhecida (h) do centro da placa. A cada intervalo de 30 minutos, alíquotas de 100  $\mu\text{L}$  foram tomadas para os demais ensaios (Kumar *et al.*, 2017).

**Figura 03:** Representação da capela luminosa e suas dimensões



Fonte: Autoria própria (2023)

A energia da luz irradiada para as células (P), expressa em mW/cm<sup>2</sup>, foi calculada pela equação:

$$P = (2\pi I_0 h^2) \times [1 - (1 / v(1+(r/h)^2))] \quad (\text{Eq. 2})$$

Em que,  $I_0$  = comprimento de onda (nm),  $h$  = altura da fonte luminosa ao centro do microtubo; e  $r$  = raio do microtubo. O teste foi realizado em triplicata (Kumar *et al.*, 2017).

#### 4.4.3 Enumeração das células planctônicas

O efeito da irradiação sobre as células planctônicas foi determinado pela medida da densidade óptica do sobrenadante a 620 nm (Larik *et al.*, 2016) e comparada ao controle. A redução maior que 40% das células, comparada ao controle foi interpretado com efeito antimicrobiano (Kwasny e Opperman, 2010).

#### 4.4.4 Quantificação do biofilme e dano subletal

O teste foi realizado com o objetivo de não superestimar os resultados do ensaio *in vitro* da formação do biofilme. Alíquotas de 100 µL foram transferidas para tubos de microdiluição contendo caldo BHI e caldo mineral com a melhor suplemento identificado no item 5.4.1. Em seguida, os sistemas foram incubados à 29±1°C por 96h. A cada intervalo de 24h foi realizado do cristal violeta. O controle do teste foi utilizado sem exposição à lâmpada de LED.

Após o teste do cristal violeta ser realizado, a taxa de inibição do biofilme foi calculada empregando a equação:

$$\% \text{ inibição} = 1 - [(ODT - ODC) \div (ODM - ODC)] \times 100 \quad (\text{Eq. 3})$$

Em que:

ODT = média da densidade óptica do tratamento com a LED;

ODC= média da densidade óptica do controle;

ODM = média da densidade óptica do meio (PAGANO et al, 2004).

A classificação da inibição da adesão foi considerada como fraca, quando  $< 40\%$ , moderada, se  $\leq 40$  e  $\geq 80\%$  e forte, se  $> 80\%$  forte (Rodrigues *et al.*, 2010).

Para verificar o dano subletal, os valores da densidade óptica do teste utilizando caldo BHI e caldo mineral suplementado com citrato, glutamato, lactato ou sacarose (0,1 e 05% m/v). A viabilidade celular foi conhecida aplicando a equação:

$$\% \text{ dano subletal} = 100 \times (1 - (\text{OD}_{\text{BHI}} \div \text{OD}_{\text{MS}})) \text{ (Eq. 4)}$$

Em que  $\text{OD}_{\text{BHI}}$  = média da densidade óptica determinada no caldo BHI e  $\text{OD}_{\text{MS}}$  = média da densidade óptica no caldo mineral suplementado.

Quanto mais alto o percentual, mais danos irreversíveis causados pela exposição à energia luminosa foram detectados (Kumar *et al.*, 2017).

#### 4.4.5 Produção e quantificação de piocianina

Uma alíquota de 100  $\mu\text{L}$  da suspensão inicial foi incubada por espalhamento na superfície do agar cetrimida e após incubação por 24-48h à  $29 \pm 1^\circ\text{C}$ . Em seguida, a superfície foi lavada com água destilada e o agar cortado em pequenos cubos e transferidos para tubos contendo 20 mL de clorofórmio. Após agitação por 10 minutos foram adicionados 10 mL de solução de HCl 0,2 mol/L e após nova agitação, a solução foi neutralizada com tris-HCl 1,5 mol/L até retomar a cor azul e o valor da absorbância a 520 nm foi aplicada a equação de uma curva padrão. Assim, a concentração de piocianina foi conhecida pela relação entre a área do cubo e a área da placa (Abou *et al.*, 2018).

#### 4.4.6 Ensaios de motilidade

Os ensaios de motilidade compreenderam os testes: verificação de células *swimming* (movimento dirigido por flagelos em ambientes aquosos), verificação de células *swarming* (movimento rápido dirigido por flagelos sobre superfícies semissólidas) e verificação de células *twitching* (movimento dirigido pelo *pilus* em superfícies sólidas) foram realizados conforme descrito por Rossi *et al.* (2018).

Alíquotas da suspensão inicial foram inoculadas no agar nutriente semissólido (motilidade *swimming*), na superfície do agar nutriente sólido (motilidade *swarming*), e para o fundo do agar nutriente sólido (motilidade *twitching*).

As placas foram incubadas por 24-48h à temperatura ambiente e a motilidade foi avaliada pela medida do diâmetro da zona de movimentação a partir do ponto de inoculação (mm). Os ensaios serão realizados em triplicata.

#### **5.4.7 Fenotipagem das bactérias produtoras de biofilme**

A formação do biofilme foi confirmada pelo método descrito por Mirani *et al.* (2018), seguido de alterações pontuais. Foi adicionado ao ágar nutriente 50 g/L de sacarose, juntamente com 0,8 g/L do vermelho do congo. Consideraram-se os fracos produtores aquelas colônias que se apresentaram rosa, positivos aquelas que se apresentaram pretas com aspectos secos.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Avaliação da formação de biofilme em substratos

A avaliação de formação de biofilme na presença de diferentes substratos se deu em dois meios de cultura diferentes, o caldo mineral e o caldo BHI, sendo o primeiro um meio com baixa disponibilidade de nutrientes e minerais e o segundo um meio enriquecido. A ambos foram adicionadas as 4 fontes diferentes de carbono: Glutamato (Glu), Sacarose (Sac), Lactose (Lac) e Citrato (Cit) em duas concentrações, 0,1% e 0,5%, sendo observado um crescimento versátil a depender da fonte de carbono adicionada, bem como o meio, como possível observar nas Tabelas 01 e 02.

Houve divergência em crescimento e formação de biofilme aos meios, fonte de carbono e concentrações. Caldo mineral demonstrou ser meio mais propício ao crescimento, quando comparado ao caldo BHI. As linhagens 002A e 002B apresentaram adesão e percentual de inibição moderada na presença de lactose 0,5%, no caldo BHI. A adesão da linhagem 003B foi classificada moderada na presença de glutamato 0,5%, sendo que na mesma fonte de carbono a 0,1%, a adesão foi categorizada como fraca. As demais linhagens e substratos adicionais, a adesão foi do tipo forte e percentual de inibição fraco, ao contrator a seus valores, uma vez que quanto maior a adesão, menor se tem a inibição.

**Tabela 01:** Percentual de adesão de *Pseudomonas aeruginosa* em caldo BHI adicionado com 0,1% e 0,5 % da fonte de carbono.

Linhagem	Fonte de carbono e concentrações							
	GLU 0,1%	SAC 0,1%	LAC 0,1%	CIT 0,1%	GLU 0,5%	SAC 0,5%	LAC 0,5%	CIT 0,5%
002A	17,0	-15,2	1,1	29,4	-0,9	-3,8	25,6	-18,4
002B	2,8	-6,9	0,1	4,3	-0,9	1,9	0,2	-2,3
003A	-7,9	-1,8	-2,6	-0,6	-3,5	-0,8	-2,4	-5,1
003B	-6,4	-7,6	-7,5	-4,5	10,5	-5,5	-7,9	-2,7
UFPEDA 416	9,6	15,4	8,3	18,6	3,8	10,9	9,2	16,6

DP= 0,1 / 0,3

Os sinais negativos representam redução da adesão, comparada ao controle  
Fonte: Autoria própria (2024)

Os microtubos contendo os caldos, adicionados das suspensões bacterianas, foram incubados em estufa bacteriológica por 24h, no escuro, à 30°C. Essa condição se apresentou como adequada para analisar crescimento e formação do biofilme. Ideal para o teste com os

dois meios, sendo um enriquecido e outro diminuto de nutrientes e minerais. A ausência da luz de LED nesse cenário serve para avaliar a fisiologia das linhagens, já que se trata de linhagens selvagens.

**Tabela 02:** Percentual de adesão de *Pseudomonas aeruginosa* em caldo nutriente adicionado com 0,1% e 0,5% da fonte de carbono.

Linhagem	Fonte de carbono e concentrações							
	GLU 0,1%	SAC 0,1%	LAC 0,1%	CIT 0,1%	GLU 0,5%	SAC 0,5%	LAC 0,5%	CIT 0,5%
002A	-103,4	-12,0	-82,2	-300,6	16,6	53,5	43,1	-360,9
002B	-49,6	-136,7	-92,7	-457,5	-54,9	-60,6	59,7	-483,1
003A	-23,6	-72,3	-97,3	41,2	-7,8	-7,2	-24,2	-118,2
003B	43,2	-17,5	4,8	-83,1	28,0	49,0	35,9	-38,8
UFPEDA	24,1	2,4	4,1	31,0	7,9	0,5	1,7	26,5
416								

DP= 0,3

Os sinais negativos representam redução da adesão, comparada ao controle  
 Fonte: Autoria própria (2024)

## 5.2 Células planctônicas

As células planctônicas remetem a células dispersas no caldo de crescimento, tendo como meio de análise, a comparação entre as células sésseis à parede domicrotubo, compreendendo células com potencial de agregação. A análise é prévia à análise da adesão do biofilme, estando ligada ao sobrenadante do caldo em microtubo. Descritas abaixo, nas Tabela 03 e 04, apresentando valores condizentes com o teste de exposição a fontes de carbonos. Os isolados 002A, 002B apresentam percentual de células considerável ao que remetea potencial de formação de biofilme, em ambos os meios e em quase todas as fontes de carbono contidas. Por outro lado, os isolados 003A e 003B apresentam células diminutas no caldo BHI, porém percentual versátil moderadamente alto no caldo mineral, meio mais restrito em moléculas e componentes imprescindível ao desenvolvimento.

**Tabela 03:** Percentual de redução de células planctônicas de *Pseudomonas aeruginosa* em caldo BHI com adição de 0,1% e 0,5% da fonte de carbono.

