



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
PÓS GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA APLICADA À SAÚDE

TALE LUCAS VIEIRA ROLIM

**SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS POR MICRORGANISMOS E
SUAS APLICAÇÕES BIOLÓGICAS**

RECIFE - PE

2022

TALE LUCAS VIEIRA ROLIM

**SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS POR MICRORGANISMOS E
SUAS APLICAÇÕES BIOLÓGICAS**

Dissertação apresentada ao Colegiado de Pós-graduação em Biologia aplicada à Saúde do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami da Universidade Federal de Pernambuco como Parte dos Requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Lucia Figueiredo Porto

Coorientadora: Profa. Dra. Juanize Matias da Silva Batista

RECIFE
2022

Catálogo na Fonte:
Bibliotecária Natália Nascimento, CRB4/1743

Rolim, Tale Lucas Vieira.

Síntese de nanopartículas de prata por microorganismos e suas aplicações biológicas. / Tale Lucas Vieira Rolim. – 2022.

68 f. : il., fig.; tab.

Orientadora: Ana Lucia Figueiredo Porto.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biologia aplicada à Saúde, Recife, 2022.
Inclui referências.

1. Bionanotecnologia. 2. Nanopartículas. 3. Microorganismos. 4. Osteomielite. I. Porto, Ana Lucia Figueiredo. II. Título.

587

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2022-254

TALE LUCAS VIEIRA ROLIM

**SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS POR MICRORGANISMOS E
SUAS APLICAÇÕES BIOLÓGICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Aplicada à Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Biociências, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Biologia Aplicada à Saúde. Área de concentração: Biologia Aplicada à Saúde

Aprovado em: 27/10/2022

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Ana Lúcia de Figueiredo Porto (Presidente)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Romero Marcos Pedrosa Brandão Costa (Examinador Interno)
Universidade de Pernambuco

Prof. Dr. Thiago Pajeú Nascimento (Examinador Externo)
Universidade Federal do Piauí

-Aos meus amados pais Tiago Leite Rolim e Maria Nasaré Vieira Rolim a quem devo tudo que sou e toda minha trajetória.

Ao amor da minha vida, Suzanne Abreu, que soube nos momentos mais difíceis se manter ao meu lado.

A minha querida irmã Carolina Rolim que sabe como poucos me interpretar e nunca deixou de lutar por meu carinho.

A todos meus amados professores que me ensinaram e que mentalmente se reúnem comigo todas as noites para julgar minhas condutas.

AGRADECIMENTOS

A Dra. Ana Lúcia Porto e Dra Juanize Mathias que me abraçaram e ajudaram- me infinitamente no entendimento do universo da biologia.

A Dra Beate Saegesser Santos por toda ajuda prestada para realização desse estudo e o LINS-UFPE.

A amiga Micheline Santos que dividiu muitas horas de bancada em seus experimentos para o doutorado.

Aos amigos Cláudio Henrique Rodrigues e Marques Leonel por toda paciência, disponibilidades e sugestões valiosíssimas.

Ao amigo e futuro residente de ortopedia Gabriel Guerra pela ajuda imensurável.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro e fornecimento da bolsa de estudos.

Para todos aqueles, que direta ou indiretamente contribuíram com essa dissertação.

RESUMO

A nanotecnologia é uma ciência que está revolucionando vários aspectos da vida. É uma tecnologia que vem despertando o interesse da indústria especialmente pela síntese biológica rentável e não tóxica para meio ambiente, como a síntese de nanopartículas. Estas nanopartículas podem ser sintetizadas por diferentes métodos químicos, fotoquímicos, físicos ou biológicos. No campo da medicina o alarmante problema da resistência a multidroga e a dificuldade no tratamento de osteomielite afetam fatores desde econômicos e previdenciários ao psicológico dos enfermos. Logo, este projeto propôs biossintetizar nanopartículas de prata por microrganismos e viabilizar suas atividades biológicas para uso de prática clínica. Foram estudadas doze linhagens fúngicas (*Absidia cylindrospora* UCP 1301, *Aspergillus terreus* UCP 1276, *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279, *Aspergillus serratalhadensis* URM:7866, *Aspergillus ochraceus* URM 604, *Rhizopus arrhizus* URM 7651, *Rhizopus microsporus* URM 7652, *Rhizopus* spp. SIS V295, *Mucor subtilissimus* UCP 1262, *Rhodotorula glutinis* URM 6692) e quatro linhagens bacterianas (*Streptomyces* sp. DPUA 1542, DPUA 1557, DPUA 1571 e DPUA 1573). O crescimento dos fungos foi realizado no meio de produção MS-2 (Meio de Soja a 2%) . Já o crescimento dos actinomicetos foi realizado em fermentação submersa no meio de produção MS-2 e o meio ISP-2 (International *Streptomyces* Project-2 Medium) por 72 horas a 30°C em 120 rpm. A biossíntese foi desenvolvida em solução de prata a 1mM a 30°C em 120 rpm por 72 horas no ambiente isento de luz. Os critérios indicadores de formação de AgNP foram a mudança de coloração da solução e a presença na banda de ressonância plasmônica superficial (RPS) nos comprimentos de onda entre 410-450 nm por espectroscopia ultravioleta-visível (UV-Vis). Dentre as linhagens microbianas estudadas, somente duas linhagens (*Streptomyces* sp. DPUA 1542 e *Streptomyces* sp. DPUA 1557) apresentaram capacidade em biossintetizar AgNP. A linhagem DPUA 1542 cultivada no meio ISP-2 realizou biossíntese de AgNP e a banda de RPS apresentou um pico evidente no comprimento 420nm, enquanto a linhagem DPUA 1557 utilizando o meio de produção a farinha de soja como subproduto apresentou uma forte ressonância plasmônica superficial na região próxima ao comprimento 400nm; quanto ao ZETA potencial houve pico único de AgNPs a -26,46 mV (*Streptomyces* sp. DPUA 1557) e -26,9 mV (*Streptomyces* sp. DPUA 1542). Em relação às atividades antibacterianas, as nanopartículas advindas do *Streptomyces* sp. DPUA 1557

mostraram significativa ação contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* que estão comumente envolvidos em vários tipos de infecções ósseas, indicando seu potencial como um agente antibacteriano eficaz. A citotoxicidade foi avaliada diante de células de Adenocarcinoma Humano da glândula mamária (MDA-MB-231) e Macrófagos (J774A.1); em intervalos de concentração entre 6,2 e 100 mg/mL houve comprometimento na viabilidade celular dos macrófagos. As linhagens bacterianas do gênero *Streptomyces* estudadas no presente trabalho demonstraram potencial aplicação em indústrias biotecnológicas, porém para essa aplicação serão necessárias pesquisas complementares com as AGNPs para aplicações específicas.

Palavras-chave: Bionanotecnologia; nanopartículas; microrganismos; osteomielite.

ABSTRACT

Nanotechnology is a science that is revolutionizing many aspects of life. It is a technology that has aroused the interest of the industry, especially for the profitable and non-toxic biological synthesis, such as the synthesis of nanoparticles. These nanoparticles can be synthesized by different chemical, photochemical, physical or biological methods. In the field of medicine, the alarming problem of multidrug resistance and the difficulty in treating osteomyelitis affect factors ranging from economic and social security to the psychological of the sick. Therefore, this project proposes to biosynthesize silver nanoparticles by microorganisms and make their biological activities viable for use in clinical practice. Twelve fungal strains were studied (*Absidia cylindrospora* UCP 1301, *Aspergillus terreus* UCP 1276, *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279, *Aspergillus serratalhadensis* URM:7866, *Aspergillus ochraceus* URM 604, *Rhizopus arrhizus* URM 7651, *Rhizopus microsporus* URM 7659, *Rhizopus microsporus* URM 76595, *Rhizopus microsporus* URM 76595. *subtilissimus* UCP 1262, *Rhodotorula glutinis* URM 6692) and four bacterial strains (*Streptomyces* sp. DPUA 1542, *Streptomyces* sp. DPUA 1557, *Streptomyces malasyensis* DPUA 1571 and *Streptomyces parvulus* DPUA 1573). Fungal growth was carried out in MS-2 production medium (2% Soybean Medium). The growth of actinobacteria was carried out in submerged fermentation in MS-2 production medium and ISP-2 (International Streptomyces Project-2 Medium) for 72 hours at 30°C at 120 rpm. Biosynthesis was carried out in 1mM silver solution at 30°C at 120 rpm for 72 hours in a light-free environment. The indicator criteria for AgNP formation were the color change of the solution and the presence in the surface plasmon resonance band (SRP) at wavelengths between 410-450 nm by ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis). Among the microbial strains studied, only two strains (*Streptomyces* sp. DPUA 1542 and *Streptomyces* sp. DPUA 1557) were able to biosynthesize AgNP. The DPUA 1542 strain cultivated in the ISP-2 medium performed AgNP biosynthesis and the SRP band showed an evident peak at 420nm length, while the DPUA 1557 strain using the soy flour production medium as a by-product showed a strong surface plasmonic resonance in the region close to the length 400nm; as for the ZETA potential, there was a single peak of AgNPs at -26.46 mV (*Streptomyces* sp. DPUA 1557) and -26.9 mV (*Streptomyces* sp. DPUA 1542). Regarding antibacterial activities, nanoparticles from *Streptomyces* sp. DPUA 1557 showed action against *Escherichia coli* and

Staphylococcus aureus which are commonly involved in various types of bone infections, indicating its potential as an effective antibacterial agent. Cytotoxicity was performed ahead of Human Mammary Adenocarcinoma cells (MDA-MBA-231) and Macrophages (J774A.1); at concentration ranges 6.2 and 100 mg/m noted a cell inviability of macrophages line. As bacteria of the genus Strep compromised as a potential application, 1000 mg/m does not exist application possibilities, however for biological research, but for that they are apparently complementary with commitment to applying AGNPs to specific research.

Keywords: Bionanotechnology; nanoparticles; microorganisms; osteomyelitis.

LISTA DE FIGURAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 1 –	Síntese de nanopartículas metálicas: mecanismos de <i>top-down</i> e <i>bottom-up</i> : Físico, Químico e Biológico. (Odularu et. Al, 2018).	20
Figuras 2A e 2B –	Esquemas representativos dos mecanismos de AgNPs frente a bactérias, relatando a via dependente de ROS, danos ao DNA, desnaturação de proteínas e enzimas inativação pela ação antibacteriana de AgNPs. Fontes: Xu et al, 2020 (5A); SA Brenan et al, 2015 (5B).	22
Figura 3 –	Ciclo de vida do gênero <i>Streptomyces</i> . Fonte: Flärd; Buttner, 2009.	24
Figura 4 –	Imagem radiográfica de um defeito ósseo não consolidado com importante área hipotrófica. Extraído do banco de dados do autor – 2020.	26
Figura 5 –	Imagem representativa dos mecanismos de resistência bacteriana (Fonte: Tortora et al., 2012).	30

ARTIGO CIENTÍFICO

Figura 1 –	(A) <i>Streptomyces</i> sp. DPUA 1542 cultivada no meio ISP-2 realizou biossíntese de AgNP com pico significativo no comprimento de onda 420 nm. (B) <i>Streptomyces</i> sp. DPUA 1557 no meio MS-2 evidenciou forte ressonância plasmônica superficial na região próxima ao comprimento de onda 400 nm.	49
Figura 2 –	Análise gráfica do potencial Zeta das nanopartículas de prata sintetizadas pelos actinomicetos das linhagens <i>Streptomyces</i> spp. DPUA 1542 (Gráficos A e B) e <i>Streptomyces</i> spp. DPUA 1557 (Gráficos C e D).	50

Figura 3 – Análise da viabilidade celular da AgNPs em MDA-MB-231 e J774A.1 por 24 horas em diferentes concentrações. As diferenças estatísticas com o controle foram determinadas por ANOVA seguido por Bonferroni. Cada valor determina a média $\pm$ DP de três experimentos independentes e foram comparados com a amostra controle.

LISTA DE TABELAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Tabela 1 – Mecanismo de ação de alguns antibióticos e suas classes	25
--	----

ARTIGO CIENTÍFICO

Tabela 1 – Linhagens de actinomicetos analisadas em relação à capacidade de síntese verde extracelular de AgNPs e os respectivos meios de cultivo das amostras.	48
Tabela 2 – ZETA Potencial e tamanho de AgNPs em água.	49
Tabela 3 – Análise da função antimicrobiana de nanopartículas de prata derivadas do actinomiceto DPUA 1557 em amostras de <i>Staphylococcus aureus</i> .	54
Tabela 4 – Análise da função antimicrobiana de nanopartículas de prata derivadas do actinomiceto DPUA 1557 em amostras de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	55
Tabela 5 – Análise da função antimicrobiana de nanopartículas de prata derivadas do actinomiceto DPUA 1557 em amostras de <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	55
Tabela 6 – Análise da função antimicrobiana de nanopartículas de prata derivadas do actinomiceto DPUA 1557 em amostras de <i>Escherichia coli</i>	56

LISTA DE ABREVIATURAS

AgNPs – Nanopartículas de Prata.

ICP – Espectroscopia de plasma indutivamente acoplado.

FTIR – Análise espectroscópica de infravermelho com transformada de Fourier.

PLGA – Copolímero de ácido láctico e glicólico.

IGFs – Fatores de crescimento semelhantes à insulina.

BMPs – Proteínas morfogenéticas ósseas.

XRD – Análise de difração de raios-X.

NTA – Análise de rastreamento de nanopartículas.

NF- κ B – Fator nuclear kappa-light-chain-enhancer de células B ativadas.

IFN – Interferon.

IL – Interleucina.

TLRs – Receptores Toll-like. NKs – Células assassinas naturais. DC – Células dendríticas.

ROS – Espécies reativas de oxigênio.

FES – Fermentação em estado sólido.

FPLC – Cromatografia líquida de proteína rápida.

OMS – Organização mundial de saúde.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 OBJETIVOS	18
1.1.1 Objetivo Geral	18
1.1.2 Objetivos Específicos	18
2 REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA	19
2.2 ACTINOMICETOS	23
2.3 OSTEOMIELITE	25
2.4 RESISTÊNCIA MICROBIANA	29
REFERÊNCIAS	31
ARTIGO CIENTÍFICO A SER SUBMETIDO À REVISTA	37
SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA POR MICROORGANISMOS: CARACTERIZAÇÕES E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA FRENTE A ISOLADOS DE BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES DE OSTEOMIELITE	
RESUMO	38
ABSTRACT	40
INTRODUÇÃO	41
MATERIAL E MÉTODOS	42
Microorganismos e Meios de Manutenção e Esporulação	42
Biossíntese Extracelular de Nanopartículas de Prata	43
Caracterização das AgNPs sintetizadas por Streptomyces	44
Análise de Tamanho de Partícula (DLS) e Potencial Zeta	44
Citotoxicidade Celular	45
Atividade Antimicrobiana	46

Análise Estatística	47
RESULTADOS	47
Seleção da melhor linhagem microbiana produtora de nanopartícula de prata	47
Análise por Potencial Zeta	50
Atividade de Citotoxicidade	52
Atividade Antimicrobiana	53
DISCUSSÃO	56
CONCLUSÃO	60
REFERÊNCIAS	61
CONCLUSÃO DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO	67
ANEXO A - CAPÍTULO DE LIVROS PUBLICADOS	68

1 INTRODUÇÃO

Bactérias, fungos, leveduras, vírus, plantas e algas são relatadas como fontes para síntese de nanopartículas. Possuem muitas vantagens como alta reprodutibilidade, biocompatibilidade e não envolvem produtos químicos tóxicos ou solventes orgânicos. A recuperação do produto é por centrifugação em alta velocidade e é considerada como uma técnica *eco-friendly* (IRAVANI et al., 2014).

Os microrganismos se destacam nessa biossíntese por ter a capacidade de secretar para meio extracelular as nanopartículas, não necessitando realizar nenhum procedimento mais oneroso. Os fungos têm vantagem de suportar altas pressões e produzem diferentes biocompostos, como enzimas, fertilizantes, vitaminas e antibióticos. Sobre o potencial das AgNPs, a literatura relata diferentes trabalhos relacionados a sua atividade antimicrobiana. A eficiência dessas nanopartículas está associada a sua facilidade em se ligar a superfície bacteriana e romper a parede celular levando a morte celular (SINGH et al., 2020)

Microrganismo produtor, os actinomicetos são bactérias Gram positivas que apresentam crescimento filamentoso. São encontrados em ambientes diversos, sendo predominantes no solo, onde são essenciais na decomposição dos compostos orgânicos. Produzem uma grande variedade de compostos bioativos, como antibióticos e enzimas, o que tem propiciado intensas pesquisas visando às potenciais aplicações destes produtos. Muitas destas enzimas podem ser utilizadas em atividades biotecnológicas, como na indústria têxtil, de alimentos, papel, polpa e detergentes (FLÄRD; BUTTNER, 2009).

A formação de estruturas filamentosas (hifas) e de esporos acarretou na classificação inicial como fungos. Logo, desde a sua primeira descrição no final do século XIX e por um longo período, os actinomicetos foram considerados exóticos por apresentarem características típicas de fungos filamentosos e de bactérias (GONZALEZ et al., 2005). Porém, estudos realizados a partir da década de 1950 possibilitaram um melhor conhecimento das suas estruturas genéticas e das composições químicas celulares.

Em diferentes cenários clínicos, o reparo de defeitos ósseos infectados ainda é um desafio nas áreas de ortopedia, implantologia oral e cirurgia maxilofacial. Tem havido extensa pesquisa no desenvolvimento de materiais que previnam a formação de biofilme e, portanto, reduzam o risco de infecção. A tecnologia de nanopartículas

de prata está recebendo muito interesse no campo da ortopedia por suas propriedades antimicrobianas, e os resultados dos estudos até o momento são encorajadores (GREULICH et al., 2011).

