

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIBIOFILME DE NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA MESOPOROSA SINALIZADAS E CARREGADAS COM CIPROFLOXACINA

Grazielle Aparecida dos Santos¹ (IC), Daniel Cristian Ferreira Soares (PQ)¹

¹Universidade Federal de Itajubá

Palavras-chave: Biofilme. Biomaterial. CMB. CMI. MSNs.

Introdução

A seguinte pesquisa tem como tema a verificação da atividade antimicrobiana e antibiofilme de nanopartículas de sílica mesoporosa (MSNs), as quais foram sinalizadas com o grupo químico 3-aminopropil-trietoxissilano (APTES) e carregadas com o antibiótico Ciprofloxacina. Neste sentido, o objetivo desta investigação científica é analisar e comparar o desempenho dos biomateriais SBA16 (MSNs puras), SBA16-APTES (MSNs somente funcionalizadas), SBA16-CIPRO (MSNs apenas carregadas com tal droga de amplo espectro) e SBA16-APTES-CIPRO (MSNs sinalizadas com APTES e carregadas com Ciprofloxacina) contra duas cepas bacterianas, *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Escherichia coli* (ATCC 9739).

O estudo é necessário em razão de que a resistência aos antimicrobianos disponíveis e a formação de biofilmes comprometem o tratamento de pacientes com infecções e doenças causadas por bactérias, de modo que refere-se a problemas muito sérios para a humanidade, podendo causar graves morbimortalidades, bem como ocasionar alto custo para a saúde pública (AHMAD; KHAN, 2019; TERRA *et al.*, 2017). Assim, é de grande importância o desenvolvimento de novos nanomateriais, os quais são apontados como promissores antimicrobianos e antibiofilmes, uma vez que podem carregar fármacos e os liberar com uma taxa de difusão moderada, diminuindo sua concentração sistêmica e sua toxicidade e aumentando o seu tempo de ação (MEMAR *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2015).

As MSNs são nanomateriais em evidência para o tratamento de infecções causadas por bactérias quando combinado com agentes farmacêuticos, uma vez que possuem propriedades específicas, como uma alta superfície (fácil de ser funcionalizada) e um grande volume de poros reguláveis e uniformes (LI; ZHANG; FENG, 2019; MORA *et al.*, 2021). Essas características as tornam marcantes para a liberação sustentada de medicamentos, de modo que o entendimento de todo o

seu potencial demanda pesquisas, a fim de usá-las para prover a saúde humana.

Portanto, a fim de avaliar a atuação dos biomateriais em análise, realizou-se ensaios biológicos que determinam a mais baixa concentração que inibe o crescimento das células bacterianas, a menor concentração de cada composto que destrói as bactérias e a sua capacidade em impedir a formação de biofilme dos microrganismos *S. aureus* e *E. coli*.

Metodologia

Para a avaliação da atividade antimicrobiana e antibiofilme dos nanomateriais SBA16, SBA16-APTES, SBA16-CIPRO e SBA16-APTES-CIPRO foram realizadas os protocolos de determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI), determinação da Concentração Mínima Bactericida (CMB) e avaliação da capacidade de inibição da formação de biofilme. Os ensaios biológicos citados acima foram baseados nos métodos descritos por André *et al.* (2020), com modificações, uma vez que utilizou-se como controle positivo dos testes de CMI o antibiótico Ciprofloxacina (tendo, após diluição seriada, a concentração final no poço de 0,075 µg/mL) e fez-se o protocolo de formação de biofilme utilizando uma única concentração subinibitória dos biomateriais (½ CMI). Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

Resultados e discussão

Após a realização do protocolo de microdiluição em caldo (que determina a CMI) e seguida incubação, pode-se fazer as leituras das placas. A leitura dos resultados é conspícua, posto que a coloração rosa indica crescimento bacteriano e a coloração azul indica ausência de crescimento. Destaca-se que a CMI refere-se à concentração mais baixa do composto que inibe o crescimento visível da cultura bacteriana. Desse modo, a Figura 1 e 2 mostram, respectivamente, as placas contendo os resultados dos testes de CMI dos biomateriais para a *S. aureus* e *E. coli*.

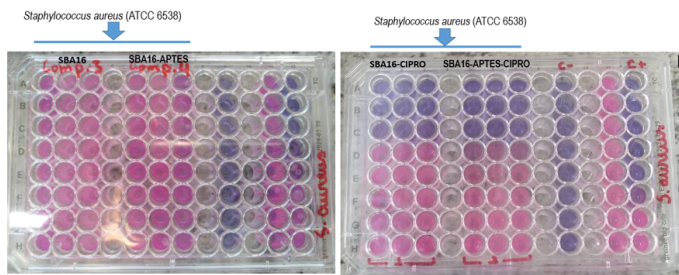


Figura 1 – Placas com os testes de CMI dos biomateriais para a *S. aureus*.