Linhagem	Fonte de carbono e concentrações							
	GLU 0,1%	SAC 0,1%	LAC 0,1%	CIT 0,1%	GLU 0,5%	SAC 0,5%	LAC 0,5%	CIT 0,5%
002A	80,7%	10,5%	22,8%	12,3%	7,0%	35,1%	8,8%	17,5%
002B	10,3%	11,5%	14,8%	3,8%	5,1%	3,8%	1,3%	16,7%
003A	6,7%	0%	4,0%	0%	10,7%	0%	0%	13,3%
003B	5,6%	8,5%	18,3%	8,5%	0%	1,4%	12,7%	71,8%
UFPEDA 416	0%	12,7%	2,8%	1,4%	5,6%	1,4%	1,4%	13,9%

DP= 0,2 / 0,1

Fonte: Autoria própria (2024)

**Tabela 04:** Percentual de redução de células planctônicas de *Pseudomonas aeruginosa* em caldo mineral com adição de 0,1% da fonte de carbono.

Linhagem	Fonte de carbono e concentrações							
	GLU 0,1%	SAC 0,1%	LAC 0,1%	CIT 0,1%	GLU 0,5%	SAC 0,5%	LAC 0,5%	CIT 0,5%
002A	47,9%	2,2%	4,6%	23,8%	3,2%	13,1%	8,9%	13,7%
002B	0,8%	4,1%	2,2%	4,5%	53,3%	8,3%	4,0%	4,4%
003A	7,8%	13,5%	18,5%	12,6%	19,8%	9,0%	5,8%	3,5%
003B	39,3%	41,4%	69,6%	14,7%	20,7%	10,0%	10,8%	16,4%
UFPEDA 416	0,5%	24,1%	13,8	0,6%	14,2%	1,9%	9,7%	0,1%

DP= 0,2

Fonte: Autoria própria (2024)

## 5.3 Motilidades

### 5.3.1 *Twitching* – Motilidade por fímbrias

Os isolados 002A, 003A e 003B exibiram motilidade *twitching* de 9mm e 7mm sob exposição da LED de alta potência por 120 minutos em 24h. Ele não se observa em 48 de incubação, houve pouca mobilidade nos 120 minutos de exposição; por outro lado, os 30 minutos de exposição resultou em um número acrescido, quando comparado como incubação inferior. O isolado 003B decorreu por maior extensão, quando confrontado aos demais (Tabela 05).

**Tabela 05:** Corrida de células *twitching* de 24 e 48 horas após exposição à irradiação de LED de 460 nm (incubação no escuro)

LINHAGENS	30 MINUTOS	120 MINUTOS	CONTROLE
002 <sup>a</sup>	1,0 mm	9,0 mm	1,0 mm
002B	1,0mm	1,0 mm	1,0 mm
003 <sup>a</sup>	2,0mm	9,0 mm	3,0 mm
003B	1,0mm	7,0 mm	2,0 mm
48 horas de incubação			
002 <sup>a</sup>	1,7 mm	1,8 mm	1,8 mm
002B	1,2 mm	1,3 mm	1,2 mm
003 <sup>a</sup>	3,5 mm	3,2 mm	3,4 mm
003B	7,0 mm	9,0 mm	9,0 mm

Fonte: Autoria própria (2024)

### 5.3.2 *Swimmig* – Motilidade por flagelos

Os isolados 002A e 003B apresentaram motilidade por flagelo aumentada em 120 minutos de exposição à luz de LED, seja em 24h, seja às 48h de incubação, quando comparada com os demais. Por outro lado, o isolado 002B se mostrou singelo à motilidade quando expostos à energia luminosa da LED, quando comparado ao controle (Tabela 06).

**Tabela 06:** Corrida de células *swimming* de 24 e 48 horas após exposição à irradiação de LED de 460 nm (incubação no escuro).

Linhagens	30 minutos	120 minutos	Controle
002 <sup>a</sup>	37 mm	50 mm	39 mm
002B	14 mm	12 mm	16 mm
003 <sup>a</sup>	28 mm	31 mm	30 mm
003B	40 mm	69 mm	52 mm
48 horas de incubação			
002 <sup>a</sup>	28 mm	54 mm	37 mm
002B	23 mm	32 mm	34 mm
003 <sup>a</sup>	25 mm	48 mm	36 mm
003B	29 mm	69 mm	50 mm

Fonte: Autoria própria (2024)

### 5.3.3 *Swarming* – Motilidade por flagelos e fímbrias

Condições semelhante ao supracitado, a motilidade *swarming* se apresentou forte e acentuada, ao comparar com os testes de motilidade. Os outros isolados também desenvolveram

seus métodos de motilidade. Ainda assim, o isolado 002B se apresenta sutil ao decorrer no meio (Tabela 07).

**Tabela 07:** Corrida de células *swarming* de 24 e 48 horas após exposição à irradiação de LED de 460 nm (incubação no escuro)

LINHAGENS	30 MINUTOS	120 MINUTOS	CONTROLE
002 <sup>a</sup>	28 mm	46 mm	29 mm
002B	10 mm	12 mm	11 mm
003 <sup>a</sup>	33 mm	50 mm	31 mm
003B	69 mm	69 mm	69 mm
<b>48 horas de incubação</b>			
002A	32 mm	51 mm	54 mm
002B	12 mm	13 mm	13 mm
003A	52 mm	52 mm	54 mm
003B	69 mm	69 mm	6,9 mm

Fonte: Autoria própria (2024)

#### 5.4 Síntese de piocianina

A quantificação da piocianina avaliou a produção do pigmento como resultado à exposição à irradiação de LED a fim de avaliar efeito sobre características fisiológicas das linhagens, bem como à formação do biofilme. O pigmento sintetizado e liberado no meio extracelular decorre devido a perturbações ambientais. Como demonstrado na Tabela 08, os isolados 002A e 002B ao controle, estando ausente de exposição à energia demonstra uma produção, 10,01 e 11,29 µg/L, respectivamente. Após 1h ocorreu um decréscimo representando 8,59 µg/L e 6,20 µg/L. Intrínseco ao desencadear das fases do biofilme, a síntese acresce ao volume do controle e em seguida decaindo, nas 2 horas restantes de exposição.

Os demais isolados se apresentarem de forma sutil à síntese, havendo maior produção de piocianina às 2h de exposição, com decaimento conseguinte. Havendo possível dano gerado pela energia luminosa da LED de alta potência.

O agar centrímidia, em suplemento de glicerol, se torna ideal à síntese *in vitro* do pigmento, assim, ao proposto método, a ação citotóxica do comprimento 460nm pode ser avaliada, ocasionando estresse e contribuindo para a concentração do pigmento difundido no meio aos intervalos independentes. Após a irradiação em intervalos distintos, o semeio realizado e incubados em estufa por 48 horas, seguida de extração e leitura de concentração.

**Tabela 08:** Concentração de piocianina ( $\mu\text{g/L}$ ) em intervalos de irradiação da energia luminosa, após incubação de 48 horas em estufa bacteriológica, estudo realizado em triplicata.

Linagem	1h	2h	3h	4h	Controle
002A	8,59	11,92	4,45	4,93	10,01
002B	6,20	12,56	5,41	5,72	11,29
003A	0,80	0,95	2,38	1,91	3,82
003B	1,43	1,11	1,91	1,27	3,02

Fonte: Autoria própria (2024)

### 5.5 Inibição do biofilme sob irradiação da LED 460 nm

Todos os isolados tiveram um percentual adesão alta e percentual de inibição moderado, em ambos os intervalos. O único isolado que apresentou adesão moderada foi a linhagem 003A após 3h de exposição à irradiação de LED (Tabela 09). Observa-se pela densidade ótica dos meios uma oscilação na formação, em primeiro momento fraca, às 3h de exposição ainda fraca, mas com número acrescido aos demais intervalo, após decai novamente, às 4h.

O controle foi feito para confrontar as 0h de exposição, referente apenas ao preparo da suspensão e seguinte adição da alíquota ao caldo. Os dados se relacionam de forma eficaz e direta. Havendo pouca margem. A energia emitida pela LED de alta potência corresponde a cerca de  $487,011 \text{ mW/cm}^2$ .

**Tabela 09:** Percentual de inibição do biofilme após exposição à pré-irradiação da LED de altapotência a 460nm em capela luminosa, controle correspondente a não pré irradiação.

Linagem	0h	1h	2h	3h	4h
002A	4,1%	4,8%	4,6%	5,4%	5,4%
002B	6,3%	6,0%	5,3%	5,8%	4,5%
003A	5,1%	6,4%	6,1%	27,7%	6,1%
003B	0,2%	0%	0,4%	0,7%	13,7

Fonte: Autoria própria (2024)

### 5.6 Fenotipagem das colônias em placa

Os aspectos fenotípicos do potencial de formação de biofilme em agar nutriente suplementado com vermelho do congo e sacarose revelaram colorações distintas em aspectos qualitativos, em relação à exposição à irradiação de LED (Tabela 10). O isolado 002B apresentou formação de biofilme forte em ambas as exposições para fenotipagem, com coloração de preto grafite e preto acinzentado. Uma característica do meio após a formação foi

a impregnação da coloração enegrecida por toda placa, além das colônias. Esse teste corresponde à subjetividade da análise, estando apenas ao olhar a sua descrição.

A linhagem selvagem 002B demonstrou sofrer impacto da energia luminosa aos 120 minutos de exposição, correspondente à 2h de irradiação da LED de alta potência. A escolha por esses dois intervalos se deu pela análise anterior da formação de biofilme em meio líquido, caldos, estando o tempo inicial, nem em 0h tampouco em 1h, mas sim seu intermédio, o melhor crescimento. E os 120 minutos, podendo devido ao tempo de ação de danos e sua conseguinte correção e reparo celular, estando os números e taxa de inibição diminuída aos demais intervalos. Os demais isolado, como a linhagem padrão, mantiveram a coloração do meio de rosa, estando caracterizados como não produtores, mediante o método aplicado.

**Tabela 10:** Análise fenotípica de formação de biofilme após exposição à irradiação de LED e incubação por 24 horas

LINHAGENS	30 MINUTOS	120 MINUTOS	CONTROLE
002A	++	+++	++
002B	***	**	***
003A	++	+++	++
003B	+++	+++	+++
UFPEDA	++	++	+++

Fonte: Autoria própria (2024)

++ = Rosa Claro / +++ = Rosa intenso / \*\* = Preto grafite / \*\*\* = Preto acinzentado

### 5.7 Injúria subletal

Ao analisar a injúria subletal das linhagens em caldo BHI e caldo mineral, meios distintos em suplementação, com aditivo de fonte de carbono em 2 concentrações diferentes, pode-se observar que o citrato se enquadra como a fonte de carbono que mais afetou a viabilidade bacteriana e dinâmica do biofilme (Tabelas 11 e 12), sendo as linhagens 002A e 002B com maior percentual, 99%. Por outro lado, o isolado 003A demonstrou um menor impacto do citrato a 0,1%, quando comparado ao mesmo a 0,5%, de 93% a 98%, respectivamente.

