



Estudo comparativo do efeito antimicrobiano de nanopartículas de prata biogênicas e sintéticas em nanofibras de policaprolactona preparadas por eletrofição

Maria Luana de Sousa e Sousa¹(IC), Jéssica da Fonseca Corrêa¹(IC), Taisa Lorene Sampaio Farias¹, Walter Ricardo Brito¹(PQ), Taciana de Amorim Silva²(PQ), Maria Francisca Simas Teixeira²(PQ), Karen Segala^{1*}(PQ)

* karen@ufam.edu.br

¹Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM

²Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Parasitologia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM.

Palavras Chave: nanopartículas de prata, policaprolactona, eletrofição

Introdução

Há séculos os compostos à base de prata eram utilizados no tratamento e prevenção de infecções causados por microrganismos como fungos, bactérias, protozoários e alguns vírus, porém o uso desses compostos foi reduzido com o surgimento de novos antibióticos. A Ag na forma nanoparticulada tem despertado grande interesse no meio científico pela ampliação do poder antimicrobiano em função da nanoescala promovendo a estabilidade, maleabilidade, elevadas condutividades elétrica e térmica, além de possuir um baixo custo de produção.¹ Uma variedade de biomoléculas e fármacos tem sido incorporada em nanofibras poliméricas. A biofuncionalização da superfície melhora sua biocompatibilidade sem alterar as propriedades do material, visando o aumento da hidrofiliabilidade, adesão, migração e proliferação celular. Além disso, vários estudos têm explorado a preparação de nanofibras biopoliméricas com propriedades antimicrobianas.² O foco desse estudo está na preparação de membranas biopoliméricas de policaprolactona (PCL) eletrofiadas com a incorporação de AgNPs biogênicas e sintéticas para aplicação como um curativo antisséptico em infecções cutâneas graves.

Material e Métodos

As AgNPs foram sintetizadas em solução aquosa pela redução química de AgNO₃ usando NaBH₄ como agente redutor e citrato e sódio como estabilizante, à 4 °C sob vigorosa agitação.³ Para síntese biológica de AgNPs foi adicionado ao extrato aquoso recuperado de uma solução contendo microrganismos por uma suspensão de 10⁶ esporos por mL, à solução de AgNO₃ de forma a se obter uma concentração final de 1mM. A solução ficou incubada por 96h no escuro, à 25°C, sob agitação de 200 rpm. A solução foi cedida pela micoteca do DPUA/UFAM. Uma solução amarelada foi formada em ambas as sínteses indicando a formação de uma suspensão de Ag coloidal confirmada por UV-vis, em torno de 400 nm.⁴ As AgNPs

foram incorporadas em membranas eletrofiadas de PCL, preparadas em solução de clorofórmio e acetona (1:1 v/v) em 16% de PCL, sob agitação magnética por 4hs, à temperatura ambiente.

Resultados e Discussão

Os espectros de UV vis foram obtidos das soluções coloidais de AgNPs preparadas pelo método sintético (Fig.1A) e biogênicas (Fig.1B).

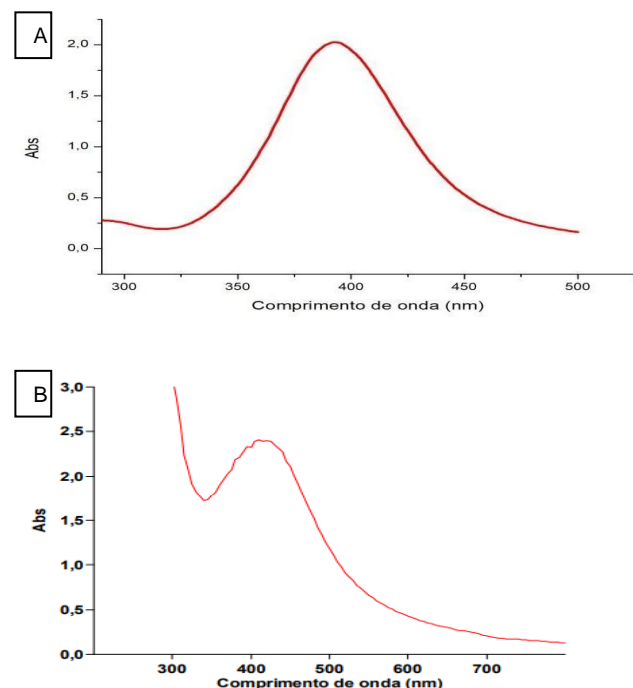


Figura 1. Espectro de absorção em UV-vis das AgNPs sintéticas (A) e biogênicas (B)