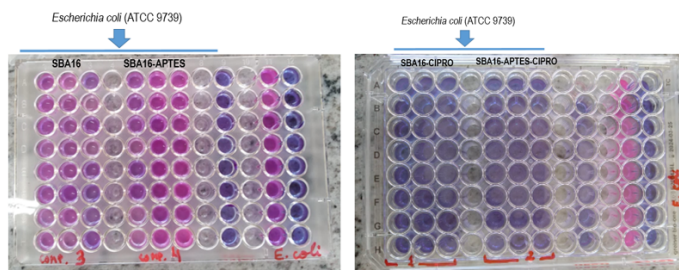


Figura 2 – Placas com os testes de CMI dos biomateriais para a *E. coli*.

Os resultados de CMI apontam que tanto para *S. aureus* quanto para a *E. coli* os biomateriais SBA16 e SBA16-APTES não apresentam atividade de inibição do crescimento dessas células bacterianas. Para a *S. aureus*, os compostos SBA16-CIPRO e SBA16-APTES-CIPRO apresentaram CMI de $2,375 \mu\text{g/mL}$, à medida que para a *E. coli* esses compostos expressam CMI de $0,075 \mu\text{g/mL}$.

Esses resultados revelam que a menor concentração a qual vai inibir a atividade metabólica das cepas de bactérias em análise é igual para o SBA16-CIPRO e o SBA16-APTES-CIPRO, de modo que a funcionalização das MSNs não faz diferença em sua atuação. Além disso, é possível inferir que estes dois nanomateriais carregados com Ciprofloxacina são mais eficientes contra a *E. coli* (gram-negativa), visto que exige uma menor concentração para a inibição do crescimento visível desta cepa bacteriana.

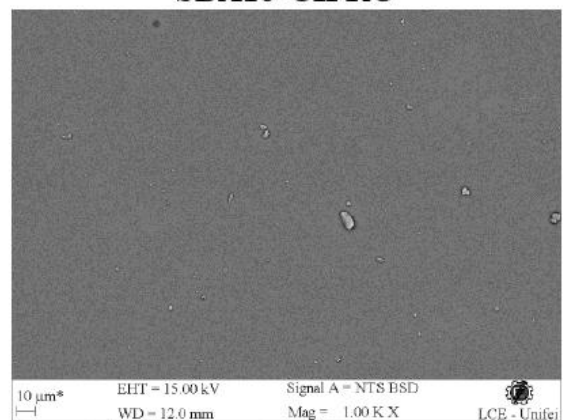
No teste de CMB, que revela a concentração mais baixa do composto necessária para matar as células bacterianas, os resultados exibem que as SBA16 e SBA16-APTES não possuem atividade bactericida. Diferentemente, os compostos SBA16-CIPRO e SBA16-APTES-CIPRO tem ação bactericida contra a *E. coli*, mas não para *S. aureus*.

Por fim, na avaliação da capacidade antibiofilme dos nanomateriais em estudo, através da análise da contagem de Unidade Formadora de Colônia (UFC) e observação das amostras no Microscópio

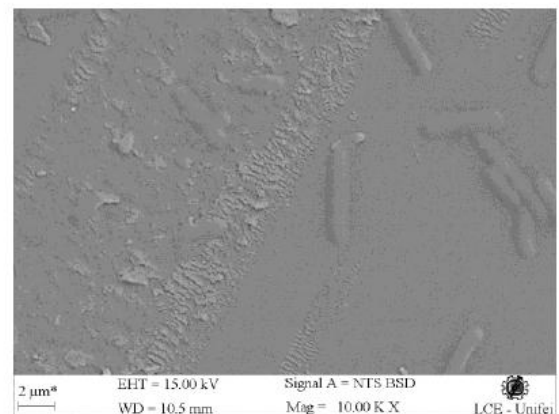
Eletrônico de Varredura (MEV), foi possível atestar que os biomateriais SBA16-CIPRO e SBA16-APTES-CIPRO inibem a formação de biofilme das cepas testadas em uma concentração subinibitória ($\frac{1}{2}$ CMI). A Figura 3 e 4 mostram os resultados do MEV que evidenciam a atuação antibiofilme dessas duas nanoestruturas carregadas com Ciprofloxacina. Outrossim, foi observado pela contagem de UFC e pelo MEV que os compostos SBA16 e SBA16-APTES não apresentaram atividade contra a formação de biofilme de *S. aureus* e *E. coli*.

À vista disso, as MSNs puras ou apenas modificadas com o grupo funcional APTES não apresentam atuação antimicrobiana e também antibiofilme. Já as nanoestruturas que foram carregadas com o fármaco Ciprofloxacina possuem esses tipos de atividades. Desse modo, o SBA16-CIPRO e SBA16-APTES-CIPRO são biomateriais promissores para auxiliarem no âmbito biomédico, demandando mais estudos com outras espécies de bactérias, inclusive com cepas resistentes.

