

ANÁLISE DO EFEITO ANTIMICROBIANO DE NÃO TECIDO ELETROFIADO A BASE DE PVA ASSOCIADO À NANOPARTÍCULAS DE PRATA

Lara Silva Souza Rebouças¹, Lúcia Vieira², Maiara Lima Castilho¹

¹Laboratório de Bionanotecnologia, Universidade do Vale do Paraíba/Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Avenida Shishima Hifumi, 2911, Urbanova - 12244-000 - São José dos Campos-SP, Brasil, larasilvasouzareboucas@hotmail.com, mcastilho@univap.br

²Nanotecnologia e Processos a Plasma, Universidade do Vale do Paraíba/Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Avenida Shishima Hifumi, 2911, Urbanova - 12244-000 - São José dos Campos-SP, Brasil, lucia.vieira@univap.br

Resumo

A reparação tecidual é um tema de muito interesse na área da saúde, tendo em vista que quanto mais eficiente acontece a reparação, mais rápida é a cicatrização e menor é o risco de infecção. Esse fator é ainda mais importante para pessoas que possuem doenças que fazem com que a eficiência da cicatrização seja prejudicada, como a diabetes. Dito isto, o presente trabalho propôs a confecção de um curativo eletrofiado de álcool polivinílico (PVA), associado à nanopartículas de prata para combater os microorganismos presentes em feridas, diminuindo o risco de infecção para que a reparação aconteça de forma mais rápida e eficiente. Para a construção do não tecido foi utilizado nanopartículas de prata em pó com ~77,7nm de diâmetro com morfologia esférica e após a eletrofiação o não tecido apresentou uma fibra de ~384,3 nm de diâmetro. Com a realização do teste de halo inibitório pode-se perceber que a nanopartícula de prata em pó mostrou potencial para combater os microorganismos, uma vez que apresentou a formação de um halo de inibição de 7,9mm de diâmetro.

Palavras-chave: Antimicrobiano, nanopartícula de prata, Álcool Polivinílico, curativo, microorganismos

Área do Conhecimento: Engenharia Biomédica.

Introdução

A melhoria na eficiência da reparação de tecidos é um aspecto de grande relevância na área da saúde. Quando uma ferida ocorre, o objetivo principal é fechá-la o mais rapidamente possível para reduzir o risco de infecções [1]. Em pessoas com doenças que dificultam a cicatrização, essa eficiência torna-se ainda mais crucial. Um exemplo são os diabéticos, que enfrentam infecções mais perigosas e difíceis de tratar [2].

Os diabéticos têm dificuldade em cicatrizar feridas normalmente e são mais suscetíveis a infecções devido à hipóxia, que é a falta de oxigênio em certas áreas do corpo. Isso reduz a produção de novos vasos sanguíneos (angiogênese) e, devido à demora na cicatrização, são produzidas substâncias que degradam a matriz extracelular, dificultando a reparação e facilitando a contaminação por bactérias [2].

A área da saúde tem se beneficiado muito com a incorporação de novas tecnologias nos tratamentos. Um desses avanços são os “curativos inteligentes”, que ajudam no monitoramento, cicatrização e inibição do crescimento microbiológico, desde cortes superficiais até feridas mais profundas [3]. Nesse contexto, a técnica de eletrofiação utiliza força eletrostática para produzir fibras ultrafinas a partir de uma solução polimérica, resultando em fibras contínuas em nanoescala, tanto individualmente quanto em mantas ou membranas [4, 5, 6]. O álcool polivinílico (PVA) é um polímero sintético hidrossolúvel, biodegradável, biocompatível e de baixo custo, amplamente utilizado em práticas médicas.

A nanotecnologia se destaca como uma ferramenta promissora no combater infecções causadas por microrganismos resistentes em feridas. O uso da prata, que possui propriedades desinfetantes e bactericidas, surge como uma alternativa inovadora e eficaz na inibição microbiológica [7]. Neste contexto, o presente projeto visa o desenvolvimento de um curativo tecnológico eletrofiado de PVA associado a nanopartículas de prata, promovendo a integração da nanociência no tratamento de infecções bacterianas resistentes, tornando o tratamento mais fácil, confortável e eficaz.

Metodologia

NANOPARTÍCULAS DE PRATA

As nanopartículas de prata em pó utilizadas na confecção do não tecido foram compradas na empresa NanoAmor.

PRODUÇÃO DO NÃO TECIDO DE ÁLCOOL POLIVINÍLICO

Para a produção do não tecido, inicialmente foi feita uma solução contendo 2,5g de álcool polivinílico e 22,5g de água destilada. A solução foi mantida em agitação constante com uma barra magnética e temperatura de aproximadamente 45°C até a dissolução total do PVA. Em seguida foi adicionado 0,125g de ácido cítrico na solução, e esta foi mantida sob as mesmas condições de agitação e temperatura até a dissolução total do ácido. A solução final foi mantida em descanso até atingir a temperatura ambiente e em seguida foi depositada em uma seringa com agulha de ferro e levada até a sala de eletrofiação onde o ar-condicionado e o desumidificador foram ligados uma hora antes para que a umidade da sala fosse o mais baixa possível. A seringa contendo a solução foi encaixada em uma bomba de ejeção setada para vazão de 1ml por hora. À 10cm da ponta da agulha foi posicionada uma placa coletora de cobre revestida com papel alumínio. Foi usado uma fonte de alta tensão cujo polo positivo foi conectado na agulha de ferro e o polo negativo foi conectado na placa coletora. A fonte foi ligada com uma tensão de 15Kv e a eletrofiação seguiu por 3 horas, até o final da solução. A umidade da sala estava em 29% e a temperatura em 23°C.

PRODUÇÃO DO NÃO TECIDO DE ÁLCOOL POLIVINÍLICO E NANOPARTÍCULAS DE PRATA EM PÓ

A solução de PVA e ácido cítrico feita para a produção do não tecido inicial foi usada também para a produção do não tecido com nanopartículas de prata em pó. 1,5ml da solução de PVA e ácido cítrico foi misturado com 2,13g de nanopartículas de prata em pó e colocada sob agitação constante com barra magnética e temperatura de aproximadamente 45°C até a total dissolução das nanopartículas de prata em pó. Após a solução pronta, o protocolo da eletrofiação foi seguido normalmente com a umidade da sala em 31% e temperatura de 22,7°C.

Figura 1: Produção do Não tecido a base de álcool polivinílico. a) Bomba de ejeção e placa coletora. b) Fonte de alta tensão; c) Formação do não tecido durante o processo de eletrofiação



Fonte: Os autores

ANÁLISE NO MEV

Os não tecidos eletrofiados foram cortados em forma retangular e depositados no coletor do MEV para metalização. Após a metalização, as amostras foram inseridas no MEV para que a análise fosse feita, usando como parâmetros magnitude de 5Kx e 20Kv.

CEPA BACTERIANA E CONDIÇÕES DE CULTURA

A cepa padrão de *Staphylococcus aureus* foi cedida pelo Laboratório Oswaldo Cruz de São José dos Campos por meio de um convênio. A bactéria foi armazenada em caldo BHI (do inglês, *Brain Heart Infusion*) com 20% de glicerol (LGC, 13-1325-10) em ultra freezer a -80°C . Para os ensaios, a cepa foi reativada em caldo BHI e incubada em estufa bacteriológica por 24h a 37°C , seguida de semeadura por esgotamento em ágar BHI e incubada novamente por 24h a 37°C .