O glutamato, a sacarose e a lactose apresentam danos misto, de mais acentuado a mais brando, como no isolado 002B e 002A ao longo dos substratos e das concentrações sofrem oscilações em percentuais. De forma a entender danos celulares causados por fatores injuriantes, pode-se analisar a viabilidade celular e o dano geral as estruturas componentes, firmando métodos paralelos aplicados e entendendo o quão profundo e acentuado se tornou a

lesão, mediante a possíveis reparos que impedem ou retardam a formação e manutenção do biofilme.

**Tabela 11:** Injúria subletal em função da fonte de carbono 0,1% (m/v)

<b>Linhagem</b>	<b>GLU 0,1%</b>	<b>SAC 0,1%</b>	<b>LAC 0,1%</b>	<b>CIT 0,1%</b>
<b>002A</b>	98%	94%	97%	99%
<b>002B</b>	95%	98%	97%	99%
<b>003A</b>	96%	98%	98%	93%
<b>003B</b>	94%	97%	97%	98%
<b>UFPEDA 416</b>	96%	97%	98%	98%

Fonte: Autoria própria (2024)

**Tabela 12:** Injúria subletal em fonte de carbono 0,5% (m/v)

<b>Linhagem</b>	<b>GLU 0,5%</b>	<b>SAC 0,5%</b>	<b>LAC 0,5%</b>	<b>CIT 0,5%</b>
<b>002A</b>	93%	87%	93%	99%
<b>002B</b>	96%	97%	86%	99%
<b>003A</b>	96%	96%	97%	98%
<b>003B</b>	96%	94%	98%	98%
<b>UFPEDA 416</b>	97%	98%	99%	98%

Fonte: Autoria própria (2024)

---

## 6. DISCUSSÃO

### 6.1 Avaliação da formação do biofilme e impacto da energia luminosa na adesão e aspectos fisiológicos

Em cenários distintos, o avanço de mecanismos de resistência desencadeado por microrganismos apresenta influência multifacetada, impactando na produção agrícola manutenção de diversos ecossistemas, ao que se diga o todo; avanços de prognóstico da saúde humana; indústria alimentícia. Mecanismos esses, surgem mediante a exposição frequente a fatores estressantes ou danosos, alterando processos biológicos do ser, melhorando e otimizando estruturas e mecanismo de defesa (Uddin *et al.*, 2021). O biofilme caracteriza um estilo organizacional distinto, que afeta todo microcosmo de origem, seja biótico ou abiótico, favorecendo desenvolvimento rápido, em horas, minimizando a ação dos agentes biocidas e/ou bioestáticos, garantindo manutenção celular mediante a dano gerado e contribuindo para troca de genes de resistência pelas diversas formas de reprodução (Luong; Thanh; Tran, 2020; Vaou *et al.*, 2021).

O fato da *Pseudomonas aeruginosa* se organizar em biofilme gera escarcéu em vertentes distintas. Ao que se torna patógeno fatal, com seus fatores de virulência demasiados e peculiares, de biomoléculas de adesão e colonização, a pigmentos com colorações distintas e airoas; emprega-se também como meio para biorremediação, coloração têxtil e controle microbiano em lavouras, já que uma de suas fenazinas é competidora de ferro (Fe) (Thi; Wibowo; Há, 2020; Cendra; Torrents, 2021).

A formação do biofilme marca grande impacto no ambiente de adesão e colonização, sendo dinâmica sua atribuição para microcosmo ou *loco* de infecção, desde benefícios a danos leves ou acentuados. A *P. aeruginosa* por ser uma bactéria ubíqua se manifesta em diversas situações e condições, consegue driblar fatores de injúria e reparar danos potenciais ao seu desenvolvimento e reprodução. Fatores extrínsecos geram perturbações à formação do biofilme, estes afetam a síntese da matriz de eDNA e outros polímeros continentais (Yakamoto *et al.*, 2021; Abdelaziz *et al.*, 2023).

A disponibilidade de nutrientes define o avanço ou retardo na sua síntese e dinâmica, pode-se observar ao ser testado com os dois meios, enriquecido e outro com quantidades mínimas de nutrientes e minerais. O caldo BHI, enriquecido, demonstrou percentual de inibição fraco e formação forte à densidade ótica obtida, estando, possivelmente, a alta disponibilidade de nutrientes ligado à formação do biofilme e sua manutenção, mesmo interligado aos fonte de carbono adicionais. Asghari *et al.* (2021) comprovaram em um estudo feito com *P. aeruginosa*, *Pseudomonas mendocina* e *Pseudomonas stutzeri* que o caldo BHI não necessariamente se faz

---

um meio para produção de biofilme robustos, em uma análise feita com o Maldi-tof e microtubos hidrofóbicos, tornando-se indiferente aos demais meios enriquecidos. Entende-se, dessa forma que, à viabilidade do meio junto às fontes de carbono disponíveis favorecem ainda mais a formação do biofilme, fortificando a matriz polimérica da comunidade e a manutenção celular. Por outro fator, pode-se aplicar a teoria da citotoxicidade por substrato em excesso. Nesses casos, a biomolécula interfere em ciclo fisiológicos, aumentando a concentração de metabólitos tóxicos que afetam o dinamismo. Essa forma de interação poderia ser vista em um intervalo de tempo maior, já que a cinética do biofilme sucede após a expansão da matriz e da ampliação celular (Wijesinghe *et al.*, 2019; Treccani, 2023).

O dano gerado ao biofilme no caldo mineral, condição mínima de substratos, acontece de forma moderada com duas linhagens selvagens, com lactose e o glutamato a 0,5%. Aos demais, compreende uma formação forte e inibição fraca. O fato da inibição moderada acontece devido a alterações na composição do meio, uma vez que os nutrientes esgotados, a utilização das fontes de carbono procede ao seu metabolismo, que faz com que átomos de hidrogênio desequilibrem a dinâmica de fluidos do biofilme e seus canais, também afetando os constituintes celulares.

Salgar-Chaparro *et al.* (2020) relataram que em meios com diminuição ou privação de nutrientes, as células bacterianas do biofilme sofrem danos, muitas vezes irreversíveis, devido à diminuição da matriz extracelular, que expõe as bactérias à fatores extrínsecos, como: alteração do pH do meio, vibrações em frequências distintas que interferem na dinâmica da membrana plasmática e parede celular, luz, calor, antagonismo e/ou contaminação microbiana. Ainda assim, fonte de carbono disponíveis no ambiente, que não participam do ciclo metabólico, passam a ser inseridos a fim de ganho energético, potencializando o estresse metabólico e concentração de hidrogênio do meio (Rao *et al.*, 2021; Singh; Ganger; Patil, 2020).

O marco ao dano gerado à célula bacteriana e toda comunidade em biofilme remete a fatores estressantes e recorrentes ao meio, a injúria subletal evidencia danos causados com diminuta perspectiva de reparo e conseguinte reajuste da comunidade bacteriana. Ao que se trás de frente as fontes de carbono, seguintes fontes de energia e potencializadores de metabolismo, o dano maior se dá ao citrato, em que as linhagens demonstram percentual acima de 97%, apenas o 003A demonstra 93% de dano.

Acentuada por fatores estressantes e injuriante às células, a injúria subletal se fez forte nesse estudo, com percentuais entre 83 e 99%, demonstrando o poder lesivo da condição testada, com moléculas energéticas disponíveis em meios distintos. Células injuriadas se tornam inviáveis à expansão e evolução do biofilme. Uma vez injuriada, à célula, como também a

---

comunidade em biofilme, pode desenvolver mecanismos intrínsecos de reparo e recorrente avanço no desenvolvimento, a depender do fator de injúria, reguladores transcricionais, como ppGpp e o sistema de *quorum sensing* (QS) são ativados. Essa ativação acontece para que haja o aumento da quantidade de polissacarídeo Pel e Psl, atribuídos a fixação e agregação das células; consiste em um exopolissacarídeo, importante fator na manutenção, formação do biofilme e regulação de genes relacionados à sinalização celular (Grossich *et al.*, 2023).

*P. aeruginosa* possui diversos mecanismos de adaptação, esses contribuem para a preservação de fatores estressantes e para o reparo celular, ao que se atende a produção de polímeros em colônias, antes secas, enzimas de reparo e controle de espécies reativas de oxigênio (ERO's), mediadores de modulação da comunidade e do arranjo do biofilme, sendo a injúria temporária ao reparo sucedente, mas, danos recorrentes resultam, em maior caso, em lesão irreversível, impropriando a célula ao reparo e viabilidade (Nizer *et al.*, 2021). Sendo dado apresentado forte ao percentual, com chances mínimas de reparo, já que a baixa de nutrientes do meio interfere nos aspectos fisiológicos da célula.

Em sua forma de sustentabilidade, sendo item luminoso de baixo impacto ambiental e mais duradouro, a LED de alta potência otimiza o potencial de controle microbiano em vertentes de versatilidade metódica, aplicando-se substâncias fotossensibilizantes ou isolado (Galo; Prado; Santos, 2021). Não se observou ação antimicrobiana da energia luminosa nos isolados e tampouco nas condições testadas, com inibição baixa e formação alavancada. As suspensões contendo os isolados e a linhagem padrão foram irradiados por intervalos curtos, com premissa de reatividade luminosa à célula e seguinte interação ao meio.

Em um estudo realizado por Martegani *et al.* (2020), constataram que a irradiação da LED a 410nm e 450nm apresentou pouco efeito na inativação do biofilme, sugere-se que, a ação de substâncias endógenas à *P. aeruginosa* acarretam sensibilização ao serem irradiadas, definidas como fotossensibilizadores endógenos, agindo de forma intrínseca ao dano, trazendo prejuízos a biomoléculas estruturais, afetando a viabilidade celular e a composição da comunidade envolta pela matriz. Ainda, sugere-se que metabolitos e polissacarídeos sintetizados durante a fase estacionária ou em algumas horas de incubação, ao serem irradiados pela luz de LED azul, tornem-se potencialmente reativos e danosos, acentuando danos e favorecendo a ação bactericida da energia luminosa.