SBA16-CIPRO



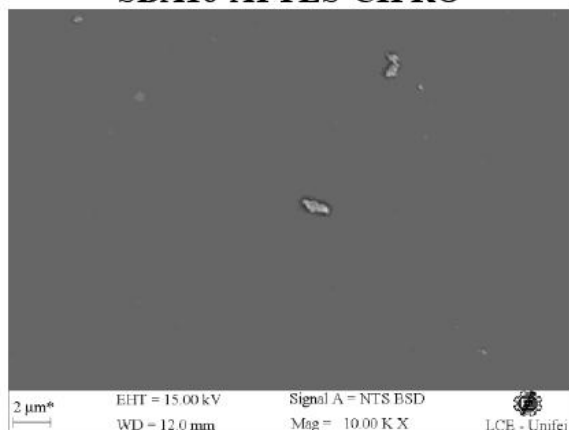
Staphylococcus aureus (ATCC 6538)



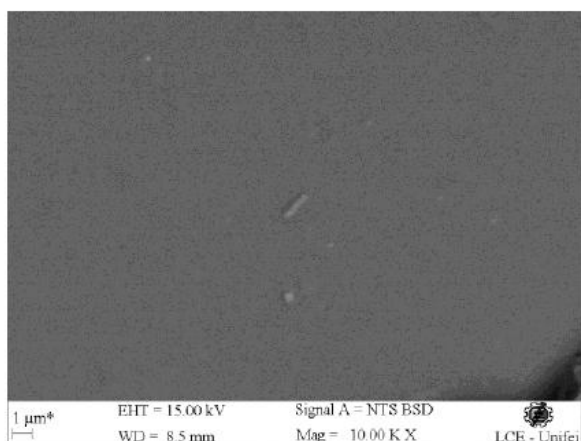
Escherichia coli (ATCC 9739)

Figura 3 – Imagens observadas no MEV da ação antibiofilme do biomaterial SBA16-CIPRO.

SBA16-APTES-CIPRO



Staphylococcus aureus (ATCC 6538)



Escherichia coli (ATCC 9739)

Figura 4 – Imagens observadas no MEV da ação antibiofilme do biomaterial SBA16-APTES-CIPRO.

Conclusões

A partir da realização da pesquisa, conclui-se que os biomateriais SBA16 e SBA16-APTES não possuem atividade antimicrobiana e antibiofilme e, em contrapartida, os biomateriais SBA16-CIPRO e o SBA16-APTES-CIPRO apresentam essas ações. Além disso, foi possível inferir que a sinalização das MSNs não agrega atuação contra as células bacterianas, visto que os dois tipos de MSNs carregadas com a droga Ciprofloxacina, estando ou não funcionalizadas, apresentaram mesmo CMI.

Agradecimento

À Diretoria de Pesquisa (DIP) da Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI) pela concessão da bolsa institucional de Iniciação Científica e ao Prof. Dr. Daniel Cristian Ferreira Soares pela orientação e oferecimento

das nanopartículas de sílica mesoporosas. Além de tudo, à professora Dra. Daniela Sachs e a doutoranda Tainara Aparecida Nunes Ribeiro pela orientação, ajuda e convivência durante o desenvolvimento da pesquisa.

Referências

ANDRÉ, L. S. P. *et al.* Biological evaluation of selected 1, 2, 3-triazole derivatives as antibacterial and antibiofilm agents. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 24, p. 2186-2191, 2020.

AHMAD, M.; KHAN, A. U. Global economic impact of antibiotic resistance: A review. **Journal of global antimicrobial resistance**, v. 19, p. 313-316, 2019.

LI, Z.; ZHANG, Y.; FENG, N.. Mesoporous silica nanoparticles: Synthesis, classification, drug loading, pharmacokinetics, biocompatibility, and application in drug delivery. **Expert opinion on drug delivery**, v. 16, n. 3, p. 219-237, 2019.

MEMAR, M. Y. *et al.* Antimicrobial and antibiofilm activities of meropenem loaded-mesoporous silica nanoparticles against carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Biomaterials Applications**, v. 36, n. 4, p. 605-612, 2021.

MORA, B. J. *et al.* Boosting antimicrobial activity of ciprofloxacin by functionalization of mesoporous silica nanoparticles. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 2, p. 218, 2021.

TERRA, M. R. *et al.* Enterococcus spp e Staphylococcus aureus em lesão por pressão. **BJSCR**, v. 18, n. 2, p. 141-148, 2017.

WANG, Y. *et al.* Mesoporous silica nanoparticles in drug delivery and biomedical applications. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 11, n. 2, p. 313-327, 2015.