Observa-se na Fig.1 a formação da Ag nanoparticulada foi confirmada pelo pico de absorção no espectro de UV-vis em torno de 400 nm.

A morfologia das membranas poliméricas de PCL preparadas por eletrofição, na presença de AgNPs

sintéticas (Fig. 2A) e biogênicas (Fig.2B) foram observadas por MEV.

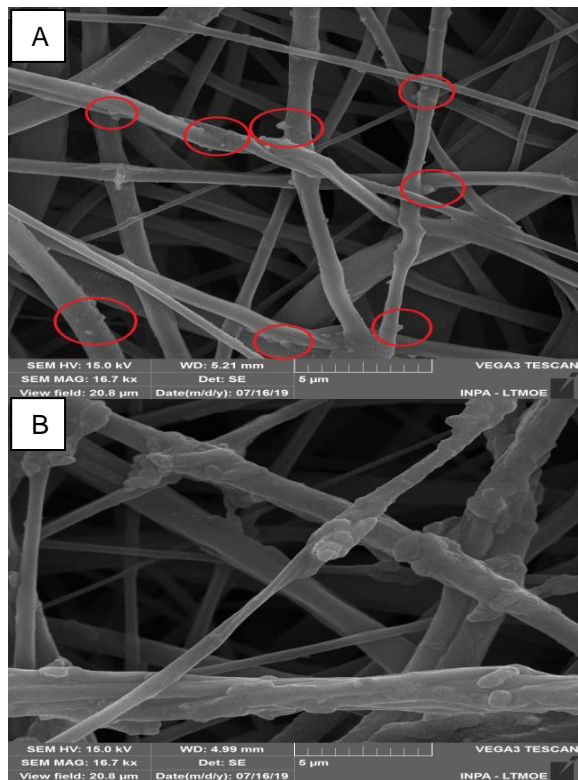


Figura 2. Imagens obtidas por MEV das AgNPs sintéticas (A) e biogênicas (B)

Observa-se nas imagens obtidas por MEV mostrada na Figura 2 que as nanofibras eletrofiadas de PCL possuem uma superfície lisa, porém com alguns pontos circulado em vermelho, sugerindo a presença das AgNPs preparadas pelo método sintético (Fig.2A), enquanto que as nanofibras de PCL incorporadas com AgNPs biogênicas possuem superfície mais rugosa, sugerindo melhor aderência das AgNPs às fibras. O estudo estático de diâmetro de fibras realizado a partir das imagens MEV mostraram um tamanho de 1,5 µm e 1,25 µm das fibras de PCL/AgNPs sintéticas e biogênicas, respectivamente. As amostras das membranas foram testadas quanto a atividade antimicrobiana frente a 3 micro-organismos: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans* e são apresentadas na Figura 3. Esses testes foram realizados em triplicata para cada um dos microorganismos testados. A Figura 3 apresenta as fotos obtidas das placas de microcultivo das membranas de PCL/Ag química (MQ), PCL/Ag biogênica (MB), AgNPs biogênicas (NPsBio), AgNPs química (NPsQ), na ausência de AgNPs (controle negativo, C-), e controle positivo (C+) sendo utilizados AgNO₃ 1 mM, itraconazol (1µg/mL) para leveduras e rifampicina para bactérias (1µg/mL).