Ferrer-Espada *et al.* (2020) em um teste feito com a luz de LED a 405nm, irradiada sobre *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* analisaram que a ação antimicrobiana e antibiofilme da energia luminosa ocorre em intervalo de 24h de irradiação, já em 48h a ação diminui, devido a síntese de lipídios fotoprotetores, carotenoides, que inativam

---

uma ERO, oxigênio singlete, além de fazer com que a energia seja minimizada após irradiada. Dessa forma a ação antimicrobiana e antibiofilme da LED depende da irradiação em intervalo da cinética de crescimento, reparo e desprendimento da comunidade microbiana. Entendendo de forma temporal, analisar a inibição para potencializar a ação de substâncias intrínsecas à *P. aeruginosa* e ao biofilme, excitando-as e acentuando o dano.

## **6.2 Motilidade e fenotipagem mediante exposição à energia luminosa da LED de 460 nm**

A cinesia da *P. aeruginosa* remete grande compreensão ao seu desenvolvimento e deslocamento nas condições de colonização, como também enorme preocupação ao que remete aos danos ocasionados em formas de interações infestas. Com impacto abrupto no avanço de pacientes internos em Unidade de Terapia Intensiva (UTI), levando a número aterradores de óbitos em indivíduos de ambos os gêneros, faixa etária e etnias, contidos no devido âmbito; preservação das características sensoriais alimentícias, com sua alta marginalização, da colônia inicial para o todo, acarretando inapropriação e seguinte descarte, levando a danos potenciais à saúde os envolvidos e/ou prejuízo financeiro (Veetilvalappil *et al.*, 2022; Behzadi; Li *et al.*, 2023).

Em circunstância ao cenário apresentado, a motilidade confere ao microrganismo a capacidade de invasão, adesão e colonização ao devido sítio ou ambiente. Diversos mecanismos de motilidade podem ser atribuídos à célula a depender do dote da estrutura contida, podendo ser por: fimbrias, contração de membrana e/ou flagelos. De modo a que, executando tal função isolados ou em conjunto. Pode sofrer interferência do ambiente e fatores estressantes ao microrganismo, ao qual, a depender do princípio, pode inibir ou acentuar a motilidade, agindo em suas estruturas, ao que compete à sua formação e utilização (Lichtenberg *et al.*, 2022; Patel; Gajjar, 2023).

Segundo Tuttobene *et al.* (2021), a motilidade de *Staphylococcus aureus* e *P. aeruginosa* é modulada pela luz, acentuando de forma moderada sua perspectiva de direcionamento e estruturas reguladoras de movimento, não se especifica qual, tratando ao todo como motilidade de enxame, estando envolvidos a ação do pili do tipo IV e contração da membrana. Badal *et al.* (2023) destacam que a falta de nutrientes, acarreta direcionamento da *P. aeruginosa* em direção a substratos e minerais. Ainda, ao ser exposta a agente injuriantes são ativados 44 genes do Sistema de Dois Componentes (CTS), estando envolvidos em diversos processos, desde a utilização de fontes de carbonos alternativas para manutenção fisiológica até mecanismos de reparo celular a depender do fator e intensidade. O tempo de exposição ao

---

agente e tempo de incubação também são importantes processos na ação natatória e de enxameação, já que nas horas iniciais, a motilidade é diminuta e singela, mas a um tempo considerável de 24h e 48h avança de forma significativa. Houve maior intensidade de movimento em ambos os isolados e nos 3 métodos aplicados, movimento por fímbrias, flagelo e a junção dos 2, irradiados por 120 minutos pela energia luminosa a 460nm, indicando que a provável ação estressante da luz tenha estimulado seu direcionamento ao carbono no meio contido.

Swimming remete a teste mais eficiente ao desenvolvimento inicial do biofilme de *P. aeruginosa*, estando a formação do flagelo polar único, inerente também fatores transcricionais e proteínas funcionais, e seu movimento de corrida-reserva-pausa, enrola – empurra – puxa, diretamente ligado com a formação inicial do biofilme, ocorrendo quase que estritamente em condições viscosas ou semissólidas, para que o flagelo consiga executar com êxito o seu direcionamento, estando envolvido ainda na adesão microbiana e seguinte formação da comunidade em biofilme (Tian *et al.*, 2022). Os isolados 002A e 003B apresentaram desenvolvimento natatório acrescido, frente a exposição da LED a 460 nm prévia ao incóculo, dessa forma a célula mediante ao estresse causado pela energia luminosa otimiza o desenvolvimento da estrutura responsável. É visto, *in vivo*, o potencial do flagelo ao gerar quadros de sepsis por queimaduras em pacientes imunologicamente fragilizados, ligados inicialmente ao flagelo, e seguinte por mecanismos acentuados de patogenicidade (Coleman; Pletzer; Hancock, 2021).

As linhagens utilizadas se tratam de isolados selvagens, *P. aeruginosa* presentes em ambientes de ensino, com alta disponibilidade de agentes nocivos ao seu desenvolvimento, surfactantes, sabonetes, cloro, hipoclorito, agentes biocidas, dentre outros. Fator esse que contribui para desenvolvimento de mecanismos de defesa ao teste disposto. A relação de síntese de piocianina compreende bem tal princípio de exposição, tendo a participação do fator, energia luminosa, potencializando a síntese às 2 horas de exposição. Uma vez que o estresse fisiológico acentua a síntese. A piocianina serve também para controle da energia ao meio, sendo que a luz incidente é contida, em partes, pelo pigmento presente na massa biológica, biomassa, solúvel ao preparo dos inóculos e conseqüente semeio, afeta diretamente a ação da energia. Para isso, o isolado 002B é característico, estando o valor de pigmento aumentada em relação aos demais, formação de biofilme forte, motilidade reduzida ao restante e fenótipo de colônia indubitável (Kahl; Price-Whelan; Dietrich., 2020; Kahl *et al.*, 2022).

A análise fenotípica com o Agar Vermelho do Congo caracterizou as linhagens como não produtoras de biofilme, sendo apenas a 002B produtora maciça em ambos os intervalos de

tempo. Devido a uma análise qualitativa e subjetiva, foram apenas denominados de produtores e não produtores. As vertentes de amplo espectro de análise sofrem impacto das condições das células expostas, do meio de cultivo e ambiente. Naghy *et al.* (2020), ao contrário do encontrado, observaram que diversas linhagens isoladas de lentes de contato, incluindo a *Pseudomonas* sp., apresentaram forte produção de biofilme, com colônias de preto fosco a brilhoso, em condições ideais de crescimento em estufa; no mesmo cenário foi avaliado o genótipo na pesquisa dos genes *IcaA* e *pslA*, genes de importância para a síntese de polissacarídeos da matriz, onde a não expressão do *pslA* não impactou na fenotipagem, não interferindo na formação do biofilme.

Esse método, descrito como CRA (*Congo red agar*), é relatado como meio não tão específico e com mais margem para falsos negativos; certificado por Anan; Abu-el-Azeyem; Elkashef (2024), ao avaliarem 50 linhagens por dois métodos de triagem para microrganismos produtores de biofilme, o método em caldo BHI de formação de biofilme, tanto em microtubo como em micropoços apresentaram 32 linhagens formadoras de biofilme, equivalentes a 64% do total, enquanto o CRA apresentou apenas 38%, 19/50. Banet *et al.* (2023), também evidenciaram a limitação do CRA em comparação com outros métodos de avaliação da formação do biofilme por isolados bacterianos para triagem, uma vez que o pigmento escuro produzido se difunde no meio de cultura e afeta colônias não produtoras, não havendo a estabilização da síntese; como também foi realizada a categorização dos produtores e não produtores apenas por sua característica de formação de pigmentação, sem diferenciá-los, se produtores, em: Fraco, Moderado ou Forte, em analogia a sua subjetividade.

Ainda assim, existem fatores que o tornam um meio a ser utilizado em teste de triagem e avaliação do potencial de formação de biofilmes. A viabilidade celular, sendo o meio de cultura enriquecido e suplementado, tornando as colônias favoráveis a repique, baixo custo em sua confecção e aplicação, versatilidade em espécies bacterianas empregadas. Faz-se, porém, o demasiado entendimento das bactérias pesquisadas, condições de crescimento ao sítio de isolamento, adequação do tempo de leitura e emprego de método quantitativo, sendo dessa forma, condicional para manutenção das colônias crescidas e seguinte direcionamento de elucidação diagnóstico e afins. Neste estudo, à condição das linhagens empregadas empunha o seu significado ao ser direcionamento do teste, sendo que uma diluição da suspensão diminuta em meio ao empregado, contribuindo de forma eficaz a formação do biofilme em placa e seguinte enegrecimento do meio, como também o tempo de leitura, que diferente de um meio suspenso, acarreta formação de biomassa menor (Ashari *et al.*, 2021; Hussien, 2020)

---

A LED de alta potência causou mudança pequena na exposição por 120 minutos, nítido tom preto grafite, diferente de 30 minutos e o controle. Tal alteração pode decorrer devido injúria celular causada durante a exposição e conseguinte reparo intracelular de estruturas bacterianas, estando possivelmente ligado também à síntese de fenazinas (Kowalska *et al.*, 2020; Jabir, 2022).

Implicando em alterações fisiológicas complexas, com fatores extrínsecos perturbadores, o decorrer do desenvolvimento das linhagens selvagens de *P. aeruginosa* em formação do biofilme se mostrou favorável, a síntese de pigmento, ocorrendo quando exposta a energia luminosa por 2 horas, sugere adaptação de tais linhagens a fatores injuriantes, quando se trata de analisar o a injúria subletal, está se demonstrou forte, mas a possibilidade reparo também alta. Por ainda, condições de crescimento perturbadoras, como meios distintos, suplementados com fontes de carbono e energia luminosa da LED a 460 nm, referente a luz azul, predizem a maquinaria adaptativa das linhagens, apresentando pouco dano na formação e percentual de inibição versátil do fraco ao moderado.

Características natatórias implicadas ao teste fortificam o estresse gerado pela LED e a desenvoltura das linhagens em sobressair ao dano, deslocando-se a distância do ponto de origem de inóculo, seja essa por contração de fímbrias, batimento dos flagelos ou ambas. Ainda a perturbação gerada causa divergência da formação do biofilme em relação ao microtubo e meio sólido, ao ser visto no agar vermelho do congo a fenotipagem, tendo como produtora apenas um isolado, havendo o tempo disposto e a implicação metabólica impacto direto ao encontrado no teste.

Isso seria consolidado e otimizado em prática se entendendo fatores intrínsecos à *P. aeruginosa*, transcrição genica a resistência e tolerância a luz, plasmídeos trocados do seu local de isolamento e a perpetuação dos genes após o teste. Biomoléculas fotoexcitáveis, que agregariam danos e consequente efeito antimicrobiano em toda comunidade. Estando assim, o tempo de exposição atribuído a irradiação tanto ao meio quanto prévia a suspensão, carga bacteriana ao semeio no agar vermelho do congo, fenotipando a linhagem para a validação do potencial formador de biofilme, a deletérias formas de ação e formação *in vitro*.

## 7. CONCLUSÃO

Nas condições experimentais testadas concluiu-se que:

- Progressão da formação do biofilme foi continuada, com dano mínimo a comunidade bacteriana agregada e envolta em matriz;
- Fatores extrínsecos à formação do biofilme, a motilidade se fez eficaz ao fator injuriante, síntese de pigmento em mesmo intervalo, potencializando mecanismos de fotoproteção;
- Característica fenotípica revela produção por apenas um isolado, não sendo método ideal de avaliação de produção de biofilme;
- Tempo maior de irradiação a suspensão ou após tempo predito;
- Ação de tal fator sob suspensões em caldos com adição dos fonte de carbono poderia acentuar a inibição.

---

**REFERÊNCIAS**

ABOU. P.; EL FEGHALI, R.; NAWAS, T. Extraction and purification of pyocyanin: a simpler and more reliable method. **MOJ Toxicol.** v. 4, n. 6, p. 412-422, 2018.

ABDELAZIZ, A. A.; KAMER, A. M. A.; AL-MONOFY, K. B.; AL-MADBOY, L. A. *Pseudomonas aeruginosa*'s greenish-blue pigment pyocyanin: its production and biological activities. **Microbial Cell Factories**, v. 22, n. 1, p. 110, 2023.

ALGAMMAL, A. M.; MABROK, M.; SIVARAMASAMY, E.; YOUSSEF, F. M.; ATWA, M. H.; EL-KHOLY, A. W.; HETTA, H. F.; HOZZEIN, W. N. Emerging MDR-*Pseudomonas aeruginosa* in fish commonly harbor opr L and toxA virulence genes and bla TEM, bla CTX-M, and tetA antibiotic-resistance genes. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1-12, 2020.

ALI, N. M.; HANIF, U.; TAJ, S.; BAHADUR, S.; SHUAIB, M. Detection via in vitro amplification of lasR gene associated with virulent attribute of *Pseudomonas aeruginosa* from acute pulmonary infections. **Gene Reports**, v. 27, p. 101566, 2022.

ALOTAIBI, G. F.; BUKHARI, M. A. Factors influencing bacterial biofilm formation and development. **Am. J. Biomed. Sci. Res**, v. 12, n. 6, p. 617-626, 2021.

ALSHAMMARI, W.; ALHUSSAIN, H.; RIZK, N. M. Risk management assessments and recommendations among students, staffs, and health care workers in educational biomedical laboratories. **Risk Management and Healthcare Policy**, v. 14, p. 185-198, 2021.

ANAN, M. M. G.; ABU-EL-AZAYEM, A. K.; ELKASHEF, S. M. M. Comparison of two invitro phenotypic methods (Tissue Culture plate and Congo Red Agar) for Detection of Biofilm Formation by Enterococci. **Egyptian Journal of Medical Microbiology**, v. 33, n. 1, 2024.

ASGHARI, E.; KIEL, A.; KALTSCHMIDT, B. P.; WORTMANN, M.; SCHMIDT, N.; HUSGEN, B.; HUTTEN, A.; KNABBE, C.; KALTSCHMIDT, C.; KALTSCHMIDT. Identification of microorganisms from several surfaces by MALDI-TOF MS: *P. aeruginosa* is leading in biofilm formation. **Microorganisms**, v. 9, n. 5, p. 992, 2021.

BAATOUT, K.; et al. Luminescent cotton fibers coated with fluorescein dye for anti-counterfeiting applications. **Materials Chemistry and Physics**, v. 234, p. 304-310, 2019.

BADAL, D.; JAYARANI, A. V.; KOLLARAN, M. A.; PRAKASH, D.; P, M.; SIGH, V. Foraging signals promote swarming in starving *Pseudomonas aeruginosa*. **Mbio**, v. 12, n. 5, p. 10.1128/mbio. 02033-21, 2021.

BASNET, A.; TAMANG, B.; SHRESTHA, M. R.; SHRESTHA, L. B.; RAI, J. R.; MAHARJAN, R.; DAHAL, S.; SHRESTHA, P.; RAI, S. K. Assessment of four in vitro phenotypic biofilm detection methods in relation to antimicrobial resistance in aerobic clinical bacterial isolates. **Plos one**, v. 18, n. 11, p. e0294646, 2023.

BAYRAM, S. Production, purification, and characterization of *Streptomyces* sp. strain MPPS2 extracellular pyomelanin pigment. **Archives of microbiology**, v. 203, n. 7, p. 4419-4426, 2021.

BHARDWAJ, S.; BHATIA, S.; SINGH, S.; JR, F. F. Growing emergence of drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and attenuation of its virulence using quorum sensing inhibitors: A critical review. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 24, n. 6, p. 699, 2021.

BEHZADI, P.; GAJDACS, M.; PALLOS, P.; ONODI, B.; STAJER, A.; MATUSOVITS, D.; KARPATI, K.; BURIAN, K.; BATTAH, B.; FERRARI, M.; DORIA, C.; CAGGIARI, G.; KHUSRO, A.; ZANETTI, S.; DONADU, M. G. Relationship between biofilm-formation, phenotypic virulence factors and antibiotic resistance in environmental *Pseudomonas aeruginosa*. **Pathogens**, v. 11, n. 9, p. 1015, 2022.

BOGIEL, T.; DEPKA, D.; RZEPKA, M.; KWIECINSKA-PIRÓG, J.; GOSPODAREK-KOMKOWSKA, E. Prevalence of the genes associated with biofilm and toxins synthesis amongst the *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains. **Antibiotics**, v. 10, n. 3, p. 241, 2021.

BROWN, J. L.; TOWNSEND, L.; SHORT, R. D.; WILLIAMS, C.; WOODALL, C.; NILE, C. J.; RAMAGE, G. Assessing the inflammatory response to in vitro polymicrobial wound biofilms in a skin epidermis model. **npj Biofilms and Microbiomes**, v. 8, n. 1, p. 1-12, 2022.

CANALE, L. Discovery of LED Lighting: a History of Science between Research, Work and Serendipity. In: **2023 4th International Conference on High Voltage Engineering and Power Systems (ICHVEPS)**. IEEE, 2023. p. 856-861.

CHAKRABORTY, P.; DASTIDAR, D. G.; PAUL, P.; DUTTA, S.; BASU, D.; SHARMA, D.; BASU, S.; SARKER, R. K.; SEN, A.; SARKAR, A.; TRIBEDI, P. Inhibition of biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* by caffeine: a potential approach for sustainable management of biofilm. **Archives of microbiology**, v. 202, p. 623-635, 2020.

CENDRA, M. D. M.; TORRENTS, E. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms and their partners in crime. **Biotechnology advances**, v. 49, p. 107734, 2021.

CHEN, M.; CAI, Y.; LI, G.; ZHAO, H.; NA, T. The stress response mechanisms of biofilm formation under sub-lethal photocatalysis. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 307, p. 121200, 2022.

CHENG, Y.; CHEN, H.; BASURTO, L. A. S.; PROTASENKO, V. V.; BRARADWAJ, S.; MUUDUDUL, I.; MORARU, C. I. Inactivation of *Listeria* and *E. coli* by Deep-UV LED: effect of substrate conditions on inactivation kinetics. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 1-14, 2020.

COLEMAN, S. R.; PLETZER, D.; HANCOCK, R. E. W. Contribution of swarming motility to dissemination in a *Pseudomonas aeruginosa* murine skin abscess infection model. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 224, n. 4, p. 726-733, 2021.

---

CUMBO, E.; GALLINA, G.; MESSINA, P.; SCARDINA, G. A. Alternative methods of sterilization in dental practices against COVID-19. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 16, p. 5736, 2020.

DATTA, P.; MOHI, G. K.; CHANDER, J. Biomedical waste management in India: Critical appraisal. **Journal of Laboratory Physicians**, v. 10, n. 1, p. 6, 2018.

DELAVAR, M. A.; WANG, J. Lattice Boltzmann method in modeling biofilm formation, growth and detachment. **Sustainability**, v. 13, n. 14, p. 7968, 2021.

DIGGLE, S. P.; WHITELEY, M. Microbe profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat. **Microbiology**, v. 166, n. 1, p. 30-33, 2020.

DING, H.; HU, J. Enhancing the degradation of carbamazepine by UVA-LED/WO<sub>3</sub> process with peroxydisulfate: Effects of light wavelength and water matrix. **Journal of Hazardous Materials**, v. 404, p. 124126, 2021.

D'SOUZA, C.; YUK, H.; KHOO, G. G.; ZHOU, W. Application of light-emitting diodes in food production, postharvest preservation, and microbiological food safety. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, n. 6, p. 719-740, 2015.

ERNST, S.; VOLKOV, A. N.; STARK, M.; HOLSCHER, L.; STEINERT, K.; FETZNER, S.; HENNECKE, U.; DREES, S. L. Azetidomonamide and Diazetidomonapyridone Metabolites Control Biofilm Formation and Pigment Synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of the American Chemical Society**, v. 144, n. 17, p. 7676-7685, 2022.

FAN, Y.; ZHANG, G.; VONG, C. T.; YE, R. D. Serum amyloid A3 confers protection against acute lung injury in *Pseudomonas aeruginosa*-infected mice. **American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 318, n. 2, p. L314-L322, 2020.

FAZELI-NASAB, B.; SAYYED, R. Z.; MOJOHED, L. S.; RAHMANI, A. F.; GHAFARI, M.; ANTONIUS, S.; SUKAMTO. Biofilm production: A strategic mechanism for survival of microbes under stress conditions. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 42, p. 102337, 2022.

