

ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DA ASSOCIAÇÃO DA ÁGUA ATIVADA POR PLASMA COM AgNPs CONTRA *S. aureus*

Sophia Franzoni Azevedo Souza, Gabrielly Pellegrini de Andrade Ribeiro, Geraldo Magno Alves de Abreu, Maiara Lima Castilho.

Laboratório 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, sophia.franzoni@univap.br, bio.pellegrini@gmail.com, deabreumagno@gmail.com, mcastilho@univap.br

Resumo

A resistência bacteriana, especialmente de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), representa um desafio para o tratamento de feridas crônicas. Neste estudo, avaliou-se a atividade antimicrobiana da água ativada por plasma (PAW), das nanopartículas de prata (AgNPs) de forma isoladamente e em combinação, contra *S. aureus*. A PAW reduziu a viabilidade bacteriana de forma dependente do tempo, enquanto as AgNPs exibiram efeito dose-dependente. Notavelmente, a combinação PAW+AgNPs demonstrou efeito sinérgico, quase eliminando as colônias mesmo em baixas concentrações de AgNPs. Esses resultados sugerem que a associação dessas tecnologias pode constituir uma alternativa promissora para o tratamento de infecções resistentes em feridas crônicas.

Palavras-chave: Resistência bacteriana. Nanopartículas de prata. Água ativada por plasma. Efeito sinérgico.

Área do Conhecimento: Engenharia Biomédica.

Introdução

A resistência bacteriana aos antibióticos representa um dos maiores desafios da saúde pública atual, decorrente principalmente do uso excessivo e inadequado desses fármacos (WHO, 2020). Entre os patógenos de maior relevância clínica está o *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), associado a infecções hospitalares e comunitárias de difícil tratamento (Gelatti et al., 2009). No contexto de úlceras crônicas, como as relacionadas ao pé diabético, a presença de microrganismos resistentes contribui para altas taxas de complicações, incluindo amputações e óbitos. A hiperglicemia e o comprometimento vascular dificultam a cicatrização, tornando necessária a busca por novas alternativas terapêuticas (Ferreira, 2020; Mattos et al., 2023; Yin et al., 2020).

Nesse cenário, destacam-se as nanopartículas de prata (AgNPs), reconhecidas por sua atividade antimicrobiana de amplo espectro (Chopra, 2007; Magalhães et al., 2022). Seu efeito ocorre principalmente pela liberação contínua de íons prata, que interagem com proteínas de membrana, aumentam a permeabilidade celular e promovem a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), resultando em danos estruturais e funcionais à célula bacteriana.

O plasma, considerado o quarto estado da matéria, é um gás parcialmente ionizado composto por elétrons, íons, radicais livres e moléculas excitadas. Quando gerado em condições de baixa temperatura, conhecido como plasma frio, pode ser aplicado em sistemas biológicos sem causar danos térmicos. Esse tipo de plasma tem sido estudado como agente antimicrobiano devido à produção de espécies reativas capazes de inativar bactérias, fungos e vírus, além de induzir respostas favoráveis à cicatrização de tecidos (Gao; Francis; Zhang, 2022). A água ativada por plasma (PAW) é rica em espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (RONS), que atuam sobre a parede celular, proteínas e DNA, promovendo lise celular e perda de viabilidade (Gao; Francis; Zhang, 2022; Han et al., 2023). Um aspecto relevante da PAW é a presença de espécies reativas de curta e longa duração, o que garante efeito antimicrobiano tanto imediato quanto sustentado.

Diante disso, este estudo teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana da associação entre água ativada por plasma e nanopartículas de prata frente ao *Staphylococcus aureus*, visando contribuir para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas. Um vez que essa associação entre AgNPs

e PAW atua de maneira sinérgica, reduzindo a probabilidade de desenvolvimento de resistência bacteriana e se consolidando como alternativa para o tratamento de feridas crônicas e infectadas.

Metodologia

A cepa padrão de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) foi cedida pelo Laboratório Oswaldo Cruz (São José dos Campos, SP). As bactérias foram cultivadas em caldo BHI a 37 °C e ajustadas de acordo com a escala 0,5 de McFarland, com posterior diluição para 10⁶ células/mL, utilizadas como inóculo para os ensaios em triplicata.