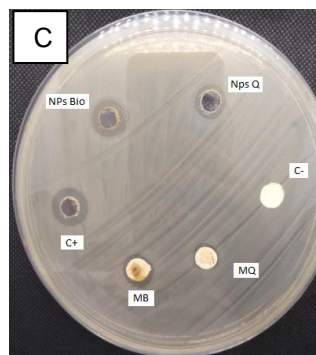
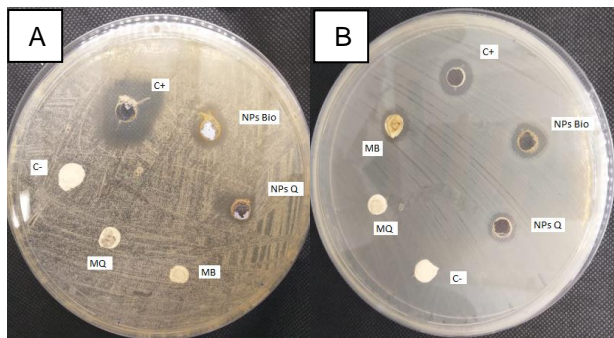


Figura 3. Ensaio microbiológico das membranas de PCL funcionalizadas com AgNPs química e biogênicas frente à levedura *Candida albicans* (A), e as bactérias *Escherichia Coli*(B), e *Staphylococcus aureus* (C).

Os estudos microbiológicos com as membranas eletrofiadas de PCL mostraram efeito inibitório com os três microorganismos testados, identificados na Figura 3, como *C. albicans* (1), *E. Coli* (2), e *S. aureus* (3), sendo mais significativas com as AgNPs biogênicas para as bactérias *E. Coli* (1,67) e *S. aureus* (1,33) do que para a levedura (1,1) testadas. Ao se comparar os halos inibitórios do crescimento microbiano observadas para as AgNPs, as biogênicas obtiveram os maiores valores comparadas aos halos inibitórios das AgNPs química. Os resultados sugerem que as AgNPs biogênicas apresentaram melhores resultados inibitórios frente as AgNPs química para os três microorganismos testados, mostrando que as membranas de PCL/Ag biogênicas foram mais efetivas no comportamento antimicrobiano e antifúngico testado.

Conclusões

As membranas eletrofiadas de PCL com a incorporação de AgNPs preparadas pelo método químico e biogênico apresentaram significativo efeito inibitório do crescimento antimicrobiano e antifúngico podendo ser aplicadas como curativos antissépticos em ferimentos cutâneos.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq e a FAPEAM pelo auxílio financeiro concedido.

¹ DURÁN, N., SEABRA, A. B. Biogenic Synthesized Ag/Au Nanoparticles: Production, Characterization, and Applications, *Current Nanoscience*, v.14, p. 82-94, 2018.

² SANTOS, F. G. PIAI, J. F. BONKOVOSKI, L. C. WITT, M. A. RUBIRA, A. F. MUNIZ, E. C. Imobilização de Nanopartículas de Prata em Malhas de Nanofibras de Poli(Caprolactona)/Poli [(2-Dimetilamino)Etil Metacrilato]. 2015. - Universidade Estadual de Maringá – UEM, Campus de Umuarama, Umuarama – PR

³ SEGALA, K, NISTA SV, CORDI L, BIZARRIA MT, ÁVILA JÚNIOR JD, KLEINUBING, SA, CRUZ DC, BROCCHI M, LONA LM, DURÁN, N., MEI LH. Silver nanoparticles incorporated into nanostructured biopolymer membranes produced by electrospinning : a study of antimicrobial activity. *Braz. J. Pharm. Sci.* v.51, n.4, p. 911-921, 2015.

⁴ SILVA, T.A., ANDRADE, P.F., SEGALA K., SILVA, L.S.C., SILVA, L.P., NISTA, S.V.G., MEI, L.H.I., DURÁN, N., TEIXEIRA, M.F.S. Silver nanoparticles biosynthesis and impregnation in cellulose acetate membrane for anti-yeast therapy. *African Journal of Biotechnology*, v. 16, n. 27, p. 1490-1500, 2017.