FENG, Q.; LUO, L.; CHEN, X.; ZHANG, K.; FANG, F.; XUE, Z.; LI, C.; CAO, J.; LUO, J. Facilitating biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* via exogenous N-Acy-L-homoserine lactones stimulation: Regulation on the bacterial motility, adhesive ability and metabolic activity. **Bioresource Technology**, v. 341, p. 125727, 2021.

FERRER-ESPADA, R.; WANG, Y.; GOH, X. S.; DAI, T. Antimicrobial blue light inactivation of microbial isolates in biofilms. **Lasers in surgery and medicine**, v. 52, n. 5, p. 472-478, 2020.

FIROUZ, M. S.; MOHI-ALDEN, K.; OMID, M. A critical review on intelligent and active packaging in the food industry: Research and development. **Food Research International**, v. 141, p. 110113, 2021.

---

FÜCHTENHANS, M.; GROSSE, E. H.; GLOCK, C. H. Smart lighting systems: state-of-the-art and potential applications in warehouse order picking. **International Journal of Production Research**, v. 59, n. 12, p. 3817-3839, 2021.

GARCÍA-REYES, S.; SOBERÓN-CHÁVEZ, G.; COCOTL-YANEZ, M. The third quorum-sensing system of *Pseudomonas aeruginosa*: *Pseudomonas* quinolone signal and the enigmatic PqsE protein. **Journal of medical microbiology**, v. 69, n. 1, p. 25-34, 2020.

GALLÉ, Á.; CZEKUS, Z.; TOTH, L.; GALGÓCZY, L.; POÓR, P. Pest and disease management by red light. **Plant, Cell & Environment**, v. 44, n. 10, p. 3197-3210, 2021.

GALO, I. D. C.; PRADO, R. P.; SANTOS, W. G. Blue and red light photoemitters as approach to inhibit *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* growth. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, p. e231742, 2021.

GHASEMI, M.; CHANG, S.; SIVALOGANATHAN, S. Development of an integrated ultrasonic biofilm detachment model for biofilm thickness control in membrane aerated bioreactors. **Applied Mathematical Modelling**, v. 100, p. 596-611, 2021.

GILLANI, T.; ORLANDI, V. T.; MARTEGANI, E.; GIARONI, C.; BAJ, A.; BOLOGNESE, F. Optimization of pyoverdine pigment biosynthesis conditions from a locally isolated strain of *Pseudomonas aeruginosa*. **Biomass Conversion and Biorefinery**, p. 1-13, 2023.

GILLANI, T.; HASSAN, M. U.; ULLAH, N.; SARWAR, A.; FAROOQ, H.; AZIZ, T.; ALHARBI, M.; ALSAHAMMARI, A.; ALSMARI, A. F. Optimization of pyoverdine pigment biosynthesis conditions from a locally isolated strain of *Pseudomonas aeruginosa*. **Biomass Conversion and Biorefinery**, p. 1-13, 2023.

GROSSICH, R.; VILCHEST, M. L.; COSTA, C. S.; PEZZONI, M. Role of Pel and Psl polysaccharides in the response of *Pseudomonas aeruginosa* to environmental challenges: oxidative stress agents (UVA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sodium hypochlorite) and its competitor *Staphylococcus aureus*. **Microbiology**, v. 169, n. 2, p. 001301, 2023.

HUO, Z.; DU, Y.; CHEN, Z.; WU, Y.; HU, H. Evaluation and prospects of nanomaterial-enabled innovative processes and devices for water disinfection: A state-of-the-art review. **Water research**, v. 173, p. 115581, 2020.

HUSSEN, B. M. Evaluating the prevalence of virulence factor gene and biofilm production in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from different clinical samples. **Zanco Journal of Pure and Applied Sciences**, v. 32, n. 4, p. 108-13, 2020.

HYUN, J. E.; LEE, S. Y. Antibacterial effect and mechanisms of action of 460–470 nm light-emitting diode against *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas fluorescens* on the surface of packaged sliced cheese. **Food microbiology**, v. 86, p. 103314, 2020.

ISLAM, M. A.; ETHIRAJ, B.; CHENG, C. K.; YOUSUF, A.; KHAN, M. R. An insight of synergy between *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella variicola* in a microbial fuel cell. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 6, n. 3, p. 4130-4137, 2018.

---

JABIR, D. M. Evaluation of the ability of some bacterial species isolated from UTI to form biofilm. **Al-Qadisiyah Journal of Pure Science**, v. 27, n. 1, p. 8-14, 2022.

KAHL, L. J.; PRICE-WHELAN, A.; DIETRICH, L. E. P. Light-mediated decreases in cyclic di-GMP levels inhibit structure formation in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **Journal of bacteriology**, v. 202, n. 14, p. 10.1128/jb.00117-20, 2020.

KAHL, L. J.; ECKARTT, K. N.; MORALES, D. K.; WHELAN, A. P.; DIETRICH, L. E. Light/dark and temperature cycling modulate metabolic electron flow in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **MBio**, v. 13, n. 4, p. e01407-22, 2022.

KATZIN, D.; MARCELIS, L. F. M; MOURIK, S. V. Energy savings in greenhouses by transition from high-pressure sodium to LED lighting. **Applied Energy**, v. 281, p. 116019, 2021.

KIM, D.; KANG, D.. Efficacy of light-emitting diodes emitting 395, 405, 415, and 425 nm blue light for bacterial inactivation and the microbicidal mechanism. **Food Research International**, v. 141, p. 110105, 2021.

KOOCHANA, P. K.; MOHANTY, A.; SUBHADARSHANEE, B.; SATPATI, S.; NASKAR, R.; DIXIT, A.; BEHERA, R. K. Phenothiazines and phenoxazines: as electron transfer mediators for ferritin iron release. **Dalton transactions**, v. 48, n. 10, p. 3314-3326, 2019.

KOWALSKA, J.; MACKIW, E.; STASIAK, M.; KUCHARAK, K.; POSTUPOLSKI, J. Biofilm-forming ability of pathogenic bacteria isolated from retail food in Poland. **Journal of Food Protection**, v. 83, n. 12, p. 2032-2040, 2020.

KWASNY, S.M.; OPPERMAN, T.J. Static biofilm cultures of gram-positive pathogens grown in a microtiter format used for anti-biofilm drug discovery. **Curr Protoc Pharmacol**. v. 50, n. 13-A8, 2010. doi: 10.1002/0471141755.ph13a08s50.

KUMAR, A.; GHATE, V.; KIM, M-J.; ZHOU, W.; KHOO, G.H.; YUK, H-G. Inactivation and changes in metabolic profile of selected foodborne bacteria by 460 nm LED illumination. **Food Microbiol**. v. 63, p. 12-21, 2017.

LABADIE, M.; MARCHAL, F.; MERBAHI, N.; GIRBAL-NEUHAUSER, E.; FONTOGNÉ-FAUCHER, C.; MARCATO-ROMAIN, C. Response of controlled cell load biofilms to cold atmospheric plasma jet: evidence of extracellular matrix contribution. **Life**, v. 11, n. 7, p. 694, 2021.

LARIK, I.A.; QAZI, M.A.; KANHAR, A.R.; MANGI, S.; AHMED, S.; JAMALI, M.R.; KANHAR, N.A. Biodegradation of petrochemical hydrocarbons using an efficient bacterial consortium; A2457. **Arab J Sci Eng**. v. 41, p. 2077-2086, 2016.

LI, X.; GU, N.; HUANG, T. Y.; ZHONG, F.; PENG, G. *Pseudomonas aeruginosa*: A typical biofilm forming pathogen and an emerging but underestimated pathogen in food processing. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 1114199, 2023.

LIAN, Y.; LAN, D.; XING, S.; GUO, B.; REN, Z.; LAI, R.; ZUO, C.; ZHAO, B.; H, A. R.; DI, D. Ultralow-voltage operation of light-emitting diodes. **Nature communications**, v. 13, n. 1, p. 1-10, 2022.

LICHTENBERG, M.; JAKOBSEN, T. H.; KUHL, M.; KOLPEN, M.; JENSEN, P. O.; BJARNSHOLT, T. The structure–function relationship of *Pseudomonas aeruginosa* in infections and its influence on the microenvironment. **FEMS microbiology reviews**, v. 46, n. 5, p. fuac018, 2022.

LING, M. L.; CHING, P.; WIDITAPUTRA, A.; STEWART, A.; SIRIJINDADIRAT, N.; THU, L. T. A. APSIC guidelines for disinfection and sterilization of instruments in health care facilities. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2018.

LIU, L.; XING, X.; HU, C.; WANG, H.; LYU, L. Effect of sequential UV/free chlorine disinfection on opportunistic pathogens and microbial community structure in simulated drinking water distribution systems. **Chemosphere**, v. 219, p. 971-980, 2019.

LUONG, H. X.; THANH, T. T.; TRAN, T. H. Antimicrobial peptides–Advances in development of therapeutic applications. **Life Sciences**, v. 260, p. 118407, 2020.

MAILLARD, J. Y.; PASCOE, M. Disinfectants and antiseptics: mechanisms of action and resistance. **Nature Reviews Microbiology**, p. 1-14, 2023.

MANCERA, E.; NOCEDAL, I.; HAMMEL, S.; GULATI, M.; MITCHELL, K. F.; ANDES, D. R.; ANDES, D. R.; NOBILE, C. J.; BUTLER, G.; JOHNSON, A. Evolution of the complex transcription network controlling biofilm formation in *Candida* species. **Elife**, v. 10, p. e64682, 2021.

MARTEGANI, E.; BOLOGNESE, F.; TRIVELLIN, N.; ORLANDI, V.T. Effect of blue light at 410 and 455 nm on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. **J Photochem Photobiol A**. v. 204, p. 111790, 2020.

MARTÍNEZ-ALEMÁN, S.; BUSTAMANTE, A. E.; JIMENEZ-VALDES, R. J.; GONZÁLES, G. M.; SÁNCHEZ-GONZÁLES, A. *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients induce neutrophil extracellular traps with different morphologies that could correlate with their disease severity. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 310, n. 7, p. 151451, 2020.

MIRANI, Z. A.; FATIMA, A.; UROOJ, S.; AZIZ, M.; KHAN, M. N.; ABBAS, T. Relationship of cell surface hydrophobicity with biofilm formation and growth rate: A study on *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*. *Iranian journal of basic medical sciences*, v. 21, n. 7, p. 760, 2018.