A água ativada por plasma (PAW) foi produzida em sistema do tipo *gliding arc*, operando a 18,4 W e 60 Hz, com fluxo de argônio e ar comprimido. Após a ativação, a solução foi mantida em repouso para a formação das espécies reativas antes de sua utilização nos experimentos.

As nanopartículas de prata foram sintetizadas pelo método *bottom-up*, empregando nitrato de prata como precursor e borohidreto de sódio como agente redutor. A solução coloidal obtida foi caracterizada por espectroscopia UV-Vis, apresentando pico de absorbância máximo em 394 nm, com valor de 4,61u.a., característico da ressonância de plasmons de superfície localizada (LSPR). Esse resultado indica a formação de nanopartículas predominantemente homogêneas e com baixa polidispersidade, com concentração de aproximadamente 2,67 × 10¹¹ partículas/mL.

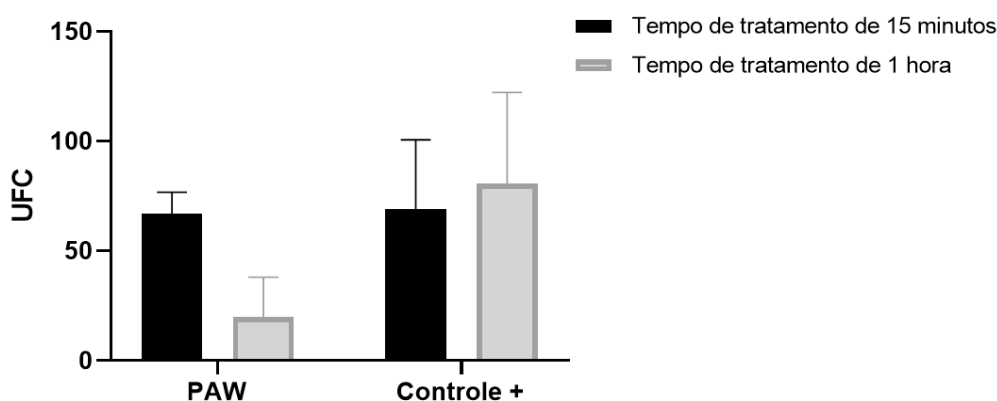
A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada por meio da metodologia de contagem de Unidade formadoras de colônias (UFC), as amostras bacterianas foram expostas separadamente à PAW, às AgNPs em diferentes diluições e à combinação PAW+AgNPs. Após os tratamentos, realizaram-se diluições seriadas e plaqueamento em ágar sangue, seguido de incubação a 37 °C por 24 h. A contagem de UFC foi realizada comparando os resultados aos controles positivos.

Resultados

As espécies reativas da PAW foram quantificadas e observou-se que a concentração de H₂O₂ aumentou logo após a ativação, atingindo valores máximos em torno de 15 minutos e reduzindo significativamente após 2 horas. O nitrito, por sua vez, apresentou crescimento gradual, alcançando seu pico em 2 horas, seguido de queda progressiva nos dias subsequentes. Esses resultados confirmam a presença de espécies de curta e longa duração, importantes para a ação antimicrobiana da PAW.

A exposição do *S. aureus* à PAW resultou em diminuição significativa na contagem de colônias viáveis. Após 60 minutos, observou-se redução de aproximadamente 75% em comparação ao controle positivo (Figura 1), indicando atividade antimicrobiana dependente do tempo de contato. O grupo controle foi exposto a água destilada e não apresentou uma diferença significativa de crescimento.

Figura 1: Avaliação do efeito inibitório de PAW contra cepa de *S. aureus* com PAW.

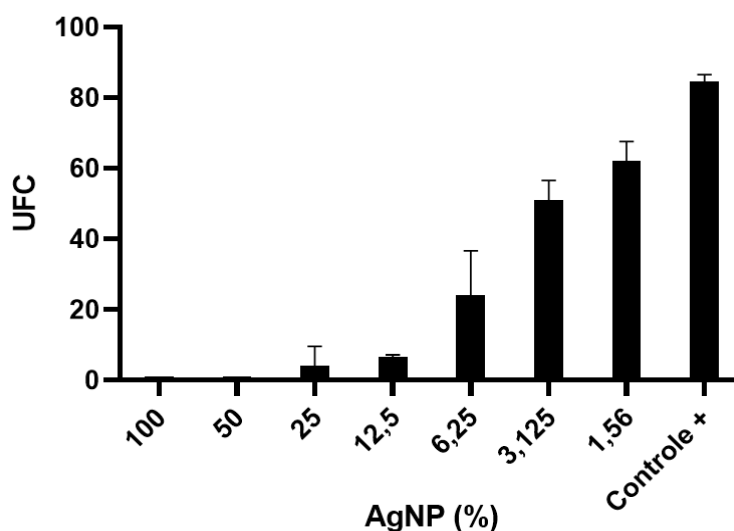


Fonte: Autores, 2024.