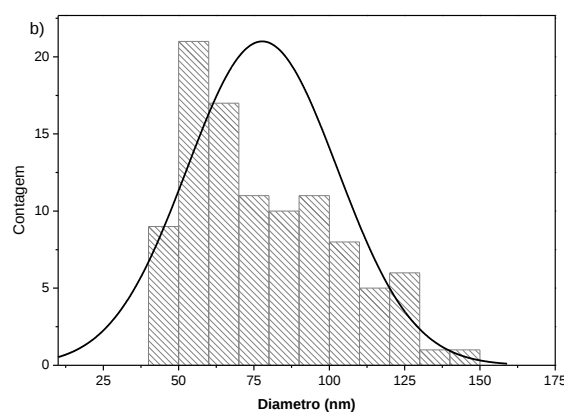
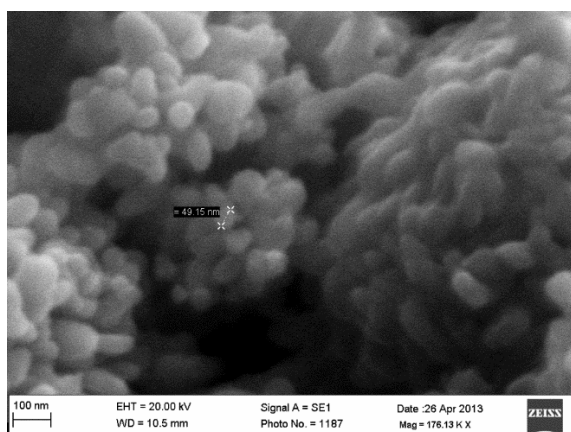
FORMAÇÃO DE HALO DE INIBIÇÃO

A realização dos testes seguiu o protocolo de disco de difusão da CLSI com algumas modificações. A bactéria usada foi a ATCC *Staphylococcus aureus*, repicada 24 horas antes do experimento. Essa bactéria foi padronizada na escala 0,5 Mac Farland e 3 placas foram inoculadas com essa padronização com swab estéril e usando a técnica de esgotamento. Após a inoculação das placas, um disco de não tecido de 10mm de diâmetro de cada um dos grupos foi depositado no centro de cada placa. Por fim, as placas foram colocadas em estufa à 37°C e após 24 horas a leitura foi feita.

Resultados

As análises feitas no MEV possibilitaram observar as características das nanopartículas de prata em pó, as quais apresentam um diâmetro de aproximadamente 77,7nm com morfologia esféricas (Figura 2). Na figura 2b mostra o histograma das medidas realizadas para obtenção do diâmetro das partículas com uma distribuição normal.

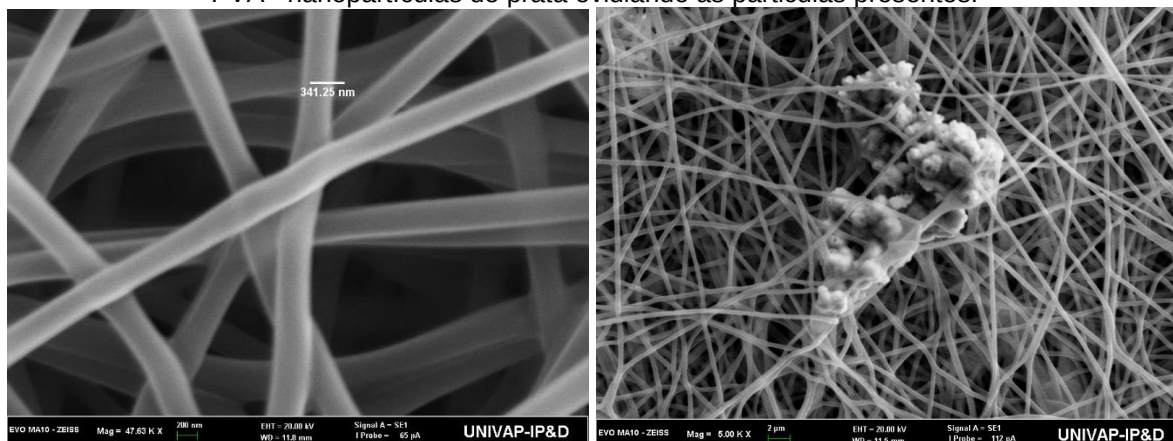
Figura 2: Análise das nanopartículas de prata em pó. a) Micrografia das nanopartículas. b) histograma da distribuição do diâmetro das partículas.



Fonte: Os autores

Na Figura 3 mostra a fibra do não tecido, o qual apresenta características morfológicas compatíveis com a literatura tendo uma média de diâmetro de aproximadamente 384,3nm. Nesta análise foi possível observar a presença das nanopartículas de prata na superfície das fibras eletrofiadas (Figura 3b), as quais se mostram presas entre os fios do não tecido durante o processo de eletrofiliação por serem muito menores quando relacionados.

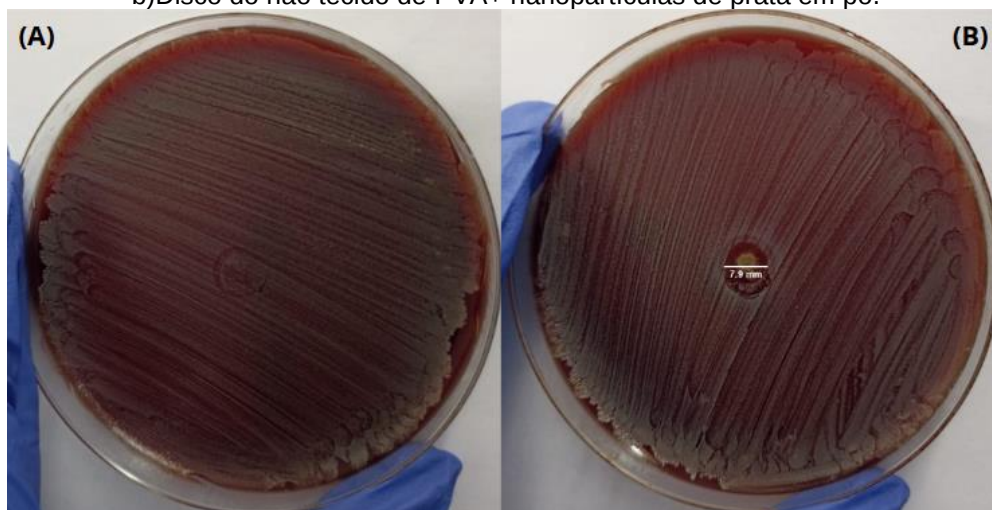
Figura 3: Micrografia obtidas no MEV. a) Não tecido de PVA+ nanopartículas de prata. b) Não tecido de PVA+ nanopartículas de prata evidenciando as partículas presentes.



Fonte: Os autores

Após a confecção do não tecido foi realizado o teste de formação do halo de inibição (Figura 4a). O resultado do teste, mostra que disco de PVA puro não apresentou formação de halo, portanto houve crescimento homogenio por todo o agar, enquanto para os não tecido+nanopartículas de prata apresentou uma formação de halo significativa ao de formação de 7,9mm de diâmetro (Figura 4b).

Figura 4: Formação do halo de inibição em cepas de *S. aureus*. A) Disco do não tecido de PVA puro; b) Disco do não tecido de PVA+ nanopartículas de prata em pó.



Fonte: Os autores

Discussão

A técnica de eletrofiação para produção de curativos vem sendo usada em outros trabalhos, e de acordo com Azevedo M.M. e seus colaboradores (2015), o uso sobre um ferimento, a rápida disponibilidade do agente cicatrizante torna-se interessante no sentido de intensificar o processo de cura da enfermidade, ficando o não tecido agindo como um curativo passivo[9]. Esse fato corrobora com os resultados encontrados, em que o não tecido sintetizado apresenta uma rápida absorção pelo meio permeando facilmente seu agente antimicrobiano, no caso as nanopartículas de prata.

Pode-se observar também que o não tecido de PVA não apresentou ação inibitória sobre o microorganismo, como já era esperado, uma vez que o objetivo desse biopolímero no projeto é apenas ser biocompatível e biodegradável. Já o não tecido de PVA+ nanopartículas de prata em pó se mostrou eficiente na inibição do microorganismo pois houve a formação de um halo de inibição. A formação desse halo de inibição é importante pois mostra que a presença das nanopartículas de prata em pó na confecção do não tecido fez com que este adquirisse uma característica que fez efeito sobre o microorganismo inibindo o seu crescimento.

O processo da eletrofiação juntamente com a ação das nanopartículas de prata em pó se mostrou satisfatório, com uma morfologia em fibras facilitando a permeação. Este fato corrobora com os resultados encontrados por CAVALCANTE e colaboradores (2022), a técnica de eletrofiação permite a criação de filmes poliméricos que imitam a matriz extracelular e podem ser usados como dispositivos de entrega de substâncias na cicatrização de feridas [10].

Conclusão

A partir dos resultados e discussões apresentadas pode-se concluir que as nanopartículas de prata em pó apresentaram morfologia esféricas com um diâmetro menor do que as fibras do não tecido, o que facilitam as mesmas permanecerem na superfície das fibras. Além disso, a associação das nanopartículas torna o não tecido antimicrobiano, exibindo uma ação inibitória sobre o microorganismo *S. aureus*, o qual exibiu uma formação de halo com inibição do crescimento, podendo ser aplicado futuramente em feridas.

Referências

- [1] BORGES, I.L. Et al. Biotechnology: Applications of Tissue Engineering in the regeneration of human organs and tissues – Review. **Research, society and development**. 2023.
- [2] GOMES, M.G. Et al. Complications faced by diabetic patients in the healing process: an integrative literature review. **Research, society and development**. 2021.
- [3] FREIRE, N.B. Et al. Atividade antimicrobiana e antibiofilme de nanopartículas de prata sobre isolados de *Aeromonas* spp. obtidos de organismos aquáticos. **Scielo Brasil**. 2018.
- [4] GRUPPUSO, M. Et al. Polymeric wound dressings, an insight into polysaccharide-based electrospun membranes. **Science direct**. 2021.
- [5] MERCANTE, L. Et al. Nanofibras eletrofiadas e suas aplicações: avanços na última década. **Scielo Brasil**. 2021.
- [6] SANTOS, D.M.dos. Et al. Fibras eletrofiadas como curativos inteligentes para o tratamento de feridas na pele. **Embrapa**. 2024.
- [7] GRASSI, L.T.; GRASSI, V.M.T. Silver nanoparticle action on wound healing: a systematic review. **Brazilian journal of development**. 2021.
- [8] DONG, R.; GUO, B. Smart wound dressings for wound healing. **Science direct**. 2021.
- [9] AZEVEDO, M. M.; VENTURELLI, R. B.; VALLE, R. C. S. C.; FONTANA, E.; ULSON DE SOUZA, A. A.; IMMICH, A. P. S.; "PRODUÇÃO DE TECIDOS NÃO TECIDOS ELETROFIADOS COM ATIVIDADE CICATRIZANTE", p. 2242-2247 . In: **Anais do XI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica [=Blucher Chemical Engineering Proceedings, v. 1, n.3]**. ISSN Impresso: 2446-8711. São Paulo: Blucher, 2015.

[10] CAVALCANTE, M. D. R.; VIAJANTE, A. T.; PACHECO, F. C.; CAMPOS, H. H. M.; BOSCARATO, A. G. Eletrofiação aplicada a cicatrização de feridas: revisão de literatura. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**. Umuarama. v. 26, n. 3, p. 1053-1067, set./dez. 2022.