MONTELONGO-MARTÍNEZ, L. F.; HERNÁNDEZ-MÉNDEZ, C.; MURIEL-MILLAN, L. F.; HERNÁNDEZ-ESTRADA, F.; OLMO, M. J. F.; GONZÁLEZ-VALDEZ, A.; SOBERÓN-CHÁVEZ, G.; COCOTL-YAÑEZ, M. Unraveling the regulation of pyocyanin synthesis by RsmA through MvaU and RpoS in *Pseudomonas aeruginosa* ID4365. **Journal of Basic Microbiology**, v. 63, n. 1, p. 51-63, 2023.

---

MUKUNDA, D. C.; JOSHI, V. K.; MAHATO, K. K. Light emitting diodes (LEDs) in fluorescence-based analytical applications: a review. **Applied Spectroscopy Reviews**, p. 1-38, 2020.

NIZER, W. S. C.; INKOVSKIY, V.; VERSEY, Z.; STREMPPEL, N.; CASSOL, E.; OVERHAGE, JI. Oxidative stress response in *Pseudomonas aeruginosa*. **Pathogens**, v. 10, n. 9, p. 1187, 2021.

OLUSOLA, A. O.; OGIDAN, T. O.; ELEKAN, A. O.; EKUN, O. E.; ONOAGBE, I. O. Antimicrobial and antioxidant properties of flavonoids-rich fraction of *zanthoxylum zanthoxyloides* leaf. **J. Bio. Innov.**, v. 10, n. 1, p. 359-377, 2021.

OMMEN, P.; ZOBEEK, N.; MEYER, R. Quantification of biofilm biomass by staining: Nontoxic safranin can replace the popular crystal violet. **J Microbiol Methods**, v. 141, p. 87-89, 2017.

ORLANDI, V. T.; MARTEGANI, E.; GIARONI, C.; BAJ, A.; BOLOGNESE, F. Bacterial pigments: A colorful palette reservoir for biotechnological applications. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 69, n. 3, p. 981-1001, 2022.

OZDAL, M. A new strategy for the efficient production of pyocyanin, a versatile pigment, in *Pseudomonas aeruginosa* OG1 via toluene addition. **3 Biotech**, v. 9, n. 10, p. 1-8, 2019.

PAGANO, P.J. BUCHANAN, L.V.; DAILEY, C.F.; HASS, J.V.; ENK, R.A.V.; GIBSON, J.K. Effects of linezolid on staphylococcal adherence versus time of treatment. **Int J Antimicrob Agents**. v. 23, n. 3, p. 226-234, 2004.

PALUCKA, T. 50 years ago: How Holonyak won the race to invent visible LEDs. **MRS bulletin**, v. 37, n. 10, p. 963-966, 2012.

PAULA, A. J.; HWANG, G.; KOO, H. Dynamics of bacterial population growth in biofilms resemble spatial and structural aspects of urbanization. **Nature Communications**, v. 11, n. 1, p. 1-14, 2020.

PATEL, H.; GAJJAR, D. Cell adhesion and twitching motility influence strong biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. **Biofouling**, v. 38, n. 3, p. 235-249, 2022.

PELLISSIER, L.; LEONI, S.; MARCOURT, L.; QUEIROZ, E. F.; LECOULTRE, N.; QUIROS-GERRERO, L.; BARTHÉLÉMY, M.; EPARVIER, V.; CHAVE, J.; STIEN, D.; GINDRO, K.; PERRON, K.; WOLFENDER, J. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing Inhibitors from the Endophyte *Lasiodiplodia venezuelensis* and Evaluation of Their Antivirulence Effects by Metabolomics. **Microorganisms**, v. 9, n. 9, p. 1807, 2021.

PEREIRA, S.; OTERO, A. *Haematococcus pluvialis* bioprocess optimization: Effect of light quality, temperature and irradiance on growth, pigment content and photosynthetic response. **Algal Research**, v. 51, p. 102027, 2020.

PETROVA, O. E.; SAUER, K. Escaping the biofilm in more than one way: desorption, detachment or dispersion. **Current opinion in microbiology**, v. 30, p. 67-78, 2016.

PRICE-WHELAN, A.; DIETRICH, L. E. P.; NEWMAN, D. K. Pyocyanin alters redox homeostasis and carbon flux through central metabolic pathways in *Pseudomonas aeruginosa* PA14. **Journal of bacteriology**, v. 189, n. 17, p. 6372-6381, 2007.

PODE, R. Organic light emitting diode devices: An energy efficient solid state lighting for applications. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 133, p. 110043, 2020.

POUSTY, D.; HOFMANN, R.; GERCHAMAN, Y.; MAMANE, H. Wavelength-dependent time–dose reciprocity and stress mechanism for UV-LED disinfection of *Escherichia coli*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 217, p. 112129, 2021.

QIU, Y.; ZHANG, J.; LI, B.; WEN, X.; LIANG, P.; HUANG, X. A novel microfluidic system enables visualization and analysis of antibiotic resistance gene transfer to activated sludge bacteria in biofilm. **Science of the total environment**, v. 642, p. 582-590, 2018.

RANI, A.; AZMI, W. An overview on biosynthesis and applications of extracellular pyocyanin pigment and its role in *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis. **Annals of Phytomedicine: An International Journal**, v. 8, n. 2, p. 28-42, 2019.

RAPACKA-ZDOŃCZYK, A.; WOZNIAK, A.; MICHALSKA, K.; PIERANSKI, M.; OGONOWSKA, P.; GRINHALC, M.; NOKONIECZNA, J. Factors determining the susceptibility of bacteria to antibacterial photodynamic inactivation. **Frontiers in medicine**, v. 8, p. 642609, 2021.

RAO, K. P.; N, H. K.; SOMASHEKARAIHAH, R.; MURALI, M.; J, S.; SREENIVASA, M. Y. Probiotic attributes and inhibitory effects of *Lactobacillus plantarum* mys84 against the growth and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa*. **Microbiology**, v. 90, n. 3, p. 361-369, 2021.

RATHER, M. A.; GUPTA, K.; BARDHAN, P.; BORAH, M.; SARKAR, A.; ELIDIEHY, K. S.; BHUYAN, S.; MANDAL, M. Microbial biofilm: A matter of grave concern for human health and food industry. **Journal of Basic Microbiology**, v. 61, n. 5, p. 380-395, 2021.

RATHER, L. J.; MIR, S. S.; GANIE, S. A.; TSLAM, S.; LI, Q. Research progress, challenges, and perspectives in microbial pigment production for industrial applications-A review. **Dyes and Pigments**, v. 210, p. 110989, 2023.

REN, G.; HU, Q.; YE, J.; LIU, X.; ZHOU, S.; HE, Z. Hydrovoltaic effect of microbial films enables highly efficient and sustainable electricity generation from ambient humidity. **Chemical Engineering Journal**, v. 441, p. 135921, 2022.

RODRIGUES, L. B.; SANTOS, L. R.; TAGLIARI, V. Z.; RIZZO, N. N.; TRENHAGO, G.; OLIVEIRA, A. P.; GOETZ, F.; NASCIMENTO, V. P. Quantification of biofilm production on polystyrene by *Listeria sp.*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from a poultry slaughterhouse. **Braz J Microbiol**, v. 41, n. 4, p. 1082-1085, 2010.

ROSSI, C.; SERIO, A.; CHAVES-LOPEZ, C.; ANNIBALLI, F.; AURICCHIO, B.; GOFFREDO, E.; CENCI-GOGA, B.T.; LISTA, F.; FILLO, S.; PAPARELL, A. Biofilm

formation, pigment production and motility in *Pseudomonas* spp. isolated from the dairy industry. **Food Chem.** v. 86, p. 241-248, 2018.

SALGAR-CHAPARRO, S. J.; LEPKOVA, K.; POJTANABUNTOENG, T.; DARWIN, A.; MACHUCA, L. L. Nutrient level determines biofilm characteristics and subsequent impact on microbial corrosion and biocide effectiveness. **Applied and environmental microbiology**, v. 86, n. 7, p. e02885-19, 2020.

SANTOS, S. N.; CASTANHA, R. F.; HABER, L. L.; MARQUES, M. O. M.; SCRAMIN, S.; MELO, I. S. **Determinação quantitativa da atividade antioxidante de extratos brutos de microrganismos pelo método de captura de radical livre DPPH.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2011. 5 p. (Embrapa Meio Ambiente. Comunicado Técnico, 50).

SAUER, K.; STOODLEY, P.; GOERES, D. M.; HALL-STOODLEY, L.; BURMOLLE, M.; STEWART, P.; BJARNSHOLT, T. The biofilm life cycle: Expanding the conceptual model of biofilm formation. **Nature Reviews Microbiology**, v. 20, n. 10, p. 608-620, 2022.

SCRIBNER, M. R.; STEPHENS, A. C.; HUONG, J. L.; RICHARDSON, A. R.; COOPER, V. S. The Nutritional Environment Is Sufficient To Select Coexisting Biofilm and Quorum Sensing Mutants of *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Bacteriology**, v. 204, n. 3, p. e00444-21, 2022.

SHEKARBEYGI, Z.; FARHADIAN, N.; KHANI, S.; MORADI, S.; SHAHLAEI, M. The effects of rose pigments extracted by different methods on the optical properties of carbon quantum dots and its efficacy in the determination of Diazinon. **Microchemical Journal**, v. 158, p. 105232, 2020.

SILVA, P. G. P.; CONTESSA, C. R.; SILVA, I. Q.; ARRIEIRA, N. M.; SANTOS, L. O.; BURKET, C. A. V.; BURKET, J. F. M. Biotechnological tools for enhancing microbial pigment production. In: **Microbial Pigments.** CRC Press, 2024. p. 48-65.

SINGH, V.; GANGER, S.; PATIL, S. Characterization of *Lactobacillus brevis* with potential probiotic properties and biofilm inhibition against *Pseudomonas aeruginosa*. In: **Proceedings.** MDPI, 2020. p. 14.

SOTO-ACEVES, M. P.; GONZÁLEZ-VALDEZ, A.; COCOTL-YAÑEZ, M.; SOBERÓN-CHÁVEZ, G. *Pseudomonas aeruginosa* LasR overexpression leads to a RsaL-independent pyocyanin production inhibition in a low phosphate condition. **Microbiology**, v. 168, n. 10, p. 001262, 2022.

SONG, Q.; WANG, Z.; XU, D.; LIU, S.; LIU, H.; ZHANG, K. Self-assembly of polysaccharide nanocrystals: from aggregation in suspensions to optical materials. **Progress in Polymer Science**, p. 101768, 2023.

TANG, Y.; LIANG, Z.; LI, G.; ZHAO, H.; NA, T. Metagenomic profiles and health risks of pathogens and antibiotic resistance genes in various industrial wastewaters and the associated receiving surface water. **Chemosphere**, v. 283, p. 131224, 2021.

THI, M. T. T.; WIBOWO, D.; REHM, B. H. A. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 22, p. 8671, 2020.

TIAN, M.; WU, Z.; ZHANG, R.; YUAN, J; A new mode of swimming in singly flagellated *Pseudomonas aeruginosa*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 119, n. 14, p. e2120508119, 2022.

TRECCANI, L. Interactions Between Surface Material and Bacteria: From Biofilm Formation to Suppression. **Surface-Functionalized Ceramics: For Biotechnological and Environmental Applications**, p. 283-335, 2023.

TUTTOBENE, M. R.; PÉREZ, J. F.; PAVESI, E. S.; MORA, B. P.; BIANCOTTI, D.; CRIBB, P.; ALTILIO, M. Light modulates important pathogenic determinants and virulence in ESKAPE pathogens *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus*. **Journal of bacteriology**, v. 203, n. 5, p. 10.1128/jb.00566-20, 2021.

UDDIN, T. M.; CHAKRABORTY, A. J.; KRUSRO, A. K.; ZIDAN, B. R. M.; MITRA, S.; EMRAN, T. B.; DHAMA, K.; RIPON, M. K. H.; GAJDACS, M.; SAHIBZADA, M. U. K.; HASSAIN, J.; KAIRALA, N. Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. **Journal of infection and public health**, v. 14, n. 12, p. 1750-1766, 2021.

UPPINAKUDRU, A. P.; CASADO, C.; REYNOLDS, K.; STANLEY, S.; PABLOS, C.; MARUGÁN, J. Comparison of radian t intensity in aqueous media using experimental and numerical simulation techniques. **Open Research Europe**, v. 4, n. 18, p. 18, 2024.

URGANCI, N. U.; YILMAZ, N.; ALASALVAR, G. K.; YILDIRIM, Z. *Pseudomonas aeruginosa* and Its Pathogenicity. **Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology**, v. 10, n. 4, p. 726-738, 2022.

VANDANA, S. Genetic regulation, biosynthesis and applications of extracellular polysaccharides of the biofilm matrix of bacteria. **Carbohydrate Polymers**, p. 119536, 2022.

VAOU, N.; STAVROPOULOU, E.; VOIDAROU, C.; TSIGALOU, C.; BEZIRTZOGLU, E. Towards advances in medicinal plant antimicrobial activity: A review study on challenges and future perspectives. **Microorganisms**, v. 9, n. 10, p. 2041, 2021.

VEETILVALAPPIL, V. V.; MANUEL, A.; ARANJANI, J. M.; TAWALE, R.; KOTESHWARA, A. Pathogenic arsenal of *Pseudomonas aeruginosa*: an update on virulence factors. **Future Microbiology**, v. 17, n. 6, p. 465-481, 2022.

VIRIEUX-PETIT, M.; HAMMER-DEDET, F.; AUJOULAT, F.; JUMAS-BILAK, E.; ROMANO-BERTRAND, S. From Copper Tolerance to Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* towards Patho-Adaptation and Hospital Success. **Genes**, v. 13, n. 2, p. 301, 2022.

WANG, J.; SHEN, J.; YE, D.; YAN, X.; ZHANG, Y.; YANG, W.; LI, X.; WANG, J.; ZHANG, L.; PAN, L. Disinfection technology of hospital wastes and wastewater: Suggestions for disinfection strategy during coronavirus Disease 2019 (COVID-19) pandemic in China. **Environmental pollution**, v. 262, p. 114665, 2020.

WONGSAROJ, L.; SANINJUK, K.; ROMSANG, A.; DUANG-NKEM, J.; TRINACHARTVANIT, W.; VATTANAVIBOON, P.; MONGKOLSUK, S. *Pseudomonas aeruginosa* glutathione biosynthesis genes play multiple roles in stress protection, bacterial virulence and biofilm formation. **PLoS one**, v. 13, n. 10, p. e0205815, 2018.

XIANG, H.; WANG, C.; CHEN, J.; LI, F.; ZENG, H. Research progress of full electroluminescent white light-emitting diodes based on a single emissive layer. **Light: Science & Applications**, v. 10, n. 1, p. 1-16, 2021.

WANG, Q.; NIE, P.; HOU, Y.; WANG, YI. Purification, biochemical characterization and DNA protection against oxidative damage of a novel recombinant superoxide dismutase from psychrophilic bacterium *Halomonas* sp. ANT108. **Protein Expression and Purification**, v. 173, p. 105661, 2020.

WANG, X.; MA, Y.; WU, Q.; WANG, Z.; TAO, Y.; ZHAO, Y.; WANG, B.; CAO, J.; WANG, H.; GU, X.; HUANG, H.; LI, S.; WANG, X.; HU, F.; SHAO, M.; LIAO, L.; SHAM, T.; LIU, Y.; KANG, Z. Ultra-bright and stable pure blue light-emitting diode from O, N co-doped carbon dots. **Laser & Photonics Reviews**, v. 15, n. 3, p. 2000412, 2021.

WIJESINGHE, G.; SILHARI, A.; GAYANI, B.; KOTTEGODA, N.; SAMARANAYAKE, L.; WEERASEKERA, M. Influence of laboratory culture media on in vitro growth, adhesion, and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. **Medical Principles and Practice**, v. 28, n. 1, p. 28-35, 2019.

YAMAMOTO, K.; KUSADA, H.; KAMAGATA, Y.; TAMAKI, H. Parallel Evolution of Enhanced Biofilm Formation and Phage-Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* during Adaptation Process in Spatially Heterogeneous Environments. **Microorganisms**, v. 9, n. 3, p. 569, 2021.

ZAHID, M.; SAVLA, N.; PADIT, S.; THAKUN, V. K.; JUNG, S. P.; GUPTA, P. K.; PRASAD, R.; MARSILI, E. Microbial desalination cell: desalination through conserving energy. **Desalination**, v. 521, p. 115381, 2022.

## APENDICE A - Leituras da densidade ótica.

**Tabela 01:** Densidade óptica em caldo BHI com adição de 0,1% e 0,5 % da fonte de carbono

Linhagem	Fonte de carbono e concentrações							
	GLU SAC LAC CIT				GLU SAC LAC CIT			
	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,5%	0,5%	0,5%	0,5%
002A	1,334	1,852	1,590	1,134	1,622	1,668	1,196	1,902
002B	2,219	2,441	2,281	2,185	2,305	2,241	2,272	2,337
003A	2,346	2,215	2,231	2,188	2,251	2,192	2,227	2,286
003B	2,169	2,192	2,191	2,129	1,825	2,150	2,198	2,093
UFPEDA 416	2,102	2,007	2,107	1,998	1,971	2,114	2,009	2,015

DP= 0,1 / 0,3

Fonte: Autoria própria (2024)

**Tabela 02:** Densidade óptica em caldo nutriente com adição de 0,1% e 0,5% da fonte de carbono.

Linhagem	Fonte de carbono e concentrações							
	GLU SAC LAC CIT				GLU SAC LAC CIT			
	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,5%	0,5%	0,5%	0,5%
002A	0,661	0,364	0,592	1,302	0,271	0,151	0,185	1,498
002B	0,531	0,851	0,684	1,979	0,550	0,970	0,143	2,070
003A	0,633	0,882	1,010	0,331	0,552	0,549	0,636	1,117
003B	0,366	0,757	0,613	1,179	0,464	0,324	0,413	0,894
UFPEDA 416	0,580	0,705	0,716	1,106	0,651	0,825	0,615	1,008

DP= 0,3

Fonte: Autoria própria (2024)

**Tabela 03:** Densidade óptica de células plactônicas em caldo BHI com adição de 0,1% e 0,5% da fonte de carbono.

Linhagem	Fonte de carbono e concentrações							
	GLU SAC LAC CIT				GLU SAC LAC CIT			
	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,5%	0,5%	0,5%	0,5%
002A	0,011	0,051	0,044	0,050	0,053	0,037	0,052	0,067
002B	0,070	0,069	0,081	0,075	0,074	0,075	0,077	0,065
003A	0,070	0,075	0,078	0,075	0,067	0,075	0,075	0,065
003B	0,067	0,077	0,058	0,065	0,071	0,072	0,062	0,020
UFPEDA 416	0,071	0,062	0,069	0,070	0,68	0,073	0,071	0,062

DP= 0,2 / 0,1

Fonte: Autoria própria (2024)

**Tabela 04:** Densidade óptica de células plactônicas em caldo mineral com adição de 0,1% da fonte de carbono.

Linhagem	Fonte de carbono e concentrações							
	GLU SAC LAC CIT				GLU SAC LAC CIT			
	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,5%	0,5%	0,5%	0,5%
<b>002A</b>	1,001	0,692	0,708	0,838	0,699	0,766	0,737	0,766
<b>002B</b>	0,853	0,825	0,841	0,821	1,318	0,789	0,826	0,822
<b>003A</b>	0,793	0,976	0,701	0,752	0,853	0,776	0,671	0,737
<b>003B</b>	0,901	0,915	1,097	0,742	0,781	0,712	0,717	0,753
<b>UFPEDA 416</b>	0,806	0,995	0,913	0,797	0,916	0,817	0,724	0,803

DP= 0,2

Fonte: Autoria própria (2024)

**Tabela 09:** Densidade óptica da solução cristal violeta-etanol, representando as células em biofilme após exposição à irradiação da LED de alta potência a 460nm.

Linhagem	0h	1h	2h	3h	4h	Controle
<b>002A</b>	0,564	0,568	0,567	0,571	0,574	0,542
<b>002B</b>	0,562	0,564	0,568	0,565	0,573	0,600
<b>003A</b>	0,574	0,566	0,568	0,474	0,568	0,605
<b>003B</b>	0,571	0,570	0,572	0,574	0,492	0,570

Fonte: Autoria própria (2024)