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

As nanopartículas apresentaram efeito dose-dependente sobre o crescimento bacteriano. Nas concentrações de 100% e 50%, houve inibição completa, enquanto concentrações menores (12,5% a 1,56%) mostraram reduções graduais (Figura 2). Esse comportamento reforça a ação bactericida proporcional à disponibilidade de íons de prata.

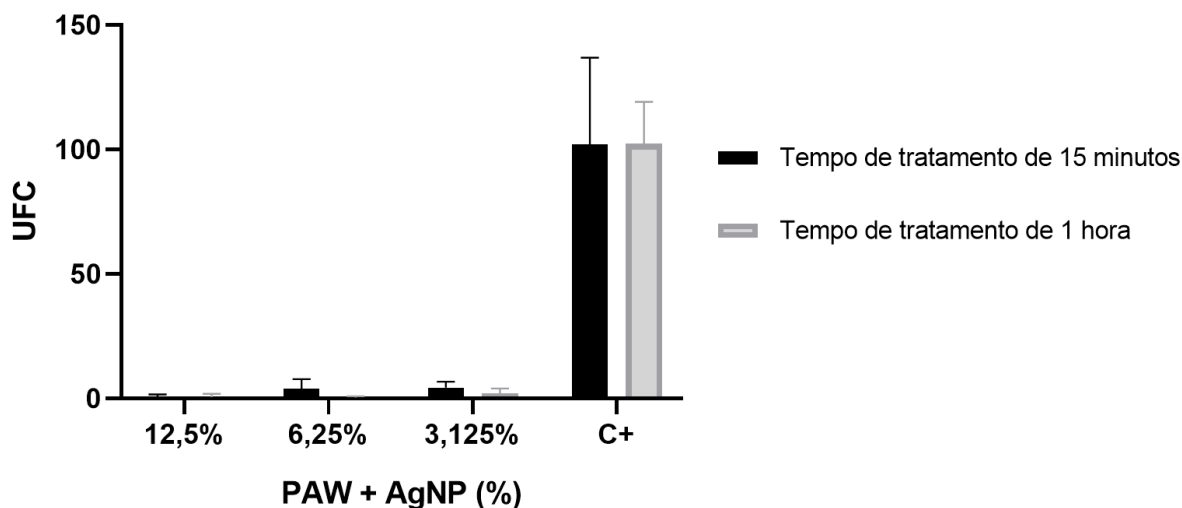
Figura 2: Efeito inibitório das AgNPs contra cepas de *S. aureus*.



Fonte: Autores, 2024.

A associação das tecnologias apresentou efeito sinérgico, superando os resultados isolados. Em especial, a concentração de 12,5% de AgNPs combinada com PAW resultou em uma redução significativa das colônias após 15 e 60 minutos de exposição (Figura 3). Essa resposta evidencia a complementaridade entre espécies reativas da associação da PAW com as AgNPs, ampliando a eficiência antimicrobiana.

Figura 3: Avaliação do efeito inibitório da associação entre a PAW com as AgNP em diferentes concentrações.



Fonte: Autores, 2024.

Discussão

Os resultados mostraram que a PAW reduziu a viabilidade de *S. aureus* de forma dependente do tempo de contato, enquanto as AgNPs apresentaram efeito dose-dependente, com inibição completa apenas em concentrações mais elevadas. Esses achados estão de acordo com estudos prévios, que relatam o papel das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (RONS) na ação antimicrobiana da PAW (Thirumdas et al., 2018; Ferreira, 2023), bem como a alta eficácia das AgNPs contra *S. aureus*. Da Silva Tibolla et al. (2023) observaram a eficácia das AgNPs contra *S. aureus* em um contexto de mastite bovina, destacando a ação bactericida das nanopartículas sem causar efeitos tóxicos no tecido mamário.