As infecções ósseas são difíceis de tratar e podem levar à destruição grave do tecido; o principal agente causal é o *Staphylococcus aureus*. Os osteoclastos, que pertencem à linhagem monócito / macrófago, são as células-chave na compreensão da fisiopatologia. Eles não exercem uma função adequada no combate às bactérias e podem servir como reservatório para esses patógenos (OKAFOR et al., 2013).

Efeitos antimicrobianos foram observados quando nanopartículas de prata são utilizadas em implantes traumáticos, próteses tumorais, cimento ósseo e também quando combinadas com revestimentos de hidroxiapatita. Embora existam resultados promissores com estudos in vitro e in vivo, o número de estudos clínicos permanece pequeno (XU XN et al., 2004).

Os defeitos ósseos infectados são convencionalmente tratados por uma administração sistêmica / local de antibióticos para controlar a infecção e uma implantação subsequente de enxertos ósseos, como autoenxertos e aloenxertos. No entanto, essas opções de tratamento são demoradas e geralmente de baixa eficácia. Para abordar esses problemas, novos biomateriais com propriedades antibacterianas e osteoindutivas surgem no mercado como modelos alternativos (GOGOI et al., 2006). Ao manipular os modos de transporte e a cinética de liberação, esses biomateriais são otimizados para maximizar suas funções antibacterianas e osteoindutivas com citotoxicidade minimizada (ZHANG et al., 2014).

Por fim, a aplicação de um bioativo capaz de combater infecções, estimular a regeneração óssea e que seja biocompatível torna-se uma necessidade premente na pluralidade do tratamento dessa patologia óssea. Desta forma, é fundamental a busca por fontes de nanopartículas, o aprimoramento na metodologia de obtenção da mesma, compreensão de suas propriedades físicas, bem como alternativas que sejam economicamente viáveis e que não tragam agressão ao meio ambiente.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Sintetizar nanopartículas de prata por via microbiológica visando à utilização na prática clínica.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Selecionar a linhagem fúngica/bacteriana que tenha capacidade de biossintetizar nanopartículas de prata (AgNPs) através de fermentação submersa;
- Caracterizar através de análises físico-químicas as AgNPs sintetizadas;
- Verificar a citotoxicidade das AgNPs sintetizadas por fungos filamentosos;
- Avaliar o potencial antibacteriano das nanopartículas de prata biossintetizadas frente às bactérias multiresistentes presentes nas infecções ósseas.

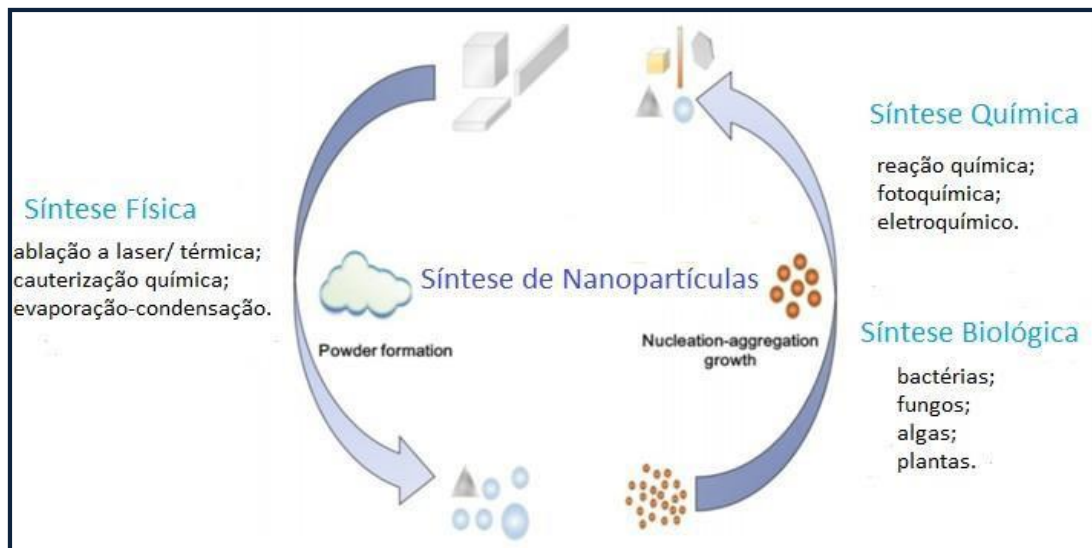
2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA

Dentre as nanopartículas de metal, as nanopartículas de prata (AgNPs) são os nanomateriais mais amplamente estudados. A prata tem sido usada há anos como um excelente agente antimicrobiano. A conversão da prata em sua forma de nanopartículas oferece propriedades físicas e químicas únicas que aumentam a sua eficácia. AgNPs são usados como desinfetantes e como revestimento antimicrobiano em instrumentos e dispositivos médicos, como cateteres (KO et al., 2007; SALATA et al., 2004). Vários mecanismos atribuídos à atividade antimicrobiana demonstrada pelos AgNPs, no entanto, ainda não foram elucidados, pois as nanopartículas atuam sobre diferentes organismos de maneiras diferentes (ZHANG et al., 2014).

Para a síntese de nanopartículas, duas abordagens têm sido analisadas: *bottom-up* e *top-down* (Figura 1). A técnica de *top-down* parte do princípio de uma maior partícula para menores partículas, usando várias forças físicas para sintetizar NPs, como cauterização térmica, interferométrica litográfica. Já a técnica *bottom-up* é conceituada como aglomeração de compostos complexos para formação das NPs a partir de pequenos aglomerados, nessa abordagem estão inclusos os métodos químicos e biológicos, no entanto, o método biológico não produz subprodutos tóxicos, menores custos, ecologicamente correta e fácil aumento de escala (ODULARU et al., 2018).

Figura 1: Síntese de nanopartículas metálicas: mecanismos de *top-down* e *bottom-up*: Físico, Químico e Biológico.



(Fonte: ODULARU et al., 2018).

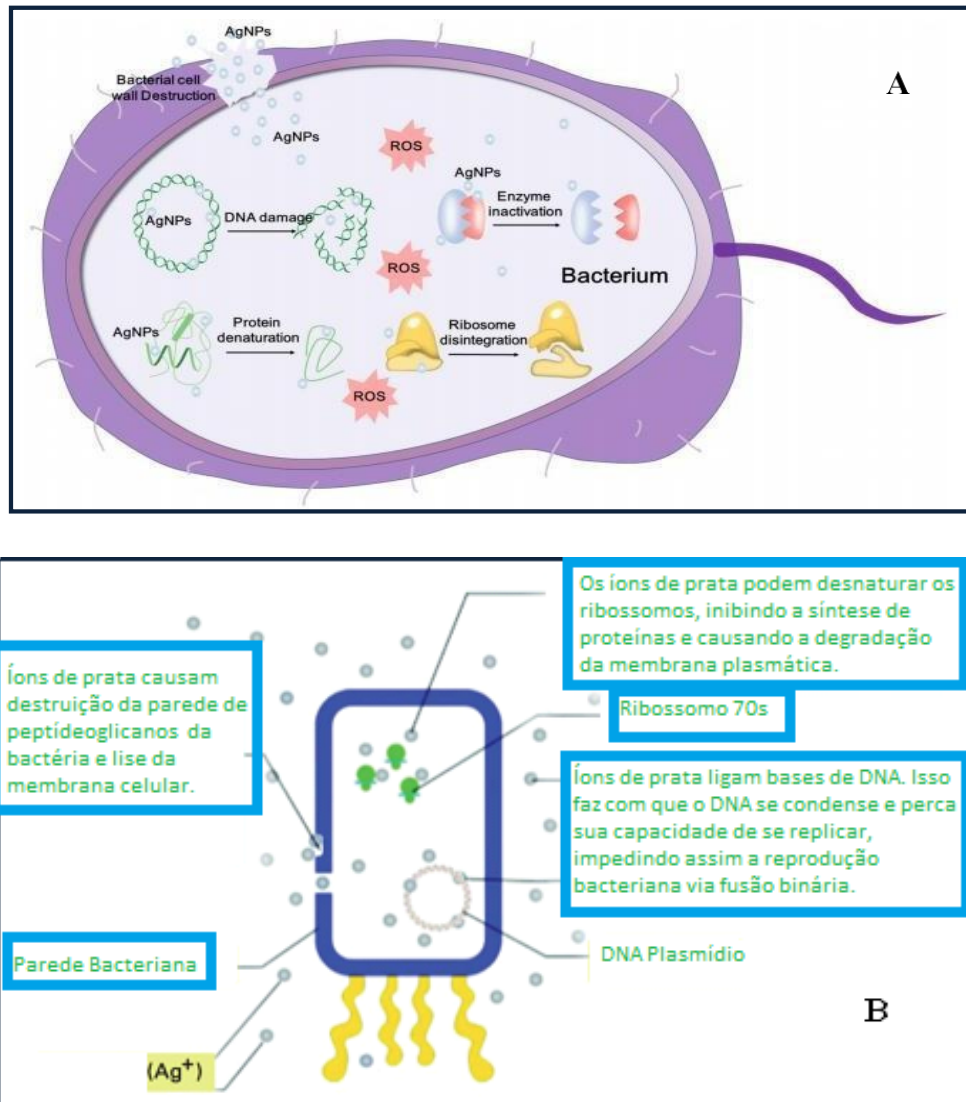
No âmbito da caracterização das AgNPs, são necessários estudos mais complexos e essenciais, visto que entender o tamanho, formato e interação do sistema coloidal é de extrema importância para sua aplicação. Porquanto, a técnica de espectroscopia UV- visível é normalmente utilizada para confirmar a síntese e estabilidade de NPs; a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) é usada para medir as propriedades de NPs, como concentração química, química de superfície, grupos funcionais de superfície e arranjo atômico; microscopia de transmissão eletrônica (TEM); microscopia eletrônica de varredura (SEM) e a microscopia de força atômica (AFM) podem ser utilizadas para visualizar a posição, tamanho e morfologia de NPs. A difração de raios X em pó (DRX) tem como objetivo determinar a estrutura cristalográfica. A composição elementar de NPs é geralmente examinada por energia dispersiva espectroscopia de raios-X (EDS) e para avaliar o tamanho e carga superficial das NPs é utilizado a técnica de dispersão de luz dinâmica (DLS) (KAABIPOUR & HEMMATI, 2021). Portanto, é uma área que muitos estudos são necessários para entender, manipular e aplicar para contribuir diretamente em diferentes áreas, seja animal, humano e ambiental.

As aplicações das nanopartículas de prata são inúmeras, sendo o seu potencial antimicrobiano um dos campos de maior interesse. A prata tem apresentado potencial

antimicrobiano de amplo espectro na literatura, com atuação contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, bem como protozoários, vírus e fungos. Entre os mecanismos de ação frente às bactérias caracterizados na literatura, as AgNPs apresentam a capacidade de ligação a diversos sítios do microrganismo, como aderência à parede celular ou receptores da superfície bacteriana, além de entrada na membrana plasmática, consequentemente desencadeando a destruição da membrana celular (YAMANAKA et al, 2005). A interação de íons de partículas de prata à parede celular bacteriana resulta no comprometimento das camadas celulares externas, causando perda de conteúdo celular e criando anormalidades estruturais (SAMBHY et al., 2006).

Além disso, as nanopartículas de prata podem agir na síntese proteica e enzimática das bactérias, gerando danos a funções importantes, como respiração e permeabilidade celular. Quanto à interação com ácidos nucleicos do material genético, a ação das AgNPs tem sido relacionada à interrupção da reprodução celular. Um outro mecanismo de toxicidade é evidenciado sobretudo na desintegração das paredes celulares bacterianas, que consiste na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS). Tais compostos estão relacionados a prejuízos estruturais do DNA bacteriano e podem ser altamente tóxicos para as bactérias, envolvendo processos fundamentais da cadeia respiratória, deturpando a replicação do DNA e inibindo a divisão celular (PATIL & KIM, 2018; SÁNCHEZ- LÓPEZ et al., 2020). A seguir, são ilustrados os mecanismos de ação das nanopartículas de prata em seus diferentes sítios de ligação (Figuras 2A e 2B).

Figuras 2A e 2B: Esquemas representativos dos mecanismos de AgNPs frente a bactérias, relatando a via dependente de ROS, danos ao DNA, desnaturação de proteínas e inativação de enzimas pela ação antibacteriana de AgNPs.



Fontes: Xu et al, 2020 (5A); SA Brenan et al, 2015 (5B) – traduzido.

Porém, junto com as amplas aplicações, é crescente a preocupação com os impactos biológicos do uso das nanopartículas de prata em larga escala e os possíveis riscos ao meio ambiente e à saúde. O tamanho nanométrico das nanopartículas permite que elas entrem facilmente nas células de organismos vivos, levando a várias lesões celulares. O potencial de citotoxicidade e genotoxicidade das nanopartículas aumentou significativamente e foram estudadas. Um dos mecanismos responsáveis pela indução do efeito citotóxico dos AgNPs é a formação de espécies reativas de

oxigênio (ROS) (DAS B et al., 2015). Os ROS podem causar efeitos nocivos tanto ao homem como aos animais, bem como ao meio ambiente. Além disso, uma vez que as nanopartículas podem afetar não apenas as células que compõem as barreiras celulares (fibroblastos, células endoteliais ou intestinais), mas também as células do sistema imunológico, é crucial definir a imunocompatibilidade das nanopartículas, especialmente aquelas com potencial aplicação médica (DRUSZCZYNSKA et al., 2013).

Através do progresso da nanotecnologia direcionada para a área médica, descobriu-se que diferentes microrganismos, como bactérias, microalgas e fungos são habilitados à produção de nanopartículas (NPs) inorgânicas como ouro, prata, cálcio, silício, ferro, gesso e chumbo. Tal cadeia de produção tem sido designada como tecnologia verde, que está substituindo as nanopartículas sintéticas, de alto potencial poluidor. A tecnologia verde tem se mostrado cada vez mais importante, e por isso gerado importante interesse na literatura atual, sobretudo em razão de seus potenciais benefícios em questões de ecologia, visões econômicas, viabilidade e ampla gama de aplicações em várias áreas, como a nanomedicina (KHAN et al., 2022).

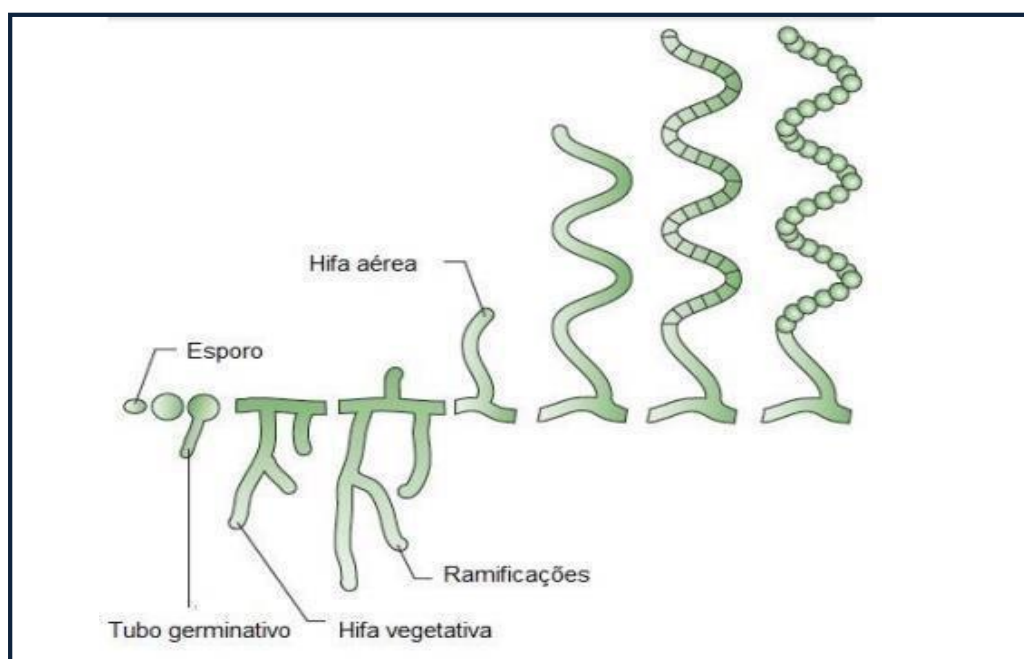
Entre estes microrganismos, os actinomicetos estão sendo explorados como verdadeiras nano-máquinas distintas para a síntese de ouro, prata e vários tipos de NPs metálicas por meios extra e intracelulares. Os actinomicetos representam um grupo de micróbios atraente para nanomateriais, principalmente devido a sua capacidade única de produzir diferentes compostos bioativos e enzimas que atuam como fortes redutores. NPs sintetizadas a partir de actinomicetos têm sido extensivamente avaliada para alcançar inúmeras aplicações (SUMAN et al, 2020).

2.2 ACTINOMICETOS

Os actinomicetos constituem um grupo bem-sucedido de organismos quanto ao habitat, ocorrendo em uma multiplicidade de ambientes, tanto naturais quanto nos modificados pela ação humana. Estão extensivamente distribuídas no solo e em outros ambientes terrestres. A maioria das espécies é saprofítica, contudo existem aquelas que formam associações mutualísticas e parasíticas com outros organismos. Assim, diferentes estilos de vida podem ser encontrados, incluindo habitantes do solo (*Streptomyces spp.*), comensais de plantas (*Leifsonia spp.*), simbiontes fixadores de nitrogênio (*Frankia*), residentes do trato gastrointestinal (*Bifidobacterium spp.*) e

patógenos (*Mycobacterium spp.*, *Nocardia spp.*, *Tropheryma spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Propionibacterium spp.*) (WOSTEN et al., 2000). Estudos confirmam sua natureza procariótica retirando-os completamente do Reino Fungi (Flärd; Buttner et al., 2009) (Figura 3).

Figura 3: Ciclo de vida do gênero *Streptomyces*.



Fonte: Flärd; Buttner, 2009.

Produtos naturais provenientes dos actinomicetos são fontes de moléculas bioativas com grande potencial para o desenvolvimento de produtos na indústria farmacêutica, incluindo aqueles utilizados em ensaios clínicos para o tratamento do câncer. Os microrganismos sintetizam diversas substâncias químicas para a produção de antibióticos, imunossupressores, anticancerígenos, agentes redutores de colesterol, entre outros. Em seres humanos, essas bactérias também foram descritas como agentes potenciais na ação contra diversos tipos de microrganismos patogênicos. Após a descoberta da actinomicina por Waksman e Woodruff em 1940, membros da ordem Actinomycetales, tornaram-se uma das principais fontes de antibióticos tais como antraciclinas, cloranfenicol e tetraciclinas. Os representantes do gênero *Streptomyces* produzem importantes antibióticos, como a estreptomicina, sintetizada por *S. griseus*, a clorotetraciclina, sintetizada por *S. aureofaciens*, a terramicina, sintetizada por *S. rimosus*, entre muitos outros

(GOODFELOW et al., 1983). Mais de oitenta antibióticos já foram obtidos de espécies do gênero *Streptomyces* (Tabela 1).

Tabela 1: Mecanismo de ação de alguns antibióticos e suas classes.

Mecanismo de ação	Antibióticos
Inibidores da síntese de parede celular	Penicilina, Cefalosporinas, Vancomicina e Isoniazida
Inibidores de síntese proteica	Tetraciclina, Eritromicina, Estreptomicina, Oxazolidinonas e Estreptograminas
Dano à membrana plasmática	Polimixina B
Inibidores da síntese de ácidos nucleicos	Rifamicinas, Quinolonas e fluoroquinolonas
Outros	Sulfonamidas

(Fonte): (LEVY; MARSHALL, 2004)

2.3 OSTEOMIELOITE

As infecções ósseas e articulares representam um grupo extremamente heterogêneo de doenças, incluindo infecções associadas a implantes (tanto na ortopedia quanto na odontologia), artrite séptica e osteomielite. O aumento da incidência dessas patologias apresentado nos últimos anos, principalmente devido ao aumento das substituições articulares e ao uso de equipamentos ortopédicos, representa atualmente um problema social e econômico crescente para os sistemas de saúde. De fato, a taxa de infecção relacionada ao uso de implantes é de 5% para casos primários, 6% para casos de revisão e aumenta para 43% para casos previamente infectados. A osteomielite, definida como uma inflamação óssea causada por infecção, pode ser o desfecho comum na rotina médica (FIORE et al., 2022).

As células especialmente afetadas pelas partículas estranhas, como bactérias, vírus e quaisquer outros estímulos externos são as células imunes da imunidade inata como células assassinas naturais (NKs), células dendríticas (DC) e monócitos. Os últimos são indicadores imunológicos muito sensíveis da ativação celular e detectam antígenos por receptores Toll-like (TLRs). Quando reconhecido, um antígeno induz

uma cascata de transmissão de sinal, que termina com o fator nuclear kappa-light-chain-enhancer de células B ativadas (NF- κ B) ativação do fator de transcrição, resultando na produção de citocinas, como interferon (IFN) - γ ou interleucina (IL) -12. Essas moléculas solúveis alarmam outras células do sistema imunológico e iniciam o processo de inflamação, que leva a inúmeras consequências prejudiciais (THAISS et al., 2015).

Tecido ósseo recém-regenerado com volume adequado é indispensável para restaurar a estética maxilofacial e as funções musculoesqueléticas. Grandes defeitos ósseos podem ocorrer como consequência de lesões, câncer e inflamação, etc. A taxa de reparo de um defeito ósseo depende principalmente do tamanho de um defeito ósseo. Quando o tamanho é maior que a capacidade de cicatrização dos tecidos ósseos, os tecidos conjuntivos fibrosos, que podem migrar mais rápido que os osteoblastos, ocupam predominantemente os defeitos ósseos (CAMPANA et al., 2014). Um defeito ósseo de tamanho crítico é o protótipo de defeitos de descontinuidade, com um reparo espontâneo falho. (Figura 4).

Figura 4: Imagem radiográfica de um defeito ósseo não consolidado com importante área hipotrófica.



Fonte: banco de dados do autor - 2020.

A capacidade de autorreparação do osso pode ser ainda mais limitada quando ocorre uma atividade bacteriana em defeitos ósseos. Os defeitos ósseos infectados

podem ser resultado de lesões agudas de alta energia e doenças infecciosas crônicas. Segundo a Organização Mundial da Saúde, tais lesões são um problema de saúde pública global. Existem aproximadamente 3-9 milhões de lesões registradas anualmente nos países desenvolvidos. Com o desenvolvimento da economia e do transporte, os ferimentos de alta energia relacionados ao tráfego rodoviário são responsáveis por quase 1,2 milhão de mortes. O número de mortes devido a lesões dobrou nos últimos 30 anos nos países europeus (JENISSON et al., 2014).

Lesões de alta energia nas extremidades podem resultar em fraturas abertas cominutivas. Esse tipo de lesão costuma estar associado a danos graves aos tecidos moles, defeitos ósseos, infecções e, por fim, não união. Lesões de alta energia podem facilmente evoluir para osteomielite grave quando uma infecção bacteriana é introduzida devido a uma proteção imunológica comprometida. A osteomielite é difícil de eliminar completamente, especialmente quando acompanha grandes defeitos ósseos. *Staphylococcus aureus* é o principal patógeno bacteriano, uma vez que é responsável por 80% da osteomielite humana (MANDRACCHIA et al., 2004).

Outra causa importante de defeitos ósseos infectados são as infecções bacterianas crônicas, como periodontite e peri-implantite. A periodontite e a peri-implantite são as doenças inflamatórias que envolvem os dentes naturais e implantes dentários, com perda do osso de suporte devido a uma etiologia bacteriana. A prevalência de periodontite grave com bolsas periodontais profundas (≥ 6 mm) varia de 10% a 15% em adultos (SAMBRI et al., 2022).

Os tratamentos padrão para defeitos ósseos infectados incluem a remoção de fragmentos ósseos necróticos, uma administração local e / ou sistêmica de antibióticos e uma reconstrução dos defeitos ósseos por enxertos ósseos. No entanto, esses tratamentos são realmente demorados (geralmente levam de vários meses a anos) e nem sempre produzem resultados satisfatórios (BUSCH et al., 2021). Essa situação se deve, em grande parte, às dificuldades de controle das infecções, ao retardo na reconstrução óssea dos tecidos (que geralmente é realizada somente após a erradicação completa das infecções) e ao lento progresso da nova formação óssea (GALLO et al., 2016).

Além da administração de antibióticos, um sistema que trata defeitos ósseos infectados requer propriedades especiais, que incluem propriedades osteocondutoras e osteoindutoras. Os autoenxertos ainda são considerados enxertos ósseos “padrão ouro” porque possuem todos os elementos osteogênicos importantes: andaimes

osteocondutores, células osteogênicas e fatores de crescimento osteoindutores. Porém, a autoenxertia está associada a uma série de limitações, como dor e morbidade nas áreas doadoras, cirurgia prolongada, volume disponível limitado e taxas de reabsorção incontroláveis (LANDSDOWN et al., 2007).

A alternativa convencional para um autoenxerto é um aloenxerto ou polímeros sintéticos (por exemplo, PLGA (copolímero de ácido lático e glicólico). São de volumes disponíveis e têm sido amplamente aceitos para reconstruções ósseas. No entanto, nenhum deles é intrinsecamente osteoindutivo. Embora forneça uma estrutura óssea natural e boa, os enxertos ósseos alogênicos estão associados a certos riscos, como transmissão de doenças, toxicidades associadas à esterilização, respostas imunes variáveis do hospedeiro e suprimentos limitados. Como alternativas aos enxertos autólogos e alogênicos, existem os de matrizes inorgânicas e orgânicas (por exemplo, osso bovino desproteinizado e colágeno ósseo desmineralizado) (SCHNEIDER et al., 2011).

Com os avanços tecnológicos, novos biomateriais, com propriedades antibacterianas e osteoindutoras, vêm sendo desenvolvidos na área da ortopedia, no intuito de contribuir com alternativas terapêuticas viáveis no manejo de defeitos ósseos infectados por microrganismos resistentes. Entre os novos compostos, têm se destacado as nanopartículas de prata (AgNPs), as quais vêm sugerindo na literatura um potencial de aplicação clínica muito promissor devido à sua boa biocompatibilidade, bem como um amplo espectro bactericida (PAUKSCH et al., 2014). Por outro lado, componentes como os fatores de crescimento, a exemplo do fator de crescimento de fibroblastos básico, fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGFs) e fator de crescimento endotelial vascular, também são capazes de promover significativamente a osteogênese e a angiogênese (ZHANG et al., 2015).

No entanto, apenas as proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs) podem induzir exclusivamente a neoformação de massa óssea em um microambiente pró-fibrótico, como defeitos ósseos de tamanho crítico. Com o rápido progresso das técnicas de engenharia de tecido ósseo, uma grande variedade de novos materiais de preenchimento ósseo baseados em BMPs foi desenvolvida para acelerar e promover uma nova regeneração óssea de maneira significativa (VERNE et al., 2009).

2.4 RESISTÊNCIA MICROBIANA

O uso indiscriminado dos antibióticos tem levado ao surgimento de patógenos resistentes as drogas convencionais e aos complexos formados por várias doenças, desenvolvendo o processo de multirresistência. Em 2004, mais de 70% das bactérias patogênicas apresentaram resistência a pelo menos um dos antibióticos atualmente disponíveis no mercado (SANCHEZ et al., 2009).

O gene relacionado à codificação dos mecanismos de sobrevivência e resistência das bactérias pode ser adquirido de diferentes formas (Figura 5), tais quais: mutação, secundária a erros na síntese de DNA durante a replicação; ação de bacteriófagos; por meio de plasmídeos; por transmissão de fragmentos de material genético transponíveis através da interação entre bactérias de grupos taxonômicos e ecológicos diferentes (LEVY; MARSHALL, 2004). Dessa forma, os principais mecanismos de resistência bacteriana podem ser classificados em quatro categorias (TORTORA et al. 2012):

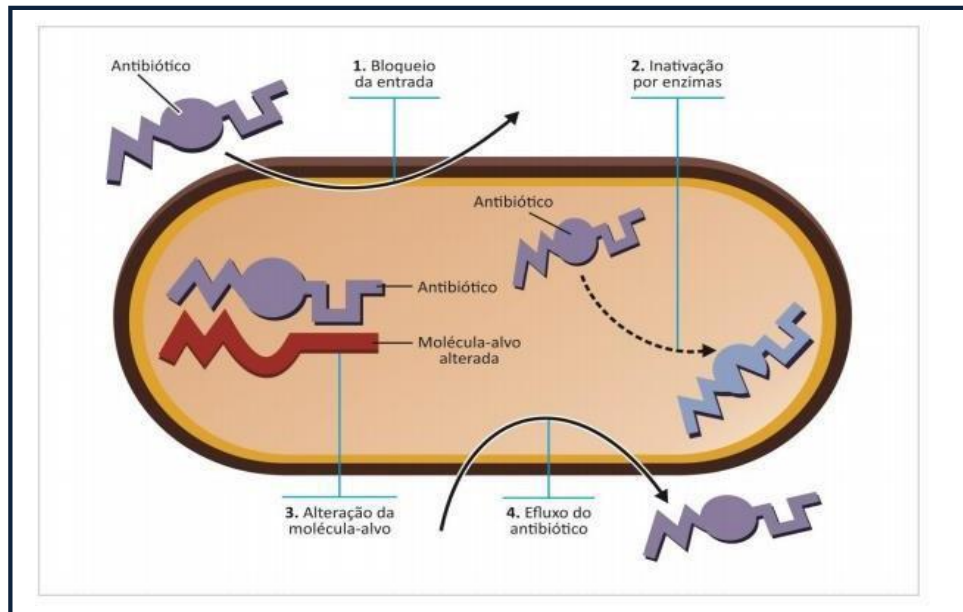
- Prevenção da entrada no sítio-alvo dentro da célula bacteriana: modificação da abertura das porinas, dificultando a ação dos antibióticos no acesso ao espaço periplasmático;

- Inativação enzimática: produção de enzimas com ligação molecular atuante na inativação de estruturas específicas dos antibióticos, inabilitando sua efetividade parcialmente ou totalmente;

- Alterações no sítio-alvo da droga: transformação do sítio em que o antibiótico se liga à célula do microrganismo invasor, sendo estas transformações no sítio capazes de neutralizar a ação dos antibióticos sem que a célula bacteriana sofra importantes alterações estruturais.

- Efluxo rápido: síntese de proteínas na membrana plasmática das bactérias, as quais atuam como bombas que expulsam os antibióticos, assim impedindo a entrada e ação antimicrobiana dos compostos, mecanismo mais comum nas espécies gram-negativas.

Figura 5: Imagem representativa dos mecanismos de resistência bacteriana



Fonte: Tortora et al. 2012.

Dessa forma, o presente estudo fundamenta-se em analisar a viabilidade de produção de nanopartículas de prata por linhagens de microrganismos e caracterizá-las em aspectos de forma, tamanho e composição. Ademais, objetiva-se avaliar a citotoxicidade desses compostos em células humanas e suas aplicações antimicrobianas e efetividade frente a isolados bacterianos multirresistentes.

REFERÊNCIAS

Alves R; De Oliveira R; Da Silva O; Porto A; Porto C; Porto T. **Extractive fermentation for process integration of protease production by *Aspergillus tamarii* Kita UCP1279 and purification by PEG-Citrate Aqueous Two-Phase System.** Preparative Biochemistry & Biotechnology, v. 1, p. 1-8, 2021.

Batista, Juanize M.S.; Brandão-Costa, Romero M.P. ; Carneiro Da Cunha, Márcia N. ; Rodrigues, Hélio O.S. ; Porto, Ana L.F. . **Purification and biochemical characterization of an extracellular fructosyltransferase-rich extract produced by *Aspergillus tamarii* Kita UCP1279.** BIOCATALYSIS AND AGRICULTURAL BIOTECHNOLOGY, v. 1, p. 101647, 2020

Brennan, Stephen A., et al. **"Silver nanoparticles and their orthopaedic applications."** *The bone & joint journal* 97.5 (2015): 582-589.

Busch, A.; Wegner, A.; Havesath, M.; Jager, M. **Substitutos Ósseos em Cirurgia Ortopédica: Situação Atual e Perspectivas Futuras.** Z. Ortop. Unfallchir.2021,159, 304-313.

Campana, V.; Milano, G.; Pagano, E.; Barba, M.; Cicione, C.; Salonna, G.; Lattanzi, W.; Logroscino, G. **Substitutos ósseos em cirurgia ortopédica: Da ciência básica à prática clínica.**J. Mater. Sci. Mater. Med.2014,25, 2445-2461.

Chairuangkitti P, Lawanprasert S, Roytrakul S, et al. **Nanopartículas de prata induzem toxicidade em células A549 por meio de vias dependentes e independentes de ROS.** *Toxicol Vitro*. 2012; 27 : 330–338. doi: 10.1016 / j.tiv.2012.08.021.

Costa, R. B. ; Brandao, R. M. P. ; Pedrosa, Raquel Bezerra ; Albuquerque, W. ; Porto, ALF . **Ultrasound-assisted enzyme catalyzed hydrolysis of collagen to produce peptides with biomedical potential: Collagenase from *Aspergillus terreus* UCP1276.** BIOELECTROMAGNETICS, v. 1, p. 1, 2020.

Da Silva, A. S., de Lira Pimentel, C. S., dos Santos, F. H. G., de Araújo, H. D. A., Paiva, P. M. G., da Silva, N. H., Navarro, D. M. do A. F. **Insecticidal activity of the ether extract from the lichen *Ramalina complanata* and an isolated metabolite (divaricatic acid) against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae).** Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 35, 102049, 2021. doi:10.1016/j.bcab.2021.102049

Das B., Dash SK, Mandal D., Ghosh T., Chattopadhyay S., Tripathy S., Das S., Dey SK, Das D., Roy S. **As nanopartículas de prata sintetizadas Green destroem bactérias multirresistentes por meio de oxigênio reativo danos à membrana mediados por espécies.** *Árabe. J. Chem*. 2017; 10 : 862–876. doi: 10.1016 / j.arabjc.2015.08.008.

Demain, A.L. and Sanchez, S. (2009) **Microbial Drug Discovery: 80 Years of Progress**. The Journal of Antibiotics, 62, 5-16.
<http://dx.doi.org/10.1038/ja.2008.16>.

Druszczyńska M, Włodarczyk M, Janiszewska-Drobinska B, et al. **Receptores de transdução de sinal de monócitos na tuberculose ativa e latente**. *Clin Dev Immunol*. 2013.

Feng X., Yan D., Zhao KJ, Luo JY, Ren YS, Kong WJ, Han YM, Xiao XH
Applications of microcalorimetry na avaliação da atividade antibacteriana de vários *Rhizoma coptidis*. *Pharma. Biol.* 2011; 49 : 348–353. doi: 10.3109/13880209.2010.523428.

Flard, k.; buttner, M. J. **Streptomyces morphogenetics: dissecting differentiation in a filamentous bacterium**. *Nature Reviews Microbiology*, v.7, n.1, p. 36-49, 2009.

Fu PP, Xia Q, Hwang H, et al. **Mecanismos de nanotoxicidade: geração de espécies reativas de oxigênio**. *J Food Drug Anal.* 2014; 22 : 64–75. doi: 10.1016 / j.jfda.2014.01.005.

Gallo, J.; Panacek, A.; Pucek, R.; Kriegova, E.; Hradilova, S.; Hobza, M.; Holinka, M.
Silver Nanocoating Technology na Prevenção da Infecção da Articulação Protética. *Materiais* 2016, 9, 337.

Ghimire, Suresh Kumar; McKey, Doyle; Aumeeruddy-Thomas, Yildiz (2004).
«Heterogeneity in Ethnoecological Knowledge and Management of Medicinal Plants in the Himalayas of Nepal: Implications for Conservation». *Ecology and Society*. 9 (3). ISSN 1708-3087. doi:10.5751/es- 00708-090306.

Gogoi SK, Gopinath P., Paul A., Ramesh A., Ghosh SS, Chattopadhyay A. **Green fluorescent protein-expressing Escherichia coli como um sistema modelo para investigar as atividades antimicrobianas de nanopartículas de prata**. *Langmuir*. 2006; 22 : 9322–9328. doi: 10.1021 / la060661v.

Gonzalez I; Ayuso-Sacido A; Anderson A; Genilloud O. **«Actinomycetes isolated from lichens: Evaluation of their diversity and detection of biosynthetic gene sequences»**. *FEMS Microbiology Ecology*. 54 (3):401–415. ISSN 0168-6496.

Goodfellow, M.; Haynes, J.A. (1984). **«ACTINOMYCETES IN MARINE SEDIMENTS»**. Elsevier: 453–472. ISBN 9780125286206

Goodfellow, M; Williams, S T (outubro de 1983). **«Ecology of Actinomycetes»**. *Annual Review of Microbiology*. 37 (1): 189–216. ISSN 0066- 4227.
doi:10.1146/annurev.mi.37.100183.001201.

Greulich C, Diendorf J, Simon T, et al. **Captação e distribuição intracelular de nanopartículas de prata em células-tronco mesenquimais humanas**. *Acta Biomater.* 2011; 7 : 347–354. doi: 10.1016 / j.actbio.2010.08.003.

Hemath Naveen, K. S., et al. **"Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the filamentous fungus *Penicillium* sp."** *Arch. Appl. Sci. Res* 2.6 (2010): 161-167.

Iravani S., Korbekandi H., Mirmohammadi SV, Zolfaghari B. **Synthesis of silver nanoparticles: Chemical, Physical and Biological methods.** *Res. Pharm. Sci.* 2014; 9 : 385–406.

Jennison T, McNally M, Pandit H. **Prevenção de infecção em locais de pinos de fixador externo.** *Acta Biomater* 2014;10:595–603.

Kaabipour S, Hemmati S. **A review on the green and sustainable synthesis of silver nanoparticles and one-dimensional silver nanostructures.** *Beilstein J Nanotechnol.* 2021 Jan 25;12:102-136. doi: 10.3762/bjnano.12.9. PMID: 33564607; PMCID: PMC7849236.

Khan, M.; Indykiewicz, K.; Tam, P.L.; Yurgens, A. Correction: Khan et al. **High Mobility Graphene on EVA/PET.** *Nanomaterials* 2022, 12, 331. *Nanomaterials* 2022, 12, 1935. <https://doi.org/10.3390/nano12111935>.

Ko SH, Park I., Pan H., Grigoropoulos CP, Pisano AP, Luscombe CK, Fréchet MJJ. **Nanoimpressão direta de nanopartículas de metal para fabricação de eletrônicos em nanoescala.** *Nano Lett.* 2007; 7 : 1869–1877. doi: 10.1021 / nl070333v.

Landsdown, AB; Williams, A. **Resistência bacteriana à prata no tratamento de feridas e dispositivos médicos.** *J. Tratamento de Feridas* 2007,16, 15-19.

Levy, S.B. and Marshall, B. (2004) **Antibacterial Resistance Worldwide: Causes, Challenges and Responses.** *Nature Medicine*, S122-S129. <http://dx.doi.org/10.1038/nm1145>.

Liz R, Simard J, Bruna L, et al. **As nanopartículas de prata induzem rapidamente a morte celular atípica de neutrófilos humanos por um processo envolvendo caspases inflamatórias e espécies reativas de oxigênio e induzem a liberação de armadilhas extracelulares de neutrófilos após a adesão celular.** *Int Immunopharmacol.* 2015; 28 : 616–625. doi: 10.1016 / j.intimp.2015.06.030.

Mandracchia, VJ; Sanders, SM; Jaeger, AJ; Nickles, WA **Manejo da osteomielite.** *Clin. Podiatr. Med. Surg.* 2004,21, 335-351.

Medeiros E.S., França C.A., Krewer C.C., Peixoto R.M., Souza-Junior A.F., Cavalcante M.B., Costa M.M. & Mota R.A. 2011. **Antimicrobial resistance of *Staphylococcus* spp. isolates from cases of mastitis in buffalo in Brazil.** *Pesq. Vet. Bras.* 23(4):793-796.

Mosmann T. **Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays.** *J Immunol Methods.* 1983 Dec 16;65(1-2):55-63. doi: 10.1016/0022-1759(83)90303-4. PMID: 6606682.

Nascimento, T. P.; Porto, C. S. ; Teixeira, Maria Francisca Simas ; Porto, T. S. ; Porto, A.L.F. **Produção de biocompostos com atividade antimicrobiana de *Streptomyces* sp. isolado em face de mastite de cabra.** ARQUIVO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA (ONLINE), v. 66, p. 101-108, 2014.

Odularu, A.; Ajibade, P.A.; Bolhuis, A. ***In Vitro* Antibacterial Activities of Aniline Dithiocarbamate Crystals with its Corresponding Oxovanadium(IV) and Zinc(II) Coordination Compounds.** *Preprints*. 2018, 2018020021 (doi: 10.20944/preprints201802.0021.v1).

Okafor F., Janen A., Kukhtareva T., Edwards V., Curley M. **Green síntese de nanopartículas de prata, sua caracterização, aplicação e atividade antibacteriana.** *Int J. Environ. Res. Saúde pública*. 2013; 10 :5221–5238. doi: 10.3390 / ijerph10105221.

Oliveira, D. F. F.; Nascimento, T. P.; Rodrigues, C. H. ; Batista, J. M. S. ; Liu, T. P. S. L.; Medeiros, E. S. ; Mota, R. A. ; Brandão, R. M. P. ; Porto, T.S.; Porto, A. L.F. **Protease from *Mucor subtilissimus* UCP 1262: Evaluation of several specific protease activities and purification of a fibrinolytic enzyme.** ANAIS DA ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS (ONLINE), v. 92, p. 1, 2020.

Patil MP, Singh RD, Koli PB, Patil KT, Jagdale BS, Tipare AR, Kim GD. **Antibacterial potential of silver nanoparticles synthesized using *Madhuca longifolia* flower extract as a green resource.** *Microb Pathog*. 2018 Aug;121:184-189. doi: 10.1016/j.micpath.2018.05.040. Epub 2018 May 25. PMID: 29807133.

Pauksch, L.; Hartmann, S.; Rohnke, M.; Szalay, G.; Alt, V.; Schnettler, R.; Lips, KS **Biocompatibilidade de nanopartículas de prata e íons de prata em células-tronco mesenquimais humanas primárias e osteoblastos.** *Acta Biomater*.2014,10, 439-449.

Porto, a.l.f.; Campos-takaki, g.m.; Lima Filho, j.l. **Effects of culture conditions on protease production by *Streptomyces clavuligerus* growing soy bean flour médium.** *Appl. Biochem. Biotechnol.*, v.60, p.115-122, 1996.

Pridham, T. G., et al. **"A selection of media for maintenance and taxonomic study of streptomycetes."** *A selection of media for maintenance and taxonomic study of streptomycetes*. (1957).

Rajendran V, Sathya A, Gopalakrishnan S. **"Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using *Streptomyces griseoplanus* SAI-25 and its antifungal activity against *Macrophomina phaseolina*, the charcoal rot pathogen of sorghum."** *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 14 (2018): 166-171.

Rodrigues TS, da Silva Agm, de Moura Abl, Geonmonond Rs and Camargo Phc. 2017. **AgAu Nanotubes: Investigating the Effect of Surface Morphologies and Optical Properties over Applications in Catalysis and Photocatalysis.** *J Braz Chem Soc* 28: 1630-1638.

Salata OV **Aplicações de nanopartículas em biologia e medicina.** J. *Nanobiotechnol.* 2004; 2 : 3. doi: 10.1186 / 1477-3155-2-3.

Sambri, A.; Fiore, M.; Tedeschi, S.; De Paolis, M. **A Necessidade de Multidisciplinaridade na Medicina Moderna: Uma Visão sobre Infecções Ortopédicas.** *Microrganismos* 2022,10, 756.

Sánchez-López E, Gomes D, Esteruelas G, Bonilla L, Lopez-Machado AL, Galindo R, et al. **Metal-Based Nanoparticles as Antimicrobial Agents: An Overview.** *Nanomaterials* (Basel). 2020 Feb 9;10(2):292. doi: 10.3390/nano10020292. PMID: 32050443; PMCID: PMC7075170.

Sanjivkumar, M., et al. **"Investigation on characterization and biomedical properties of silver nanoparticles synthesized by an actinobacterium *Streptomyces olivaceus* (MSU3)." *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 17 (2019): 151-159.**

Schneider, OD; Mohn, D.; Fuhrer, R.; Klein, K.; Kampf, K.; Nuss, KM; Sidler, M.; Zlinszky, K.; von Rechenberg, B.; Stark, WJ **Biocompatibilidade e formação óssea de nanocompósitos flexíveis de PLGA/fosfato de cálcio semelhantes a lã de algodão em ovinos.** *Abra Ortop. J.* 2011,5, 63-71.

Sharma G., Sharma AR, Bhavesh R., Park J., Ganbold B., Nam JS, Lee SS **Biomolecule-mediated synchronization of selenium nanoparticles using dry *Vitis vinifera* (raisin) extract.** *Moléculas.* 2014; 19 : 2761–2770. doi: 10.3390 / moléculas19032761.

Singh P., Kim Y.-J., Zhang D., Yang D.-C. **Síntese biológica de nanopartículas de plantas e microrganismos.** *Trends Biotechnol.* 2016; 34 : 588–599. doi: 10.1016 / j.tibtech.2016.02.006.

Singhal G., Bhavesh R., Kasariya K., Sharma AR, Singh RP **Biosynthesis of silver nanoparticles using *Ocimum sanctum* (Tulsi) leaf extract and screening your antimicrobial activity.** *J. Nanopart. Res.* 2011; 13 : 2981–2988. doi: 10.1007 / s11051-010-0193-y.

Smbhy V, MacBride MM, Peterson BR, Sen A. **Compósitos de nanopartículas/polímeros de brometo de prata: materiais antimicrobianos ajustáveis de dupla ação.** *J Am Chem Soc* 2006;128:9798–9808.

Stępkowski, T. M., K. Brzóška, and M. Kruszewski. **"Silver nanoparticles induced changes in the expression of NF-κB related genes are cell type specific and related to the basal activity of NF-κB."** *Toxicology in Vitro* 28.4 (2014): 473-478.

Thaiss CA, Levy M, Itav S, Elinav E. **Integration of innate immun signaling.** *Trends Immunol.* 2016; 37 : 1-18. doi: 10.1016 / j.it.2015.12.003.

Tortora, G. J.; Funke, B. R.; Case, C. L. In: *Microbiologia.* 10.ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

Verne, E.; Miola, M.; Vitale Brovarone, C.; Canas, M.; Gatti, S.; Fucale, G.; Maina, G.; Masse, A.; Di Nunzio, S. **Silverdoping de superfície de vidro biocompatível para induzir propriedades antibacterianas**. Parte I: Vidro maciço. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2009, 20, 733-740.

Wösten, Han A. B.; Willey, Joanne M. (1 de abril de 2000). «**Surface-active proteins enable microbial aerial hyphae to grow into the air**». *Microbiology*. **146** (4): 767–773. ISSN 1350-0872. doi:10.1099/00221287-146-4-767.

Xu X., Yang Q., Bai J., Lu T., Li Y., Jing X. **Fabricação de fibras biodegradáveis de poli (L-lactídeo-co-glicolídeo) eletrofiadas biodegradáveis com partículas de nanopartícula antimicrobianas**. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2008; 8 : 5066–5070. doi: 10.1166 / jnn.2008.1193

Xu XN, Brownlow WJ, Kyriacou SV, Wan Q., Viola JJ **Sondagem em tempo real do transporte de membrana em células microbianas vivas usando óptica de nanopartícula única e imagem de células vivas**. *Bioquímica*. 2004; 43 : 10400–10413. doi: 10.1021/ bi036231a.

Yamanaka M, Hara K, Kudo J. **Ações bactericidas de uma solução de íons de prata em Escherichia coli, estudadas por microscopia eletrônica de transmissão de filtragem de energia e análise proteômica**. *Appl Environment Microbiol* 2005; 71: 7589–7593.

Zhang T, Wang L, Chen Q, Chen C. **Cytotoxic potencial of silver nanoparticles**. *Yonsei Med J.* 2014; 55 : 283–291. doi: 10.3349 / ymj.2014.55.2.283.

Zhang, R.; Lee, P.; Luís, VC; Chen, Y.; Liu, X.; Lok, CN; Tom.; Yeung, KW; Wong, KK **As nanopartículas de prata promovem a osteogênese de células-tronco mesenquimais e melhoram a cicatrização de fraturas ósseas no modelo de camundongo do mecanismo de osteogênese**. *Nanomedicina* 2015, 11, 1949-1959.

ARTIGO CIENTÍFICO A SER SUBMETIDO À REVISTA

Revista proposta: Applied Microbiology and Biotechnology

Instructions for authors: <https://www.springer.com/journal/253/submission-guidelines#Instructions%20for%20Authors>

Qualis capes: B1

Impact factor: 4.81

SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA POR MICRORGANISMOS: CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA FRENTE A ISOLADOS DE BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES DE OSTEOMIELE

***GREEN SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES BY MICROORGANISMS:
CHARACTERIZATION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY AGAINST MULTIDRUG-RESISTANT
OSTEOMYELITIS BACTERIAL ISOLATES***

SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA POR MICRORGANISMOS: CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA FRENTE A ISOLADOS DE BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES DE OSTEOMIELE

GREEN SYNTHESIS OF SILVER NANOPARTICLES BY MICROORGANISMS: CHARACTERIZATION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY AGAINST MULTIDRUG-RESISTANT OSTEOMYELITIS BACTERIAL ISOLATES

Rolim, T.L.V.¹; Batista, J.M¹; França, M.S¹; Cordeiro, G.G²; Rodrigues, C.H²; Silva, M.LR²; Santos, B.S²; Porto, A.L.F¹

¹ UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

² UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

*Autor para correspondência (corresponding author) E-mail: analuporto@yahoo.com.br

RESUMO

Nanopartículas de prata podem ser sintetizadas por diferentes métodos químicos, fotoquímicos, físicos ou biológicos. Diante do alarmante problema da resistência a multidrogas e a dificuldade no tratamento de osteomielite essas nanopartículas tornam-se uma alternativa de adjuvância ao tratamento. O objetivo desta pesquisa foi biossintetizar nanopartículas de prata por microrganismos e viabilizar suas atividades biológicas para uso de prática clínica. Foram estudadas doze linhagens fúngicas e quatro linhagens bacterianas. O crescimento dos fungos foi realizado no meio de produção MS-2 (Meio de Soja a 2%) . Já o crescimento dos actinomicetos foi realizado em fermentação submersa no meio de produção MS-2 e o meio ISP-2 (International *Streptomyces* Project-2 Medium) por 72 horas a 30°C em 120 rpm. A biossíntese foi desenvolvida em solução de prata a 1mM a 30°C em 120 rpm por 72 horas no ambiente isento de luz. Os critérios indicadores de formação de AgNP foram a mudança de coloração da solução e a presença na banda de ressonância plasmônica superficial (RPS) nos comprimentos de onda entre 410-450 nm por espectroscopia ultravioleta-visível (UV-Vis). Dentre das linhagens microbianas estudadas, somente duas linhagens (*Streptomyces* sp. DPUA 1542 e *Streptomyces* sp. DPUA 1557)

apresentaram capacidade em biossintetizar AgNP. Caracterizou-se o ZETA potencial, atividade antimicrobiana frente a isolados de bactérias causadoras de osteomielite e a citotoxicidade diante de células de Adenocarcinoma Humano da glândula mamária (MDA-MB-231) e Macrófagos (J774A.1). As linhagens bacterianas do gênero *Streptomyces* estudadas no presente trabalho demonstraram potencial aplicação em indústrias biotecnológicas, porém para essa aplicação serão necessárias pesquisas complementares com as AGNPs para aplicações específicas.

Palavras-chaves: Nanopartículas; *Streptomyces sp*; Osteomielite; Prata.

ABSTRACT

Silver nanoparticles can be synthesized by different chemical, photochemical, physical or biological methods. Faced with the alarming problem of multidrug resistance and the difficulty in treating osteomyelitis, these nanoparticles become an adjuvant alternative to treatment. The objective of this research was to biosynthesize silver nanoparticles by microorganisms and enable their biological activities for use in clinical practice. Twelve fungal strains and four bacterial strains were studied. Fungal growth was carried out in MS-2 production medium (2% Soybean Medium). The growth of actinobacteria was carried out in submerged fermentation in MS-2 production medium and ISP-2 (International Streptomyces Project-2 Medium) for 72 hours at 30°C at 120 rpm. Biosynthesis was carried out in 1mM silver solution at 30°C at 120 rpm for 72 hours in a light-free environment. The indicator criteria for AgNP formation were the color change of the solution and the presence in the surface plasmon resonance band (SRP) at wavelengths between 410-450 nm by ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis). Among the microbial strains studied, only two strains (*Streptomyces* sp. DPUA 1542 and *Streptomyces* sp. DPUA 1557) were able to biosynthesize AgNP. Potential ZETA, antimicrobial activity against isolates of osteomyelitis-causing bacteria and cytotoxicity against Human Mammary Adenocarcinoma cells (MDA-MB-231) and Macrophages (J774A.1) were characterized. The bacterial strains of the genus *Streptomyces* studied in the present work showed potential application in biotechnological industries, but for this application, complementary research with AGNPs for specific applications will be necessary.

Keywords: Nanoparticles; *Streptomyces* sp; Osteomyelitis; Silver.

INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é uma ciência que está revolucionando vários aspectos da vida. É uma tecnologia que vem despertando o interesse da indústria especialmente pela síntese biológica rentável e não tóxicas para meio ambiente, como a síntese de nanopartículas. Estas nanopartículas podem ser sintetizadas por diferentes métodos químicos, fotoquímicos, físicos ou biológicos, no entanto as produzidas por meios físicos e químicos possuem custos altos e toxicidade elevada (SILVA et al., 2017).

Bactérias, fungos, leveduras, vírus, plantas e algas são relatadas como fontes para síntese de nanopartículas e tem muitas vantagens como, alta reprodutibilidade, biocompatibilidade e não envolvem produtos químicos tóxicos ou solventes orgânicos e a recuperação do produto é por centrifugação em alta velocidade e é considerada como uma técnica *eco-friendly* (KALIMUTHU et al., 2019).

Entretanto, os microrganismos se destacam nessa biossíntese, por ter a capacidade de secretar para meio extracelular as nanopartículas, não necessitando realizar nenhum procedimento mais oneroso. Os fungos têm vantagem de suportar altas pressões e produzem diferentes biocompostos, como, enzimas, fertilizantes, vitaminas e antibióticos (AL-DHABI et al., 2019). Sobre o potencial das AgNPs, a literatura relata diferentes trabalhos relacionados à atividade antimicrobiana das AgNPs. SINGH et al. (2020) aborda em seu estudo a eficiência dessas nanopartículas devido a sua facilidade em se ligar a superfície bacteriana e romper a parede celular levando a morte celular.

O alarmante problema da resistência a multidrogas (MDR –multi-drug resistance) por parte de bactérias patogênicas obrigou os pesquisadores a enfrentar o problema e a buscar novas drogas e moléculas na natureza e outras fontes como as nanopartículas. Ao longo das últimas décadas, alguns antibióticos de terceira geração como as cefalosporinas, imipenem, vancomicina e fluoroquinolonas têm apresentado maior risco de gerar resistência (AL-DHABI et al., 2019).

As infecções ósseas e articulares representam um grupo extremamente heterogêneo de doenças, incluindo infecções associadas a implantes (tanto na ortopedia quanto na odontologia), artrite séptica e osteomielite. Osteomielite é o nome que se dá à infecção no osso causada por bactérias, micobactérias ou fungos (SAMBRI et al., 2021). Na grande maioria dos casos, o agente patogênico é o *Staphylococcus aureus*, bactéria que pode formar colônias na pele e instalar-se nas

fossas nasais de pessoas saudáveis, sem causar danos ao hospedeiro (YUAN et al., 2020). O tratamento desta enfermidade é multidisciplinar e por vezes desafiador por fatores que envolvem a virulência do agente causador, defesa do hospedeiro, resistência bacteriana e atraso diagnóstico.

O aumento de sua incidência apresentado nos últimos anos acontece, principalmente, devido ao aumento das substituições articulares e ao uso de equipamentos ortopédicos; representa atualmente um problema social e econômico crescente para os sistemas de saúde. A introdução de substitutos ósseos preenchidos com prata iônica ou nanopartículas de prata na prática clínica forneceria uma valiosa contribuição adicional para o manejo destas patologias (SHIMABUKURO et al., 2022).

O objetivo deste trabalho foi sintetizar nanopartículas de prata por via microbiológica visando à utilização na prática médica assim como suas características físicas, citotoxicidade e atividade antimicrobiana frente a bactérias causadoras de osteomielite.

MATERIAL E MÉTODOS

Microorganismos e Meios de Manutenção e Esporulação

Entre os microrganismos elegíveis quantos à produção de nanopartículas de prata, realizou-se a divisão em duas importantes linhagens: fúngica e bacteriana. Quanto ao grupamento de fungos, foram selecionadas doze espécies, a seguir: *Absidia cylindrospora* UCP 1301, *Aspergillus tamarii* Kita UCP 1279, *Aspergillus terreus* UCP 1276, *Aspergillus ochraceus* URM 604, *Aspergillus sclerotiorum* URM 5792, *Aspergillus serratalhadensis* URM 7866, *Mucor subtilissimus* UCP 1262, *Rhizopus arrhizus* URM 7651, *Rhizopus microsporus* URM 7656, *Rhizopus microsporus* URM 7652, *Rhizopus* spp. SIS V295 e *Rhodotorula glutinis* URM 6692. As referidas linhagens foram isoladas do solo da Caatinga (Região Nordeste do Brasil) e obtidas através do Projeto RENNORFUN/CNPq/FACEPE, sendo armazenados na coleção de culturas da Universidade Católica de Pernambuco (UCP) e também na coleção de culturas da Universidade Federal de Pernambuco (URM).

No referente à linhagem bacteriana, seis foram os grupamentos de actinomicetos utilizados, a seguir: *Streptomyces* spp. DPUA 1542, *Streptomyces* spp. DPUA 1557, *Streptomyces malasyensis* DPUA 1571 e *Streptomyces parvulus* DPUA

1573. As linhagens de actinomicetos foram isoladas de líquens da Região Amazônica, sendo acondicionadas na coleção de cultura do Departamento de Parasitologia da Universidade Federal do Amazonas.

Biossíntese Extracelular de Nanopartículas de Prata

O método aplicado na análise da biossíntese de nanopartículas de prata fundamenta-se em três importantes etapas: reativação microbiana, recultivação das linhagens e produção de partículas argíricas. Nesta última etapa, foram avaliados os meios de culturas em que se cultivaram as amostras microbianas, visando estabelecer correlações entre a composição do meio e maiores índices de produtividade de nanopartículas.

Nesse sentido, as seis espécies de *Streptomyces* spp. foram inoculadas e reativadas em meio de cultura ISP-2 (Pridham et al., 1957) modificado pela retirada da glicose a 28°C por 168 horas em estufa microbiológica. Após esse período de esporulação, os esporos foram suspensos com solução salina de Tween 80 (NaCl a 0,9% (p/v) previamente esterilizada a 121°C/ 1 atm de pressão, durante 20 minutos. As amostras foram preservadas em criotubos contendo glicerol a 20% a -20°C.

Outro meio de cultivo utilizado foi o MS-2 (Meio de soja a 2%) proposto por Porto et al. (1996) composto por diferentes concentrações de farinha de soja (0,5, 1,0 e 1,5%), e ainda com a presença de sais: MgSO₄.7H₂O, 0,1% (p/v) de NH₄Cl, 0,435% (p/v) de K₂HPO₄ e 0,1 mL de solução mineral (100mg de FeSO₄, MnCl₂. 4H₂O, ZnSO₄, CaCl₂ (Porto et al., 1996). H₂O em 100 mL de água destilada), com pH inicial 7,2, esterilizado em autoclave a 1 atm por 20 minutos a 121°C. Para a produção, os esporos foram colocados no meio MS-2 concentração celular de 10⁸ UFC/mL a condições de 30°C em agitador orbital a 120 rpm por 72 horas.

As linhagens fúngicas foram inoculadas em Erlenmeyers contendo o meio CZ (Czapek Dox Ágar) e mantido em estufa microbiológica a 30°C por 7 dias para esporulação. Após esse período os esporos foram suspensos com solução salina de Tween 80 (NaCl a 0,9% (p/v) previamente esterilizada a 121°C/ 1 atm de pressão, durante 20 minutos. A concentração de esporos (10⁴ esporos/mL) foi determinada por contagem microscópica de esporos em Câmara de Neubauer. Para a produção, os esporos foram colocados no meio MS-2 concentração celular de 10⁸ UFC/mL a condições de 30°C em agitador orbital a 120 rpm por 72 horas.

Após o cultivo submerso das linhagens fúngicas e bacterianas, realizou-se centrifugação (incursões de 3000 a 4000 rpm em intervalo de quinze minutos) dos componentes para composição do sobrenadante livre de células, em volumes de 90 a 100 mL. Em seguida, nas amostras de actinomicetos, o sobrenadante extracelular livre de célula (90 mL) foi adicionado 10 mL de nitrato de prata a 1 mM e incubado em um agitador orbital a 120 rpm em 30°C por 72h. Quanto aos fungos e leveduras, na amostra de 100 mL de sobrenadante livre de células foram adicionados 10 mL de solução de nitrato de prata (AgNO₃) a 1mM, associado a dissolução em agitador orbital a 150 rpm por 72 horas, 30°C.

Caracterização das AgNPs sintetizadas por *Streptomyces*

Quanto às características das AgNPs sintetizadas por *Streptomyces* DPUA 1557, a biossíntese de nanopartículas de prata pelas linhagens microbianas em estudo foi avaliada por picos significativos nas bandas de Ressonância Plasmônica Superficial (RPS) registrados pelo método de Espectroscopia UV-visível. Os valores evidenciados compatíveis com a neoformação de nanopartículas de prata enquadram-se no comprimento de onda no intervalo de absorbância entre 400 a 500 nm (Naveen et al. 2010).

Ademais, a formação de novas nanopartículas foi analisada macroscopicamente pela biorredução de íons de prata nas soluções. A mensuração foi monitorada pela mudança de cor das amostras, de amarelo pálido para marrom. Tais indicadores tendem a corroborar com altos picos observados pelo espectro de absorção utilizando a metodologia UV-visível no range de comprimento de onda entre 200 e 800 nm.

Análise de tamanho de partícula (DLS) e ZETA potencial

O diâmetro hidrodinâmico avaliado no presente estudo seguiu parâmetros preconizados em Silva et al, (2017), com aferição de medidas por espalhamento dinâmico de luz com laser de comprimento de onda 633 nm e ângulo de espalhamento fixo de 173°. O dimensionamento das partículas em análise foi descrito considerando-se partícula como esférica. Cada amostra foi medida três vezes para duas amostras replicadas a uma temperatura constante de 25 ± 1°C.

Para as medidas de DLS não foi realizado nenhum processo após a produção da solução de nanopartículas de prata, como por exemplo, a centrifugação para a separação das nanopartículas maiores das menores, ou a utilização de ultra-som para provocar a desaglomeração de possíveis aglomerados de nanopartículas.

Para a medida de tamanho das partículas, utilizou-se cubetas de poliestireno que acompanham o equipamento. Para as medidas de Potencial Zeta foi utilizado o aparelho de Potencial Zeta do Departamento de Farmácia da UFPE. A cela do aparelho foi devidamente limpa com água e sabão e a solução de nanopartículas foi colocada no interior da mesma.

Citotoxicidade Celular

A análise da potencial atividade de citotoxicidade das nanopartículas de prata foi realizada a partir da combinação com amostras de Macrófagos (J774.A1) e células de Adenocarcinoma Humano da glândula mamária (MDA-MB-231). A linhagem MDA foi mantida em meio de cultura L-15 de Leibovitz e F-12 (proporção de 50% de cada meio) com L-glutamina 2 mM, sem bicarbonato de sódio e soro bovino fetal a uma concentração final de 10% com ausência de CO₂.

Já a linhagem J774 foi mantida em Gibco Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), suplementado com 10% de SFB e 5% de CO₂. As células foram contabilizadas em câmara de Neubauer para o teste de viabilidade celular. O ensaio de MTT (brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl) -2,5-difenil tetrazolium]) consistiu na técnica elencada para função de determinar o efeito das AgNPs na viabilidade celular. Quanto à leitura da absorbância, optou-se pelo advento de leitor de microplaca (Biotek Elx808) a 630 nm (Mossman, 1983).

As células foram inseridas em placas de 96 poços, a uma densidade de 1×10^4 de células/mL e após 24h de incubação as amostras foram colocadas e incubadas por 24h nas concentrações finais de 6,25; 12,5; 25; 50; 100 mg/mL. Após o período de exposição, foi adicionado 20µL de solução de MTT (4mg/mL), e as placas foram incubadas em um período de duas a três horas. Posteriormente, o sobrenadante foi removido e 100µL de DMSO (Dimethylsulfoxide) foram adicionados.

A citotoxicidade foi mensurada e expressa segundo parâmetros de viabilidade celular: $(\text{Absorbância da população celular tratada} \times 100 / \text{Absorbância da população celular não tratada})$, estimado conforme referencial de Santos et al., 2005. A análise

estatística foi realizada através do Programa GraphPad Prisma 5.0 com utilização do método ANOVA seguido pelo teste de Bonferroni.

Atividade Antimicrobiana

A avaliação da atividade antibacteriana foi determinada conforme critérios de Silva et al. (2016), em que foi realizada análise após 120 horas de fermentação em microplacas de 96 poços. A cada amostra foram adicionados 50µl da AgNPs e 5µl da cultura da bactéria-teste na concentração de 5×10^4 UFC/mL e 45µl do meio Müller Hinton Líquido (CLSI, 2003). O controle negativo foi feito sem a presença do micro-organismo teste adicionado do líquido metabólico e o controle positivo com a presença da bactéria teste, sem o líquido metabólico livres de células. As microplacas foram incubadas em estufa à temperatura de 37°C por 24 horas, e após este período foram determinadas as absorbâncias por um leitor de microplacas no comprimento de onda a 550nm de acordo com a classificação de sensibilidade de SILVA et al (2016). Nesse sentido foram avaliadas as absorbâncias antes e após a aplicação do corante resazurina.

Quanto aos agentes microbianos avaliados, foram selecionadas linhagens de bactérias multirresistentes relacionadas a infecções ortopédicas de incidência prevalente na prática médica. Dessa forma, elencaram-se as espécies de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*. Tais grupamentos são isolados bacterianos de pacientes com diagnóstico de osteomielite do Hospital Otávio de Freitas (Recife-PE) e classificados como multirresistentes por método molecular e antibiograma (MEDEIROS et al., 2011).

Todas as linhagens selecionadas apresentaram-se resistentes a diferentes antibióticos, tais quais: amicacina, ampicilina/sulbactam, cefepima, ceftazidima, imipenem, meropenem, ciprofloxacina, benzilpenicilina, oxacilina, clindamicina.

Foram disponibilizadas para as avaliações do presente estudo um total de dez grupamentos amostrais, em que cada composto apresentava um indivíduo de bactéria, a seguir: três de *Staphylococcus aureus*, três de *Pseudomonas aeruginosa*, três de *Klebsiella pneumoniae* e um de *Escherichia coli*. Cada grupamento foi diluído em três novos recipientes para definição de absorbância, a fim de enriquecer as evidências e prevenir erros metodológicos na leitura das microplacas.

No que diz respeito aos aspectos éticos de pesquisa, o uso de isolados de bactérias neste estudo, o uso de termos de consentimento livre e esclarecido assinados pelos pacientes foi dispensado, tendo em vista tratar-se de bancos de dados da instituição, isolados em laboratório e sem identificação. Todas as etapas executadas no processamento das amostras foram realizadas somente após o consentimento do conselho de ética e pesquisa da instituição.

Análise Estatística

A análise estatística dos dados coletados a partir das amostras em estudo quanto ao potencial de atividade citotóxica foram representados através dos resultados expressos como as médias das repetições $\pm$ desvio padrão. Para análise de variância (ANOVA) foi realizado o teste de Bonferroni para comparações múltiplas. Um valor de $p < 0,05$ foi adotado como nível de significância.

RESULTADOS

Seleção da melhor linhagem microbiana produtora nanopartículas de prata

Dois foram os principais critérios indicadores de linhagens de microrganismos relacionadas à biossíntese de AgNP. O primeiro indicador elencado consistiu na mudança de coloração das soluções microbianas em meios de cultivo. O segundo indicador refere-se à presença de nanopartículas de prata na banda de ressonâncioplasmônica superficial nos comprimentos de onda entre 410-450 nm, através do método de espectroscopia ultravioleta-visível (UV-Vis).

Os grupamentos microbianos foram selecionados segundo evidências científicas de potenciais produtores de biomoléculas de interesse biotecnológico. No presente estudo, entre as doze linhagens fúngicas estudadas não foi observada síntese de nanopartículas de prata em proporções significativas. Quanto às culturas de actinomicetos, entre as quatro linhagens estudadas, as amostras dos grupamentos *Streptomyces* sp. DPUA 1542 e *Streptomyces* sp. DPUA 1557 apresentaram capacidade em biossintetizar extracelularmente AgNP (Tabela 1). Entre os meios de cultivo avaliados, ambas as espécies de actinomicetos potencialmente produtoras de AgNPs com amostras no meio MS-2 apresentaram formação de nanopartículas.

Tabela 1: Linhagens de actinomicetos analisadas em relação à capacidade de síntese verde extracelular de AgNPs e os respectivos meios de cultivo das amostras.

Microrganismos	Meios de Produção	Síntese Extracelular de AgNPs
<i>Streptomyces</i> spp.	MS-2	+
DPUA 1542	ISP-2	+
<i>Streptomyces</i> spp.	MS-2	+
DPUA 1557	HT	-
<i>Streptomyces malasyensis</i>	MS-2	-
DPUA 1571	HT	-
<i>Streptomyces parvulus</i>	MS-2	-
DPUA 1573	ISP-2	-

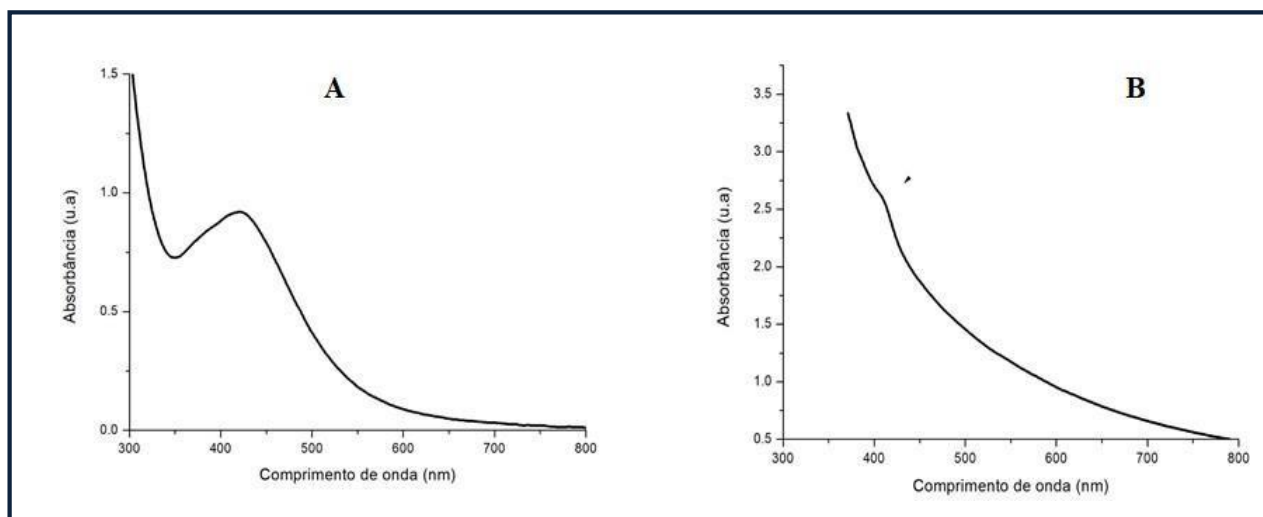
MS-2 - Meio de Soja 2%; ISP-2 - International Streptomyces Project-2 Medium; HT - Meio Hickey Tresner; (+) indica síntese de nanopartículas, (-) não houve produção. Fonte: o autor. 2022.

Quanto à avaliação da formação de nanopartículas de prata por Espectroscopia UV-visível na faixa de 400 a 500 nm, duas linhagens de actinomicetos apresentaram evidências de biossíntese significativa de nanopartículas de prata.

A linhagem *Streptomyces* spp. DPUA 1542 cultivada no meio ISP-2 realizou biossíntese de AgNP e a banda de RPS indicou pico de absorbância evidente no comprimento de onda 420 nm, compatível com a produção de nanopartículas. Nesse sentido, registraram-se na linhagem *Streptomyces* spp. DPUA 1557, preservada no meio de produção MS-2, evidências na ressonância plasmônica superficial de montantes significativos em níveis próximos ao comprimento de onda 400 nm, também compatível com a neoformação de partículas argíricas, conforme representado nas figuras a seguir (Figura 1).

Figura 1: (A) *Streptomyces sp.* DPUA 1542 cultivada no meio ISP-2 realizou biossíntese de AgNP com pico significativo no comprimento de onda 420 nm. (B) *Streptomyces sp.* DPUA 1557 no meio MS-2 evidenciou forte ressonância plasmônica superficial na região próxima ao comprimento de onda 400 nm.

Fonte: o autor. 2022



Análise por Potencial Zeta

A síntese verde de AgNPs foi avaliada espectroscopicamente pela tecnologia de Potencial Zeta, a qual indica as mudanças na carga superficial líquida no decorrer do tempo e ação das nanopartículas. Também foi sugerido o tamanho das AgNPs em água, conforme observado na Tabela 2.

O diâmetro hidrodinâmico foi medido por espalhamento dinâmico de luz com laser de comprimento de onda 633 nm e um ângulo de espalhamento fixo de 173°. A aferição considerou a partícula como esférica. Cada amostra foi medida três vezes para duas amostras replicadas a uma temperatura constante de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ (SILVA et al., 2017).

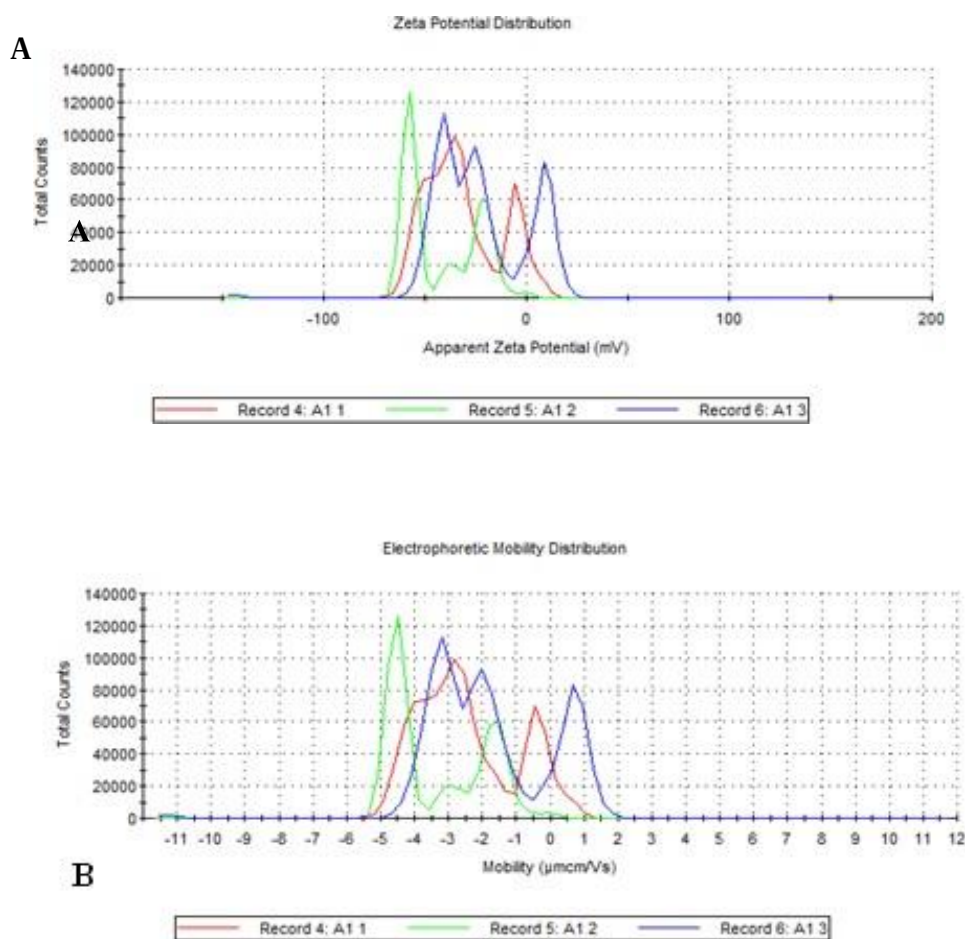
Tabela 2: ZETA Potencial e tamanho de AgNPs em água.

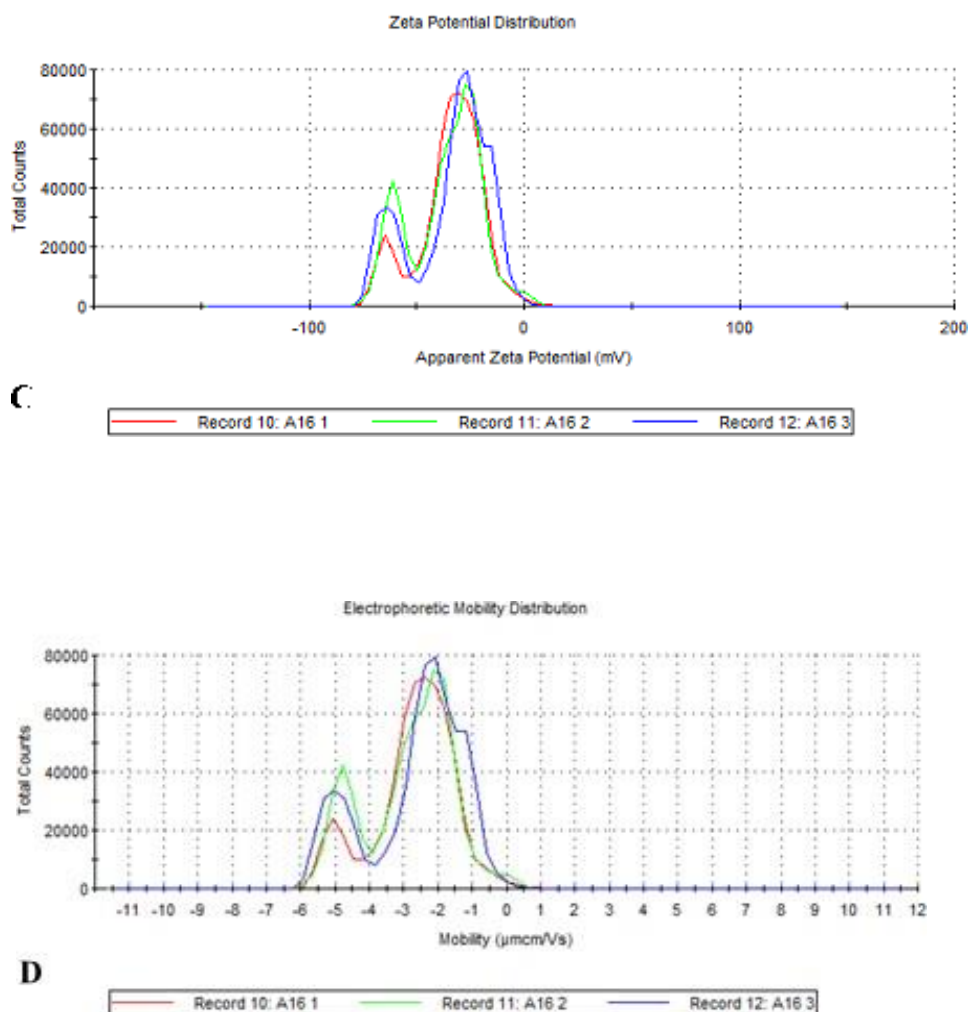
Medição	<i>Streptomyces sp.</i> DPUA 1557	<i>Streptomyces sp.</i> DPUA 1542
ZETA potencial (mV)	-26,46 Mv	-26,9 mV
Tamanho (nm)	695nm	1534.667nm

Fonte: o autor. 2022.

Os resultados compatíveis com bom padrão de estabilidade molecular (valores de Potencial Zeta menores que -30 mV) foram evidenciados nas linhagens *Streptomyces* sp. DPUA 1557, com único pico de AgNPs a -26,46 mV e *Streptomyces* sp. DPUA 1542, atingindo o montante de -26,9 mV. Os potenciais atingidos nas amostras encontram-se representadas nas figuras 2A, 2B, 2C, e 2D, a seguir, sendo diferenciadas as características entre as nanopartículas A1, resultado da linhagem *Streptomyces* sp. DPUA 1542 e as A16, originada das amostras de *Streptomyces* sp. DPUA 1557.

Figuras 2A, 2B, 2C, 2D: Análise gráfica do potencial Zeta das nanopartículas de prata sintetizadas pelos actinomicetos das linhagens *Streptomyces* spp. DPUA 1542 (Gráficos A e B) e *Streptomyces* spp. DPUA 1557 (Gráficos C e D).





Fonte: o autor. 2022.

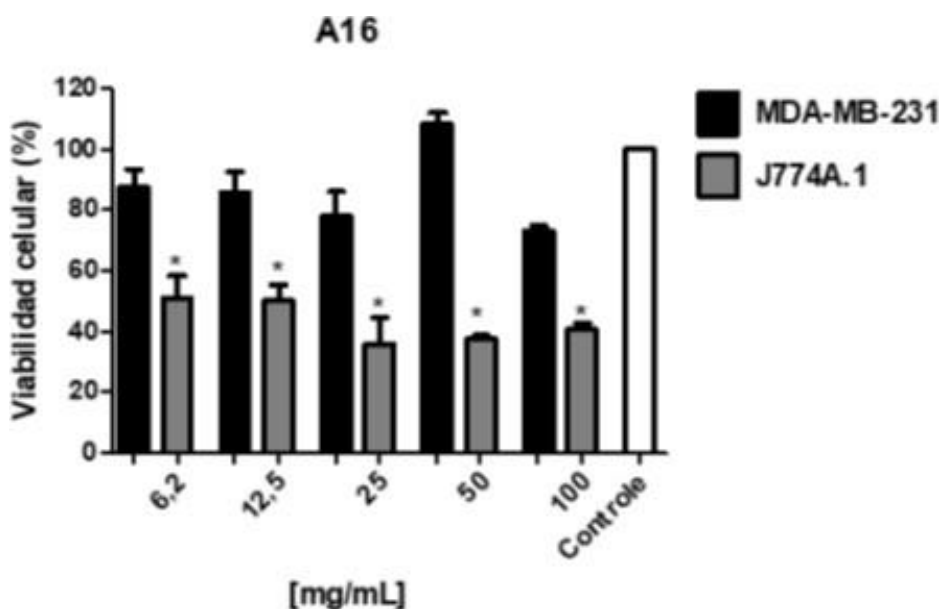
Todas as partículas em suspensão possuem um valor de Potencial Zeta, e com o conhecimento deste, é possível caracterizar se um colóide é estável ou não. A estabilidade total de um colóide vai depender de seu potencial total, que é a soma do potencial devido ao solvente, do potencial atrativo e do potencial repulsivo. Para não ocorrer o fenômeno de aglomeração o potencial repulsivo deve ser maior que o potencial atrativo.

Ademais, realizou-se a avaliação de correlações dos níveis de Potencial Zeta com o pH da solução. Através da análise foi evidenciada que o valor do Potencial Zeta das soluções de nanopartículas de prata está entre -37,8mV e -41,0mV. Pôde-se inferir, a partir desses resultados, a estabilidade apresentada pelas nanopartículas de prata mesmo com a variação do pH.

Atividade de Citotoxicidade

A citotoxicidade foi expressa em viabilidade celular: (Absorbância da população celular tratada X 100 / Absorbância da população celular não tratada) (DA SILVA et al, 2019). A representação dos resultados de viabilidade celular obtidos e suas respectivas titulações encontram-se nas ilustrações Figura 3:

Figura 3: Análise da viabilidade celular da AgNPs em MDA-MB-231 e J774A.1 por 24 horas em diferentes concentrações. As diferenças estatísticas com o controle foram determinadas por ANOVA seguido por Bonferroni. Cada valor determina a média $\pm$ DP de três experimentos independentes e foram comparados com a amostra controle.



* p valor < 0,05. Fonte: o autor. 2022.

Tendo em vista os testes estatísticos evidenciados na análise dos resultados, infere-se que em intervalos de concentração entre 6,2 e 100 mg/mL houve comprometimento na viabilidade celular dos macrófagos J774A.1. Quanto às amostras de células do adenocarcinoma humano (MDA-MB-231), não houve correlação estatística para inviabilidade em todas as concentrações avaliadas.

Atividade Antimicrobiana

Quanto aos agentes microbianos avaliados, foram selecionadas linhagens de bactérias multirresistentes relacionadas a infecções ortopédicas de incidência prevalente na prática médica. Dessa forma, elencaram-se as espécies de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*. No comprimento de onda de 550 nm, as linhagens apresentaram sensibilidade à ação antimicrobiana das nanopartículas de prata em diferentes concentrações, tanto contra microrganismos Gram positivos (*Staphylococcus aureus*), como também Gram negativos (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*). Nesse sentido, não foram estabelecidas correlações diretas com significância entre a ação antimicrobiana e os níveis de concentração de AgNP das amostras.

Em comparação com o controle, os AgNPs tendem a aumentar a fase de latência na curva de crescimento bacteriano dos microrganismos em todas as concentrações tratadas (5%, 25%, 50%, 75% e 100%). Na primeira amostragem, foram avaliadas todas as linhagens bacterianas elencadas no presente estudo, sendo evidenciados mecanismos bactericidas em aspectos macroscópicos (mudança de coloração), como também foram determinadas reduções nas absorbâncias registradas no leitor de microplacas.

Quando à etiologia bacteriana, os resultados também sugerem que os benefícios do efeito antimicrobiano das AgNPs foram mais evidentes na ação de combate às linhagens de *Staphylococcus aureus*, seguido das linhagens de *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*.

As tabelas e gráficos a seguir representam a análise das amostras antes e após a ação das nanopartículas de prata, em diferentes linhagens bacterianas, utilizando-se amostras bacterianas distintas. Consideraram-se valores de concentrações de AgNPs de 5 a 100 µg/mL, comparando-se os valores das soluções expressos em percentuais relativos à amostra mais concentrada (100 µg/mL). Ademais, foram avaliados os compostos em duas amostragens, sendo configurados como processos independentes, apesar de preconizada a metodologia padrão do presente estudo.

Na tabela 3, estão evidenciadas as amostras de três indivíduos de *Staphylococcus aureus*, comparando-se a efetividade do potencial antimicrobiano das amostras de AgNP sob diferentes concentrações com as amostras controle (soluções

bacterianas isoladas). Nota-se que, na média geral entre todas as nove amostras bacterianas em associação às cinco diferentes concentrações de AgNP, registrou-se a importante redução percentual de 12,59% no montante de microrganismos, independente da concentração de nanopartículas. Além disso, avaliando-se a média amostral de resposta bactericida e bacteriostática quanto às proporções de AgNP propostas, identificaram-se benefícios em todas as categorias: 100% AgNP – 3,03 %; 75% AgNP – 8,27%; 50% AgNP – 19,20%; 25% AgNP – 17,63%; 05% AgNP – 14,84%.

Tabela 3: Análise da função antimicrobiana de nanopartículas de prata sintetizadas pela linhagem do actinomiceto DPUA 1557 em amostras de *Staphylococcus aureus*.

PLACAS STAPHYLO	CONTROLE POSITIVO	AMOSTRAS AgNP	100% AgNP	75% AgNP	50% AgNP	25% AgNP	5% AgNP
MÉDIA AMOSTRAL	1,862	1,627	1,805	1,708	1,504	1,533	1,585
DIFERENÇA PERCENTUAL	0,00%	-12,59%	-3,03%	-8,27%	-19,20%	-17,63%	-14,84%

Fonte: o autor. 2022.

Na tabela 4, estão evidenciadas as amostras de três indivíduos de *Pseudomonas aeruginosa*, comparando-se a efetividade do potencial antimicrobiano das amostras de AgNP sob diferentes concentrações com as amostras controle (soluções bacterianas isoladas). Torna-se pertinente que, na média geral entre todas as nove amostras bacterianas em associação às cinco diferentes concentrações de AgNP, registrou-se a importante redução percentual de 10,64% no montante de microrganismos, independente da concentração de nanopartículas. Além disso, avaliando-se a média amostral de resposta bactericida e bacteriostática quanto às proporções de AgNP propostas, identificaram-se benefícios em todas as categorias: 100% AgNP – 9,46 %; 75% AgNP – 13,63%; 50% AgNP – 12,54%; 25% AgNP – 17,48%; 05% AgNP – 0,09%.

Tabela 4: Análise da função antimicrobiana de nanopartículas de prata derivadas do actinomiceto DPUA 1557 em amostras de *Pseudomonas aeruginosa*.

Fonte: o autor. 2022.

PLACAS PSEUDOMONAS	CONTROLE POSITIVO	AMOSTRAS AgNP	100% AgNP	75% AgNP	50% AgNP	25% AgNP	5% AgNP
MÉDIA AMOSTRAL	1,840	1,644	1,666	1,589	1,609	1,518	1,838
DIFERENÇA PERCENTUAL	0,00%	-10,64%	-9,46%	-13,63%	-12,54%	-17,48%	-0,09%

Na tabela 5, estão evidenciadas as amostras de três indivíduos de *Klebsiella pneumoniae*, comparando-se a efetividade do potencial antimicrobiano das amostras de AgNP sob diferentes concentrações com as amostras controle (soluções bacterianas isoladas). Assim como evidenciado nas duas linhagens bacterianas citadas anteriormente, os benefícios das nanopartículas de prata com potenciais antimicrobianos sugeridos nos resultados são fortalecidos com a média geral entre todas as nove amostras bacterianas em associação às cinco diferentes concentrações de AgNP. Na linhagem em questão, foi identificada uma importante redução percentual de 10,27% no montante de microrganismos, independente da concentração de nanopartículas, sob a metodologia de absorvância dos recipientes através de leitores de placa no comprimento de onda de 550 nanômetros. Além disso, avaliando-se a média amostral de resposta bactericida e bacteriostática quanto às proporções de AgNP propostas, identificaram-se benefícios em todas as categorias: 100% AgNP – 16,30 %; 75% AgNP – 11,90%; 50% AgNP – 10,64%; 25% AgNP – 8,04%; 05% AgNP – 4,50%.

Tabela 5: Análise da função antimicrobiana de nanopartículas de prata derivadas do actinomiceto DPUA 1557 em amostras de *Klebsiella pneumoniae*.

PLACAS KLEBSIELLA	CONTROLE POSITIVO	AMOSTRAS AgNP	100% AgNP	75% AgNP	50% AgNP	25% AgNP	5% AgNP
MÉDIA AMOSTRAL	2,193	1,967	1,835	1,932	1,960	2,017	2,094
DIFERENÇA PERCENTUAL	0,00%	-10,27%	-16,30%	-11,90%	-10,64%	-8,04%	-4,50%

Fonte: o autor. 2022.

Na tabela 6, estão evidenciadas as amostras de apenas um indivíduo da linhagem bacteriana *Escherichia coli*, comparando-se a efetividade do potencial antimicrobiano das amostras de AgNP sob diferentes concentrações com as amostras controle (soluções bacterianas isoladas). Apesar da avaliação dos potenciais antimicrobianos das AgNPs frente a esse grupamento ter sido registrada em uma única amostragem disponibilizada ao presente estudo, ainda assim foi evidenciado que na média geral entre todas as três amostras bacterianas em associação às cinco diferentes concentrações de AgNP, registrou-se redução percentual de 2,77% no montante de microrganismos, independente da concentração de nanopartículas.

Tabela 6: Análise da função antimicrobiana de nanopartículas de prata derivadas do actinomiceto DPUA 1557 em amostras de *Escherichia coli*.

PLACA 1 E. COLI	MÉDIA AMOSTRAL	DIFERENÇA PERCENTUAL
CONTROLE POSITIVO	3.185	0,00%
AMOSTRAS AgNP	3.097	-2,77%
100% AgNP	3.104	-2,52%
75% AgNP	3.096	-2,79%
50% AgNP	3.133	-1,61%
25% AgNP	3.101	-2,63%
5% AgNP	3.048	-4,28%

Fonte: o autor. 2022.

DISCUSSÃO

A diversidade de biomoléculas produzidas por diferentes linhagens de microrganismos tem sido amplamente relatada e discutida na literatura científica; a síntese verde de nanopartículas constitui-se de complexos e interligados processos metabólicos primários e/ou secundários. Considerou-se no presente estudo as análises morfofuncionais de doze linhagens fúngicas e quatro linhagens de actinomicetos. Os grupamentos microbianos selecionados já apresentavam potenciais constatados previamente na produção de biomoléculas de interesse biotecnológico, tais como: proteases, lactases, substâncias antimicrobianas e ácido clavulânico (ALVES et al., 2021; COSTA et al., 2020, BATISTA et al., 2020; OLIVEIRA, et al.,

2020; SILVA et al., 2017; SILVA et al., 2016; NASCIMENTO et al., 2014).

A biossíntese de nanopartículas metálicas assistida por microrganismos tem sido extensivamente estudada como uma forma ecologicamente correta e eficiente de criar agentes bio-redutores. Todavia, nem todos os microrganismos apresentam capacidade de sintetizar AgNPs, devido à deficiência de enzimas celulares e intolerância à concentração de metais pesados (ZHANG et al., 2014). Quanto às linhagens avaliadas neste estudo, entre os doze grupamentos fúngicos estudados, não foram identificadas síntese significativa de nanopartículas de prata. Em contrapartida, entre as linhagens de actinomicetos cultivadas, as amostras de *Streptomyces* sp. DPUA 1542 e *Streptomyces* sp. DPUA 1557 apresentaram capacidade em biossintetizar extracelularmente AgNP.

A produção de AgNPs foi confirmada por análise espectroscópica UV-Visível que quantifica os espectros de absorção produzidos devido à excitação coletiva de elétrons de condução em prata. Neste estudo, o espectro UV-Visível da solução de reação coloidal mostrou um pico característico agudo em torno de 420 nm de comprimento de onda que foi produzido devido ao SPR. Em linhagens de *Streptomyces olivaceus* estudos observaram o pico máximo de absorção no comprimento de 450 nm (SANJIVKUMAR et al., 2019). Em outro modelos de *Streptomyces griseoplanus* observou-se o pico máximo de absorção nas faixas 413-417 nm, valores próximos ao que também foi observado nessa pesquisa (GOPALAKRISHNAN et al., 2018).

Os espectros de absorção óptica de nanopartículas metálicas são predominantemente dominados por SPR e o pico de absorção correlacionado com o tamanho da partícula. O deslocamento do pico SPR de AgNPs em dispersão aquosa para comprimentos de onda mais longos está associado ao aumento no tamanho de partícula. Estudos anteriores mostraram o efeito do tamanho, forma e ambiente dielétrico das nanopartículas na banda SPR de nanopartículas de metal nobre. A análise de espectro UV-Visível dependente do tempo mostrou que a biorredução máxima foi feita dentro de 20 min do tempo de reação, o que foi confirmado por análise de ICP (98%) (GONZALEZ et al., 2016).

Os sais de prata têm sido usados como agentes antimicrobianos há décadas. Nanopartículas esféricas de pequeno tamanho monodispersas fornecem uma área de superfície maior que aumenta o potencial antibacteriano da prata (OKAFOR et al., 2013). Na verdade, a interação dependente do tamanho de AgNPs com bactérias e

vírus patogênicos foi relatada por muitos autores. O extrato aquoso do *actinomiceto* também é bem conhecido por seu efeito antimicrobiano, indicando a presença de biomoléculas que possuem potencial antibacteriano (SHARMA et al., 2014).

Nas concentrações estudadas as AgNPs apresentaram toxicidade frente as linhagens de células de macrófagos. A literatura atual sugere resultados promissores referentes à biocompatibilidade decorrente da grande área de superfície e do tamanho microscópico das AgNPs, facilitando a permeabilidade à membrana celular e, portanto, não se acumulando nas células (FU et al., 2014). A ação de nanopartículas com as células humanas podem resultar em inflamação, danosa à membrana celular e ao DNA, culminando em mecanismos de morte celular, interferências na interação da célula com outras células e produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (CHAIRUANGKITTI et al., 2012).

Assim como a dimensão nanométrica das AgNPs, a concentração amostral tem sido correlacionada ao potencial de citotoxicidade e genotoxicidade celular. A segunda via de avaliação da viabilidade biológica da aplicação de nanopartículas em células humanas foi em linhagens de adenocarcinoma humano da glândula mamária (MDA-MB- 231). Nesse grupamento, não houve comprometimento na viabilidade celular com significância estatística. Contudo, estudos posteriores com novas concentrações podem buscar se as nanopartículas tem eficácia em inibir células tumorais.

Quanto aos agentes microbianos avaliados, foram selecionadas linhagens de bactérias multirresistentes relacionadas a infecções ortopédicas de incidência prevalente na prática médica. Elencaram-se as espécies de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*. Tais grupamentos são isolados bacterianos de pacientes com diagnóstico de osteomielite do Hospital Otáviode Freitas (Recife-PE) e classificados como multirresistentes por método molecular e antibiograma (Medeiros et al., 2011). Todas as linhagens selecionadas apresentaram-se resistentes a diferentes antibióticos, tais quais: amicacina, ampicilina/sulbactam, cefepima, ceftazidima, imipenem, meropenem, ciprofloxacina, benzilpenicilina, oxacilina, clindamicina. Todas as linhagens testadas foram sensíveis as concentrações de 1 e 100 µg/mL.

A medição da turbidez foi realizada para avaliar o potencial antimicrobiano das AgNPs contra as células bacterianas. Os resultados demonstram a fase de latência prolongada, que sugere efeito antibacteriano dependente da dose de AgNPs em microrganismos Gram positivos e Gram negativos, em consistência com estudos

anteriores.

Há demonstrações de que os AgNPs podem causar danos à membrana celular de *E. coli* e interferir na função das enzimas da membrana, eventualmente levando à morte celular (FLARD et al., 2014). A geração de estresse oxidativo e produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), possivelmente devido à inibição da enzima respiratória, também foi atribuída à morte celular bacteriana em alguns estudos. Estudos de espectroscopia de ressonância de spin de elétrons mostraram que a geração descontrolada de radicais livres de AgNPs pode se ligar a lipídios de membrana, tornando porosidade a membrana celular, levando a funções de membrana prejudicadas e morte celular (RODRUGES et al., 2017). A ligação preferencial de AgNPs a moléculas contendo fósforo, como DNA, também foi revelada, podendo causar replicação deficiente de DNA nos micróbios (BRENNAN et al., 2015). A análise da efetividade das nanopartículas de prata frente a microorganismos vem apresentando resultados promissores na literatura atual; credita-se, sobretudo, ao tamanho das moléculas, permitindo a penetração mais fácil na parede celular bacteriana, bem como em razão das múltiplas vias de ação antimicrobiana das AgNPs (RAJENDRAN et al., 2018). As células imunológicas são indicadores muito sensíveis que reconhecem e reagem rapidamente a antígenos estranhos, como os microbiológicos, físicos e químicos (SHARMA et al.). O ensaio de imunocompatibilidade in vitro em células THP1-XBlue revelou que nanopartículas de prata biogênicas em concentração de 5 µg / mL ou inferior não causam a ativação de monócitos. No entanto, concentrações de 50 µg / mL ou mais regularam significativamente a ativação de monócitos.

O modo de ativação em muitas células imunes, incluindo monócitos, é dependente de NF-κB e, se estimuladas, as células secretam citocinas inflamatórias, levando à resposta imune, como inflamação (PAUKSCH et al., 2014). O NF-κB pode ser ativado após a exposição a AgNPs (100 µg / mL); este efeito de ação foi observado apenas em células de carcinoma de fígado humano, mas não em linhagens de câncer de pulmão de células não pequenas (STEPKOWSKI et al., 2014).

Muitos estudos mostraram que as nanopartículas de prata podem fornecer um sinal de ativação para NF-κB e induzir a produção de mediadores pró-inflamatórios, como TNF-α, IL-8, IL-2 e IL-6 (SINGH et al., 2016). SHI et al também notaram que os AgNPs podem induzir a lesão e disfunção das células endoteliais da veia umbilical humana por meio da ativação do NF-κB, que está associado ao estresse oxidativo,

induzido pelos AgNPs. Aqui, relatamos que AgNPs biogênicos obtidos em modelo de actinomicetos podem ser um agente antibacteriano promissor e seguro.

CONCLUSÃO

O presente estudo conclui um processo *eco-friendly* bem-sucedido para a síntese de AgNPs usando *Streptomyces* sp. DPUA 1557, os quais produzem agentes redutores de íons de prata. Além disso, as AgNPs apresentaram potencial antimicrobiano contra bactérias multiresistentes isoladas de portadores de osteomielite, sugerindo sua aplicação como um agente antimicrobiano eficaz no futuro. Em relação a citotoxicidade demonstrou-se que as AgNPs promoveram dano às células de macrófagos humano, no entanto correlação estatística não foi vista frente a células de adenocarcinoma humano. A avaliação de tais nanopartículas frente a capacidade osteoindutora e estudos *in vivo* podem demonstrar ainda mais robustez a sua indicação para uso clínico no combate as infecções, assim como a citotoxicidade diante de outras células humanas.

REFERÊNCIAS

- Al-Dhabi, N.A.; Ghilan, A.M.; Esmail, G.A.; Arasu, M.V.; Duraipandiyan, V.; Ponmurugan, K. **Environmental friendly synthesis of silver nanomaterials from the promising *Streptomyces parvus* strain Al-Dhabi-91 recovered from the Saudi Arabian marine regions for antimicrobial and antioxidant properties**. Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology. (2019), <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111529>.
- Alves R; De Oliveira R; Da Silva O; Porto A; Porto C; Porto T. **Extractive fermentation for process integration of protease production by *Aspergillus tamaris* Kita UCP1279 and purification by PEG-Citrate Aqueous Two-Phase System**. Preparative Biochemistry & Biotechnology, v. 1, p. 1-8, 2021.
- Batista, Juanize M.S.; Brandão-Costa, Romero M.P. ; Carneiro Da Cunha, Márcia N. ; Rodrigues, Hélio O.S. ; Porto, Ana L.F. . **Purification and biochemical characterization of an extracellular fructosyltransferase-rich extract produced by *Aspergillus tamaris* Kita UCP1279**. BIOCATALYSIS AND AGRICULTURAL BIOTECHNOLOGY, v. 1, p. 101647, 2020
- Brennan, Stephen A., et al. **"Silver nanoparticles and their orthopaedic applications."** *The bone & joint journal* 97.5 (2015): 582-589.
- Busch, A.; Wegner, A.; Havesath, M.; Jager, M. **Substitutos Ósseos em Cirurgia Ortopédica: Situação Atual e Perspectivas Futuras**. Z. Ortop. Unfallchir.2021,159, 304-313.
- Campana, V.; Milano, G.; Pagano, E.; Barba, M.; Cicione, C.; Salonna, G.; Lattanzi, W.; Logroscino, G. **Substitutos ósseos em cirurgia ortopédica: Da ciência básica à prática clínica**. J. Mater. Sci. Mater. Med.2014,25, 2445-2461.
- Chairuangkitti P, Lawanprasert S, Roytrakul S, et al. **Nanopartículas de prata induzem toxicidade em células A549 por meio de vias dependentes e independentes de ROS**. *Toxicol Vitro*. 2012; 27 : 330–338. doi: 10.1016 / j.tiv.2012.08.021.
- Costa, R. B. ; Brandao, R. M. P. ; Pedrosa, Raquel Bezerra ; Albuquerque, W. ; Porto, ALF . **Ultrasound-assisted enzyme catalyzed hydrolysis of collagen to produce peptides with biomedical potential: Collagenase from *Aspergillus terreus* UCP1276**. BIOELECTROMAGNETICS, v. 1, p. 1, 2020.
- Da Silva, A. S., de Lira Pimentel, C. S., dos Santos, F. H. G., de Araújo, H. D. A., Paiva, P. M. G., da Silva, N. H., Navarro, D. M. do A. F. **Insecticidal activity of the ether extract from the lichen *Ramalina complanata* and an isolated metabolite (divaricatic acid) against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae)**. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 35, 102049, 2021. doi:10.1016/j.bcab.2021.102049

Das B., Dash SK, Mandal D., Ghosh T., Chattopadhyay S., Tripathy S., Das S., Dey SK, Das D., Roy S. **As nanopartículas de prata sintetizadas Green destroem bactérias multirresistentes por meio de oxigênio reativo danos à membrana mediados por espécies.** *Árabe. J. Chem.* 2017; 10 : 862–876. doi: 10.1016 / j.arabjc.2015.08.008.

Demain, A.L. and Sanchez, S. (2009) **Microbial Drug Discovery: 80 Years of Progress.** *The Journal of Antibiotics*, 62, 5-16.
http://dx.doi.org/10.1038/ja.2008.16.

Druszczyńska M, Włodarczyk M, Janiszewska-Drobinska B, et al. **Receptores de transdução de sinal de monócitos na tuberculose ativa e latente.** *Clin Dev Immunol.* 2013.

Feng X., Yan D., Zhao KJ, Luo JY, Ren YS, Kong WJ, Han YM, Xiao XH **Applications of microcalorimetry na avaliação da atividade antibacteriana de vários *Rhizoma coptidis*.** *Pharma. Biol.* 2011; 49 : 348–353. doi: 10.3109 /13880209.2010.523428.

Flard, k.; buttner, M. J. **Streptomyces morphogenetics: dissecting differentiation in a filamentous bacterium.** *Nature Reviews Microbiology*, v.7, n.1, p. 36-49, 2009.
Fu PP, Xia Q, Hwang H, et al. **Mecanismos de nanotoxicidade: geração de espécies reativas de oxigênio.** *J Food Drug Anal.* 2014; 22 : 64–75. doi: 10.1016 / j.jfda.2014.01.005.

Gallo, J.; Panacek, A.; Pucek, R.; Kriegova, E.; Hradilova, S.; Hobza, M.; Holinka, M. **Silver Nanocoating Technology na Prevenção da Infecção da Articulação Protética.** *Materiais* 2016,9, 337.

Ghimire, Suresh Kumar; McKey, Doyle; Aumeeruddy-Thomas, Yildiz (2004). **«Heterogeneity in Ethnoecological Knowledge and Management of Medicinal Plants in the Himalayas of Nepal: Implications for Conservation».** *Ecology and Society.* 9 (3). ISSN 1708-3087. doi:10.5751/es- 00708-090306.

Gogoi SK, Gopinath P., Paul A., Ramesh A., Ghosh SS, Chattopadhyay A. **Green fluorescent protein-expressing Escherichia coli como um sistema modelo para investigar as atividades antimicrobianas de nanopartículas de prata.** *Langmuir.* 2006; 22 : 9322–9328. doi: 10.1021 / la060661v.

Gonzalez I; Ayuso-Sacido A; Anderson A; Genilloud O. **«Actinomycetes isolated from lichens: Evaluation of their diversity and detection of biosynthetic gene sequences».** *FEMS Microbiology Ecology.* 54 (3):401–415. ISSN 0168-6496.

Goodfellow, M.; Haynes, J.A. (1984). **«ACTINOMYCETES IN MARINE SEDIMENTS».** Elsevier: 453–472. ISBN 9780125286206

Goodfellow, M; Williams, S T (outubro de 1983). **«Ecology of Actinomycetes».** *Annual Review of Microbiology.* 37 (1): 189–216. ISSN 0066-4227. doi:10.1146/annurev.mi.37.100183.001201.

Greulich C, Diendorf J, Simon T, et al. **Captação e distribuição intracelular de nanopartículas de prata em células-tronco mesenquimais humanas.** *Acta Biomater.* 2011; 7 : 347–354. doi: 10.1016 / j.actbio.2010.08.003.

Hemath Naveen, K. S., et al. **"Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the filamentous fungus *Penicillium* sp."** *Arch. Appl. Sci. Res* 2.6 (2010): 161-167.

Iravani S., Korbekandi H., Mirmohammadi SV, Zolfaghari B. **Synthesis of silver nanoparticles: Chemical, Physical and Biological methods.** *Res. Pharm. Sci.* 2014; 9 : 385–406.

Jennison T, McNally M, Pandit H. **Prevenção de infecção em locais de pinos de fixador externo.** *Acta Biomater* 2014;10:595–603.

Kaabipour S, Hemmati S. **A review on the green and sustainable synthesis of silver nanoparticles and one-dimensional silver nanostructures.** Beilstein J Nanotechnol. 2021 Jan 25;12:102-136. doi: 10.3762/bjnano.12.9. PMID: 33564607; PMCID: PMC7849236.

Khan, M.; Indykiewicz, K.; Tam, P.L.; Yurgens, A. Correction: Khan et al. **High Mobility Graphene on EVA/PET.** *Nanomaterials* 2022, 12, 331. *Nanomaterials* 2022, 12, 1935. <https://doi.org/10.3390/nano12111935>

Ko SH, Park I., Pan H., Grigoropoulos CP, Pisano AP, Luscombe CK, Fréchet JMJ. **Nanoimpressão direta de nanopartículas de metal para fabricação de eletrônicos em nanoescala.** *Nano Lett.* 2007; 7 : 1869–1877. doi: 10.1021 / nl070333v.

Landsdown, AB; Williams, A. **Resistência bacteriana à prata no tratamento de feridas e dispositivos médicos.** *J. Tratamento de Feridas* 2007,16, 15-19.

Levy, S.B. and Marshall, B. (2004) **Antibacterial Resistance Worldwide: Causes, Challenges and Responses.** *Nature Medicine*, S122-S129. <http://dx.doi.org/10.1038/nm1145>.

Liz R, Simard J, Bruna L, et al. **As nanopartículas de prata induzem rapidamente a morte celular atípica de neutrófilos humanos por um processo envolvendo caspases inflamatórias e espécies reativas de oxigênio e induzem a liberação de armadilhas extracelulares de neutrófilos após a adesão celular.** *Int Immunopharmacol.* 2015; 28 : 616–625. doi: 10.1016 / j.intimp.2015.06.030.

Mandracchia, VJ; Sanders, SM; Jaeger, AJ; Nickles, WA **Manejo da osteomielite.** *Clin. Podiatr. Med. Surg.* 2004,21, 335-351.

Medeiros E.S., França C.A., Krewer C.C., Peixoto R.M., Souza-Junior A.F., Cavalcante M.B., Costa M.M. & Mota R.A. 2011. **Antimicrobial resistance of *Staphylococcus* spp. isolates from cases of mastitis in buffalo in Brazil.** *Pesq. Vet. Bras.* 23(4):793-796.

Mosmann T. **Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays.** J Immunol Methods. 1983 Dec 16;65(1-2):55-63. doi: 10.1016/0022-1759(83)90303-4. PMID: 6606682.

Nascimento, T. P.; Porto, C. S. ; Teixeira, Maria Francisca Simas ; Porto, T. S. ; Porto, A.L.F. **Produção de biocompostos com atividade antimicrobiana de *Streptomyces* sp. isolado em face de mastite de cabra.** ARQUIVO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA (ONLINE), v. 66, p. 101-108, 2014.

Odularu, A.; Ajibade, P.A.; Bolhuis, A. **In Vitro Antibacterial Activities of Aniline Dithiocarbamate Crystals with its Corresponding Oxovanadium(IV) and Zinc(II) Coordination Compounds.** *Preprints*. 2018, 2018020021 (doi: 10.20944/preprints201802.0021.v1).

Okafor F., Janen A., Kukhtareva T., Edwards V., Curley M. **Green síntese de nanopartículas de prata, sua caracterização, aplicação e atividade antibacteriana.** *Int J. Environ. Res. Saúde pública*. 2013; 10 :5221–5238. doi: 10.3390 / ijerph10105221.

Oliveira, D. F. F.; Nascimento, T. P.; Rodrigues, C. H. ; Batista, J. M. S. ; Liu, T. P. S. L.; Medeiros, E. S. ; Mota, R. A. ; Brandão, R. M. P. ; Porto, T.S.; Porto, A. L.F. **Protease from *Mucor subtilissimus* UCP 1262: Evaluation of several specific protease activities and purification of a fibrinolytic enzyme.** ANAIS DA ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS (ONLINE), v. 92, p. 1, 2020.

Patil MP, Singh RD, Koli PB, Patil KT, Jagdale BS, Tipare AR, Kim GD. **Antibacterial potential of silver nanoparticles synthesized using *Madhuca longifolia* flower extract as a green resource.** *Microb Pathog*. 2018 Aug;121:184-189. doi: 10.1016/j.micpath.2018.05.040. Epub 2018 May 25. PMID: 29807133.

Pauksch, L.; Hartmann, S.; Rohnke, M.; Szalay, G.; Alt, V.; Schnettler, R.; Lips, KS **Biocompatibilidade de nanopartículas de prata e íons de prata em células-tronco mesenquimais humanas primárias e osteoblastos.** *Acta Biomater*.2014,10, 439-449.

Porto, a.l.f.; Campos-takaki, g.m.; Lima Filho, j.l. **Effects of culture conditions on protease production by *Streptomyces clavuligerus* growing soy bean flour médium.** *Appl. Biochem. Biotechnol.*, v.60, p.115-122, 1996.

Pridham, T. G., et al. **"A selection of media for maintenance and taxonomic study of streptomycetes."** *A selection of media for maintenance and taxonomic study of streptomycetes*. (1957).

Rajendran V, Sathya A, Gopalakrishnan S. **"Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using *Streptomyces griseoplanus* SAI-25 and its antifungal activity against *Macrophomina phaseolina*, the charcoal rot pathogen of sorghum."** *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 14 (2018): 166-171.

Rodrigues TS, da Silva Agm, de Moura Abl, Geonmonond Rs and Camargo Phc. 2017. **AgAu Nanotubes: Investigating the Effect of Surface Morphologies and Optical Properties over Applications in Catalysis and Photocatalysis**. J Braz Chem Soc 28: 1630-1638.

Salata OV **Aplicações de nanopartículas em biologia e medicina**. J. *Nanobiotechnol.* 2004; 2 : 3. doi: 10.1186 / 1477-3155-2-3.

Sambri, A.; Fiore, M.; Tedeschi, S.; De Paolis, M. **A Necessidade de Multidisciplinaridade na Medicina Moderna: Uma Visão sobre Infecções Ortopédicas**. *Microorganismos* 2022,10, 756.

Sánchez-López E, Gomes D, Esteruelas G, Bonilla L, Lopez-Machado AL, Galindo R, et al. **Metal-Based Nanoparticles as Antimicrobial Agents: An Overview**. *Nanomaterials (Basel)*. 2020 Feb 9;10(2):292. doi: 10.3390/nano10020292. PMID: 32050443; PMCID: PMC7075170.

Sanjivkumar, M., et al. **"Investigation on characterization and biomedical properties of silver nanoparticles synthesized by an actinobacterium *Streptomyces olivaceus* (MSU3).**" *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 17 (2019): 151-159.

Schneider, OD; Mohn, D.; Fuhrer, R.; Klein, K.; Kampf, K.; Nuss, KM; Sidler, M.; Zlinszky, K.; von Rechenberg, B.; Stark, WJ **Biocompatibilidade e formação óssea de nanocompósitos flexíveis de PLGA/fosfato de cálcio semelhantes a lã de algodão em ovinos**. *Abra Ortop. J.* 2011,5, 63-71.

Sharma G., Sharma AR, Bhavesh R., Park J., Ganbold B., Nam JS, Lee SS **Biomolecule-mediated synchronization of selenium nanoparticles using dry *Vitis vinifera* (raisin) extract**. *Moléculas*. 2014; 19 : 2761–2770. doi: 10.3390 / moléculas19032761.

Shimabukuro, M.; Hayashi, K.; Kishida, R.; Tsuchiya, A.; Ishikawa, K. **Nível de efeito não observado de fosfato de prata em osso artificial de carbonato de apatita na regeneração óssea inicial**. *ACS Infect. Des.* 2022,8, 159-169.

Singh P., Kim Y.-J., Zhang D., Yang D.-C. **Síntese biológica de nanopartículas de plantas e microrganismos**. *Trends Biotechnol.* 2016; 34 : 588–599. doi: 10.1016 / j.tibtech.2016.02.006.

Singhal G., Bhavesh R., Kasariya K., Sharma AR, Singh RP **Biosynthesis of silver nanoparticles using *Ocimum sanctum* (Tulsi) leaf extract and screening your antimicrobial activity**. *J. Nanopart. Res.* 2011; 13 : 2981–2988. doi: 10.1007 / s11051-010-0193-y.

Smbhy V, MacBride MM, Peterson BR, Sen A. **Compósitos de nanopartículas/polímeros de brometo de prata: materiais antimicrobianos ajustáveis de dupla ação**. *J Am Chem Soc* 2006;128:9798–9808.

Stępkowski, T. M., K. Brzóska, and M. Kruszewski. **"Silver nanoparticles induced changes in the expression of NF- κ B related genes are cell type specific and related to the basal activity of NF- κ B."** *Toxicology in Vitro* 28.4 (2014): 473-478.

Thaiss CA, Levy M, Itav S, Elinav E. **Integration of innate immun signaling.** *Trends Immunol.* 2016; 37 : 1-18. doi: 10.1016 / j.it.2015.12.003.

Tortora, G. J.; Funke, B. R.; Case, C. L. In:Microbiologia. 10.ed. Porto Alegre:Artmed, 2012.

Verne, E.; Miola, M.; Vitale Brovarone, C.; Canas, M.; Gatti, S.; Fucale, G.; Maina, G.; Masse, A.; Di Nunzio, S. **Silverdoping de superfície de vidro biocompatível para induzir propriedades antibacterianas. Parte I: Vidro maciço.**J. Mater. Sci. Mater. Med.2009,20, 733-740.

Wösten, Han A. B.; Willey, Joanne M. (1 de abril de 2000). **«Surface-active proteins enable microbial aerial hyphae to grow into the air».** *Microbiology.* **146** (4): 767–773. ISSN 1350-0872. doi:10.1099/00221287-146-4-767.

Xu X., Yang Q., Bai J., Lu T., Li Y., Jing X. **Fabricação de fibras biodegradáveisde poli (L-lactídeo-co-glicolídeo) eletrofiadas biodegradáveis com partículas de nanoprata antimicrobianas.** *J. Nanosci. Nanotecnol.* 2008; 8 : 5066–5070. doi: 10.1166 / jnn.2008.1193

Xu XN, Brownlow WJ, Kyriacou SV, Wan Q., Viola JJ **Sondagem em tempo realdo transporte de membrana em células microbianas vivas usando óptica de nanopartícula única e imagem de células vivas.** *Bioquímica.* 2004; 43 : 10400–10413. doi: 10.1021 / bi036231a.

Yamanaka M, Hara K, Kudo J. **Ações bactericidas de uma solução de íons de prata em Escherichia coli, estudadas por microscopia eletrônica de transmissão de filtragem de energia e análise proteômica.** *Appl Environment Microbiol*2005;71:7589–7593.

Yuan, J.; Wang, B.; Han, C.; Huang, X.; Xiao, H.; Luxo.; Lu, J.; Zhang, D.; Xue, F.; Xie, Y. **Fosfato beta-tricálcico poroso dopado com Ag nanométrico para aplicações biológicas.***Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Aplic.*2020,114, 111037

Zhang T, Wang L, Chen Q, Chen C. **Cytotoxic potencial of silver nanoparticles.** *Yonsei Med J.* 2014; 55 : 283–291. doi: 10.3349 / ymj.2014.55.2.283.

Zhang, R.; Lee, P.; Luís, VC; Chen, Y.; Liu, X.; Lok, CN; Tom.; Yeung, KW; Wong, KK **As nanopartículas de prata promovem a osteogênese de células-tronco mesenquimais e melhoram a cicatrização de fraturas ósseas no modelo de camundongo do mecanismo de osteogênese.***Nanomedicina*2015,11, 1949-1959.

CONCLUSÃO DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

Já é constatado na literatura o potencial de compostos bioativos nas áreas médicas e este trabalho constatou mais uma vez o potencial de microrganismos na síntese de nanopartículas de prata.

No entanto os fungos estudados não apresentaram essa capacidade, porém os actinomicetos tiveram essa síntese e, conforme apresentado, as AgNPs produzidas por *Streptomyces* sp. DPUA 1557 foram eficazes na atividade antimicrobiana frente a isolados multiressistentes de osteomielite.

Nesta perspectiva, este trabalho destaca o potencial de produção de AgNPs de interesse biotecnológico, e igualmente ressalta que a metodologia empregada oferece alternativa para métodos de produção química e o uso destes materiais na prática clínica como alternativa ao combate de infecções ósseas.

ANEXO A - CAPÍTULO DE LIVROS PUBLICADOS

DANIELLE MARTINIANO DA SILVA RODRIGUES; VIVIANE FERREIRA ARAÚJO; MICHELINE THAIS DOS SANTOS; **TALE LUCAS VIEIRA ROLIM**; THIAGO PAJEÚ NASCIMENTO; ROMERO MARCOS PEDROSA BRANDÃO COSTA; JUANIZE MATIAS DA SILVA BATISTA; ANA LÚCIA FIGUEIREDO PORTO. Bionanotecnologia: Uma Nova Tecnologia Frente Às Arboviroses. Biotecnologia saúde – Capítulo 1: Belém – PA: RFB Editora, 2022. DOI: 10.46898/rfb.9786558892335.1



MICHELINE THAIS DOS SANTOS; **TALE LUCAS VIEIRA ROLIM**; VIVIANE FERREIRA ARAÚJO; MARIA ERCILIA LIMA BARREIRO; ELIZABETH SIMÕES DO AMARAL ALVES; BRENO ARAÚJO DE MELO; SYBELLE GEORGIA MESQUITA DA SILVA; ROMERO MARCOS PEDROSA BRANDÃO COSTA; JUANIZE MATIAS DA SILVA BATISTA; ANA LÚCIA FIGUEIREDO PORTO. Nanotecnologia Verde E Suas Aplicações No Ecossistema Agrícola. Ciências agrárias, indicadores e sistemas de produção sustentáveis - Capítulo 12: Ponta Grossa - PR: Atena, 2021. DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.00>