A associação PAW+AgNPs demonstrou efeito sinérgico notável. Concentrações de AgNPs tão baixas quanto 12,5%, que isoladamente apresentaram apenas efeito parcial, quando combinadas com PAW resultaram em uma redução significativa das colônias após 15 minutos de exposição. Esse resultado evidencia que a presença das nanopartículas potencializou a ação das espécies reativas da PAW, permitindo que concentrações reduzidas fossem eficazes.

Enquanto a PAW pode perder parte de sua atividade devido à instabilidade de espécies de vida curta, as AgNPs requerem concentrações relativamente altas para garantir efeito bactericida consistente (Shanker et al., 2023; Xu et al., 2020). A combinação dessas tecnologias contorna tais limitações, ampliando a potência antimicrobiana e reduzindo a quantidade de nanopartículas necessária, o que também pode minimizar potenciais efeitos citotóxicos em aplicações clínicas.

Conclusão

O presente estudo mostrou que a PAW e as AgNPs apresentam atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, sendo a PAW tempo-dependente e as AgNPs dose-dependentes. A combinação das duas evidenciou efeito sinérgico, resultando em eliminação bacteriana mesmo em baixas concentrações de AgNPs, o que sugere complementaridade entre as espécies reativas da PAW e os íons prata. Esses achados indicam que essa abordagem pode contribuir para o controle de infecções resistentes, especialmente em feridas crônicas.

Referências

CHOPRA, Ian. The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: a useful development or a cause for concern? **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 59, n. 4, p. 587–590, 2007.

DA SILVA TIBOLLA, Tiago et al. Nanopartículas de prata (AGNP) CONTRA *Staphylococcus aureus* causadores de mastite bovina. **Anais da Mostra Nacional de Iniciação Científica e Tecnológica Interdisciplinar (MICTI)-e-ISSN 2316-7165**, v. 1, n. 16, 2023.

FERREIRA, Jordânia Fernandes. **Desinfecção de água por plasma não-térmico**. 2023. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, 2023.

FERREIRA, Ricardo Cardenuto. Pé diabético. Parte 1: Úlceras e Infecções. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 55, p. 389-396, 2020.

GAO, Yawen; FRANCIS, Keziah; ZHANG, Xuehua. Review on formation of cold plasma activated water (PAW) and the applications in food and agriculture. **Food Research International**, v. 157, p. 111246, 2022.

GELATTI, Luciane Cristina et al. *Staphylococcus aureus* resistentes à metilicina: disseminação emergente na comunidade. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 84, p. 501-506, 2009.

MAGALHÃES, Claudia Wilse Ferreira de et al. Análise das evidências científicas publicadas sobre a relação existente entre infecção de feridas e cicatrização quanto aos microrganismos e tratamento tópico. **Revista de Enfermagem UFPE On Line**, v. 16, p. 1–9, 2022.

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

MATTOS L, ADMONI S, PARISI M, CUSTÓDIO J, BERTOLUCI M. Infecção no pé diabético. **Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes** (2023). DOI: 10.29327/557753.2022-20, ISBN: 978-85 5722-906-8. Acesso em: 16 ago. de 2025.

QIAN-YUN, Han et al. Application of plasma-activated water in the food industry: a review of recent research developments. **Food Chemistry**, v. 405, p. 134797, 2023.

SHANKER, M. Anjaly et al. Implications of cold plasma and plasma activated water on food texture: a review. **Food Control**, v. 145, p. 109793, 2023.

THIRUMDAS, Rohit et al. Plasma activated water (PAW): Chemistry, physico-chemical properties, applications in food and agriculture. **Trends in Food Science & Technology**, v. 77, p. 21–31, 2018.

WHO. Antimicrobial Resistance. Genebra: **World Health Organization**. Disponível em: <https://www.who.int/docs/default-source/antimicrobial-resistance/amr-factsheet.pdf>. Acesso em: 15 ago. 2025.

XU, D. et al. Effects of plasma-activated water on skin wound healing in mice. **Microorganisms**, v. 8, n. 7, p. 1091, 2020. DOI: 10.3390/microorganisms8071091.

YIN, Iris Xiaoxue et al. The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. **International Journal of Nanomedicine**, v. 15, p. 2555–2562, 2020.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES)