

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS**

AMANDA COLOMBO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NANOPARTÍCULA  
DE ÓXIDO DE ZINCO (ZnO)**

DOURADOS

2016

AMANDA COLOMBO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NANOPARTÍCULA  
DE ÓXIDO DE ZINCO (ZnO)**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado a Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais da Universidade Federal da Grande Dourados como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel(a) em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Nelson Luis De Campos Domingues

DOURADOS

2016

AMANDA COLOMBO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NANOPARTÍCULA  
DE ÓXIDO DE ZINCO (ZnO)**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia pela Universidade Federal da Grande Dourados, com a comissão formada por:

---

Prof. Dr. Nelson Luis de Campos Domingues

---

MSc. Letícia Castellani Duarte

---

MSc. Élica Renata Soares da Silva

Dourados

2016

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).**

C718a Colombo, Amanda

Avaliação da atividade antimicrobiana de nanopartícula de óxido de zinco (ZnO) / Amanda Colombo -- Dourados: UFGD, 2016.

25f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Nelson Luis de Campos Domingues

TCC (Graduação em Biotecnologia) - Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados.

1. Nanopartícula de óxido de zinco. 2. Atividade antimicrobiana. 3. Co-precipitação. I. Título.

## Sumário

Resumo.....	6
Abstract.....	7
1. Introdução.....	8
2. Metodologia.....	9
2.1 Síntese de Nanopartícula de Óxido de Zinco por co-precipitação.....	9
2.2 Caracterização da Nanopartícula de Óxido de Zinco.....	10
2.3 Preparo da Suspensão de Nanopartícula de ZnO.....	11
2.4 Cultura Bacteriana.....	11
2.5 Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	11
3.Resultados e Discussão.....	12
4.Conclusões.....	17
Referências.....	17
Anexo I.....	21

## **Índice de figuras:**

Figura 1: Representação do método de co-precipitação para obtenção de Nanopartícula de ZnO. .... 10

Figura 2: Reação de síntese das nanopartículas de ZnO.....12

Figura 3: Espectro de infravermelho de nanopartículas de ZnO em pastilha de KBr.....13

Tabela 1: Determinação da Concentração Inibitória Mínima. .... 14

## **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NANOPARTÍCULA DE ÓXIDO DE ZINCO (ZnO)**

### **EVALUATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ZINC OXIDE NANOPARTICLE (ZnO)**

Amanda Colombo<sup>1</sup>; Nelson Luis de Campos Domingues<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados/MS; <sup>2</sup>Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados/MS

Correspondência: <sup>1</sup>[amandacolombo@hotmail.com.br](mailto:amandacolombo@hotmail.com.br) +55 67 34102256;

<sup>2</sup>[nelsondomingues@ufgd.edu.br](mailto:nelsondomingues@ufgd.edu.br)+55 67 34102070

#### **Resumo**

As nanopartículas têm gerado um grande interesse de estudo por suas características físico-químicas únicas proporcionadas pelo seu tamanho reduzido e maior superfície de exposição. Algumas nanopartículas metálicas vêm se destacando por possuir atividade biológica antimicrobiana, mesmo que em baixas concentrações. A atividade antimicrobiana de nanopartículas metálicas de óxido de zinco tem recebido atenção especial por sua eficácia frente à procura por novos agentes no controle de patógenos resistentes. O objetivo desse trabalho foi sintetizar nanopartícula de ZnO pelo método de co-precipitação e avaliar seu potencial antimicrobiano sobre bactérias gram-negativa e gram-positiva em condições de laboratório. Foi feito também uma análise em espectro FTIR, onde foi confirmada a presença de bandas Zn-O das nanopartículas. Uma dispersão de nanopartículas em água esterilizada foi preparada com tween 80 para que assim fosse determinada a concentração inibitória mínima (CIM). Para isso, foi realizado um crescimento microbiano overnight com diluição em caldo Mueller Hinton, alcançando a contagem de  $1 \times 10^5$  UFC/mL com a padronização das cepas. A CIM foi estabelecida em 0,5 mg/mL para bactéria Gram-positiva e 1,0 mg/ml para bactéria gram-negativa. Nessas concentrações da dispersão, não foi observada a presença de células viáveis. Esse trabalho demonstra que o método de obtenção de nanopartículas de

ZnO por co-precipitação foi eficaz, e elas possuem potencial para serem incorporadas em produtos e materiais onde é crucial o controle microbiano, além de possibilidade de serem utilizadas como alternativa às drogas antibióticas convencionais e com microorganismos resistentes. Dessa forma, é imprescindível que sejam feitos maiores ensaios de caracterização e toxicidade para futuras aplicações.

**Palavras-chave:** Nanopartícula de óxido de zinco, atividade antimicrobiana, co-precipitação.

### **Abstract**

Nanoparticles have generated great interest study for its unique physical and chemical characteristics provided by its reduced size and increased surface exposure. Some metal nanoparticles have been highlighted by having antimicrobial biological activity, even at low concentrations. The antimicrobial activity of metal zinc oxide (ZnO) nanoparticles has received special attention for its efficacy as the search for new agents in the control of resistant pathogens. The aim of this study was to synthesize ZnO nanoparticles by the method of co-precipitation and evaluate its antimicrobial potential of gram-negative and gram-positive in laboratory conditions. It was also made an analysis of FTIR spectrum, which confirmed the presence of Zn-O bands of nanoparticles. Nanoparticle dispersion was prepared in sterile water with Tween 80 so that it was determined the minimum inhibitory concentration (MIC). For this, an overnight bacterial growth was conducted with dilution in Mueller Hinton broth, increasing the count of  $1 \times 10^5$  CFU/mL with the standardization of the strains. The MIC was established at 0.5 mg/ml for gram-positive bacteria and 1.0 mg/ml for gram-negative bacteria. These dispersion concentrations, it was not observed the presence of viable cells. This study demonstrates that the method of obtaining ZnO nanoparticles by co-precipitation was effective, and it has the potential to be incorporated into products and materials where it is crucial microbial control, besides the possibility of being used as alternative to conventional antibiotic drugs and with resistant microorganisms. Thus, it is essential to be made larger characterization and toxicity tests for future applications.

**Keywords:** Zinc oxide nanoparticle, antimicrobial activity, co-precipitation.

## 1.Introdução

A nanotecnologia é uma das tecnologias consideradas mais importantes no século XXI por ser amplamente aplicável. Ela é definida como a manipulação de molécula por molécula, na escala entre 1 a 100 nm, o que leva a um tamanho reduzido e maior superfície de contato. Com isso há o desenvolvimento de propriedades e características únicas, não encontradas no tamanho micro/macroscópico. Através dela, surgiu a nanobiotecnologia, junção de biotecnologia e nanotecnologia, a qual tem a aplicação voltada para diversas áreas, incluindo a saúde humana, meio ambiente, agricultura e tecnologia (Rai, 2013).

Na área da saúde, mais conhecida como nanomedicina, as nanopartículas inorgânicas têm sido muito estudadas por sua atividade biológica mesmo em baixas concentrações (Liong et al., 2008). Dentre as nanopartículas de óxido metal, o óxido de zinco (ZnO) tem gerado grande interesse. Isso se deve a esse material apresentar alta estabilidade, absorção de radiação ultravioleta, características eletrostáticas únicas, e propriedade semicondutora e fotoluminescente (Rasmussen et al., 2010).

Um dos principais estudos atuais com as nanopartículas de ZnO se encontram na área de tumores por alguns trabalhos terem apresentado toxicidade seletividade em células cancerígenas, além do seu potencial uso em diagnóstico e distribuição controlada de drogas terapêuticas (Rasmussen, 2010). A atividade antimicrobiana de nanopartículas é outro campo promissor, uma vez que estas possuem atuação contra diversos micro-organismos, o que tem gerado aplicações na incorporação de produtos de consumo, como: papel, óculos, têxteis, e embalagens de alimento, aumentando o prazo de validade desses últimos (Espetia et al., 2012).

A atividade antimicrobiana dessas nanopartículas tem sido evidenciada pelo aumento mundial da multirresistência bacteriana aos antibióticos existentes, juntamente com a incidência de infecção hospitalar e a busca por novas alternativas para conter esse quadro (Baquero e Blázquez, 1997). Um exemplo disso é a resistência a meticilina por *Staphylococcus aureus* (MRSA), considerado uma das maiores preocupações de saúde pública (Rai, 2013). Da mesma forma, uma grande atenção tem sido dada à *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase, por conter o gene *bla<sub>KPC</sub>*, o qual pode causar resistência a todos os agentes betalactâmicos, tendo-se as opções terapêuticas limitadas

(Soares, 2012). Há uma necessidade urgente da busca por novos compostos antimicrobianos para combater estes micro-organismos multirresistentes e, assim, conter a evolução de surtos e suas consequências (Naber, 2009). Dessa forma, a obtenção das nanopartículas tem gerado grandes perspectivas como alternativa para o quadro apresentado.

As nanopartículas de ZnO podem ser obtidas por várias metodologias e cada uma está estritamente relacionada a uma morfologia e tamanho diferenciados. Isso, conseqüentemente, pode implicar a uma resposta biológica particular. Os métodos químicos mais utilizados na preparação dessas nanopartículas são o de hidrotérmica, sol-gel, co-precipitação e deposição química e física. A metodologia por co-precipitação se destaca por ser simples e de baixo custo. Ela consiste na precipitação de uma fase sólida a partir de uma fase homogênea, e posterior tratamento térmico (Rodríguez-Paez, 2001; Santos, 2010).

Muitos experimentos têm sido realizados para determinar a eficácia e aplicação dessas nanopartículas decorrente das propriedades peculiares adquiridas em cada técnica. Nesse sentido, o presente estudo teve o objetivo de sintetizar nanopartículas de ZnO pelo método de co-precipitação, com posterior caracterização em FTIR e determinação da atividade antimicrobiana sobre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase.

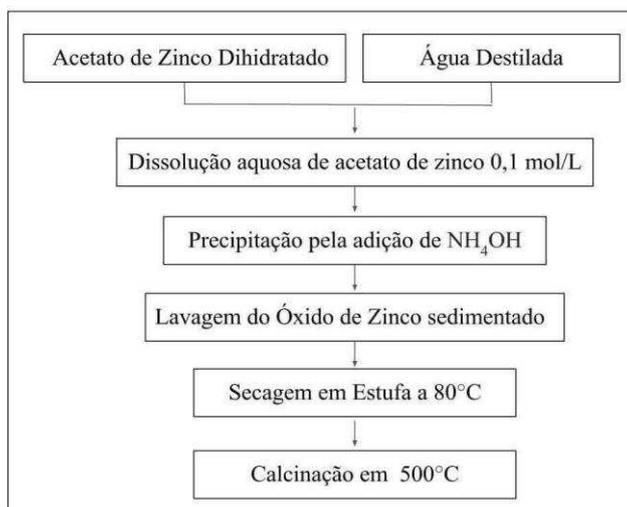
## **2. Metodologia**

O estudo experimental foi realizado nos laboratórios da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), sendo que o procedimento de síntese das nanopartículas ocorreu no Laboratório de Catálise Orgânica e Biocatálise (LACOB); e a atividade antimicrobiana foi realizada no Laboratório de Pesquisa de Ciências da Saúde (LPCS).

### **2.1 Síntese de Nanopartícula de Óxido de Zinco por co-precipitação**

A síntese de nanopartícula de ZnO seguiu a metodologia de co-precipitação descrita por Rodrigo-Paez (2001). Assim, preparou-se uma solução aquosa de acetato de zinco dihidratado em água destilada com a concentração de 0,1 M, obtendo-se uma dissolução completa. Em uma chapa magnética aquecedora a 50°C e sob constante

agitação, foi adicionado Hidróxido de Amônio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) até que a solução se tornasse turva, ocorrendo a precipitação. O líquido sobrenadante foi descartado e o precipitado de zinco foi lavado por três vezes com água destilada para remoção de subprodutos. Dessa forma, foi obtido um pó úmido, seguido de secagem em estufa a  $80^\circ\text{C}$  pelo período de 24 horas. O produto foi calcinado em mufla a  $500^\circ\text{C}$  por duas horas. A figura 1 representa o fluxograma da metodologia utilizada na obtenção da nanopartícula de ZnO por co-precipitação (Figura 1).



**Figura1.** Representação do método de co-precipitação para obtenção de Nanopartícula de ZnO.

## 2.2 Caracterização da Nanopartícula de ZnO

A nanopartícula foi caracterizada através da análise utilizando-se a espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier-FTIR (no inglês, Fourier Transform Infrared Photocoustic Spectroscopy) no equipamento espectrofotômetro Jasco modelo 4000. As nanopartículas foram dispersas em KBr e os picos de absorção da análise foram correlacionadas com o tipo de ligação do material existente. Um estudo de caracterização mais aprofundado foi realizado anteriormente por Filho (2015), onde tais nanopartículas foram analisadas em composição química, espectro e morfologia através da dispersão de energia de raios-X (EDX) com um detector de elétrons secundário (EDS) conectado a um microscópio eletrônico de varredura (MEV); além de ter sido feito um difratograma de raios X (DRX).

### 2.3 Preparo da Suspensão de Nanopartícula de ZnO

A fim de investigar a atividade antimicrobiana da nanopartícula, esta foi preparada em uma suspensão, contendo água estéril e nanopartícula de ZnO, com concentração final de 2 mg/mL. Foi adicionado juntamente Tween 80% na concentração de 50 mg/mL. A suspensão foi dissolvida com o auxílio de agitação em vortex no período de 10 minutos.

### 2.4 Cultura Bacteriana

Todos os materiais utilizados foram previamente esterilizados. Foram utilizadas para o teste antimicrobiano as cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase (KPC) isolada de um paciente internado em um hospital público de Dourados-MS. As suspensões das três cepas foram padronizadas na concentração de  $1 \times 10^5$  UFC (Unidade Formadora de Colônia)/mL em caldo Mueller Hinton. A caracterização da espécie bacteriana KPC foi realizada em estudos prévios por Silva et al. (2016) através do sistema automatizado VITEK 2 (bioMérieux), e confirmação em matrix-assisted laser desorption/ionization-time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). O perfil de resistência foi avaliado pelo teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a triagem para a produção de carbapenemases foi realizada pelo Teste Modificado de Hodge (MHT), sendo confirmado com o teste de hidrólise ao ertapenem utilizando o MALDI-TOF MS. A presença do gene *bla*<sub>KPC</sub> foi avaliada por PCR utilizando primers específicos.

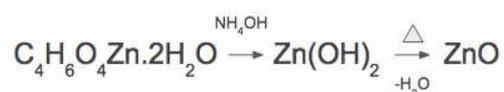
### 2.5 Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A avaliação do perfil de susceptibilidade à nanopartícula de ZnO foi realizada através da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), pela técnica de Microdiluição em caldo Mueller-Hilton, seguindo as padronizações estabelecidas pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). O ensaio foi realizado em uma microplaca de 96 poços, onde a suspensão da nanopartícula foi testada em sete diluições com concentrações variando de 0,015 a 1,0 mg/mL. As suspensões bacterianas foram

adicionadas e as placas incubadas a 36°C pelo período de 24 h. O experimento foi feito em duplicata, juntamente com um controle do crescimento das cepas, um da toxicidade do tween, e outro da esterilidade do meio Muller Hinton, da suspensão analisada e da água, avaliando-se a confiabilidade do teste. Após este período, a CIM foi registrada como sendo a menor concentração da suspensão de nanopartícula que inibiu completamente o crescimento bacteriano. A interpretação do resultado foi realizada após a adição de 30 µl de resazurina a cada poço. Com esse indicador, a coloração rosa indica que houve crescimento bacteriano, e a coloração azul indica que houve inibição do crescimento na concentração testada.

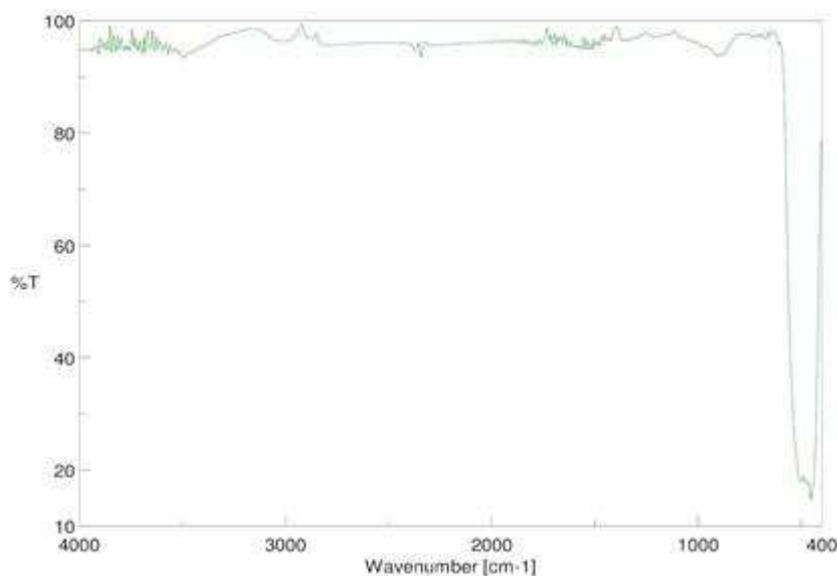
### 3. Resultados e Discussão

Neste estudo, foi sintetizada nanopartícula de ZnO pela metodologia de coprecipitação já descrita por Rodrigo-Paez (2001). O hidróxido de sódio foi adicionado na solução de acetato de zinco até a precipitação, quando o pH se tornou 10, sendo ajustado a pH=7 após disso. A calcinação do precipitado a 500°C levou a transformação do Zn(OH)<sub>2</sub> em nanopartículas de ZnO pela liberação da água (Figura 2).



**Figura 2.** Reação de síntese das nanopartículas de ZnO

Na avaliação das nanopartículas no espectro de infravermelho, a banda entre 400-600 cm<sup>-1</sup> é a que caracteriza a ligação Zn-O, e a sua forma está intimamente relacionada com a morfologia da nanopartícula. Através da Figura 3, pode ser observada a banda nessa região, a qual corresponde a formação da fase hexagonal de nanocristais de ZnO denominadas com estrutura de wurtzite indicado pela presença da banda em 400 cm<sup>-1</sup> (Figura 3).



**Figura 3.** Espectro de infravermelho de nanopartículas de ZnO em pastilha de KBr.

A atividade antimicrobiana com as três bactérias foi testada pela concentração inibitória mínima (Tabela 1) com a suspensão contendo nanopartícula e tween 80. O tween foi utilizado para uma melhor disseminação das nanopartículas e diminuição da velocidade de sedimentação das mesmas. Ele não apresentou atividade tóxica na concentração utilizada em nenhuma das cepas testadas. Ademais, o controle do crescimento das três cepas atingiu a contagem de  $1 \times 10^5$  UFC/mL, e o controle do meio Mueller Hinton, da suspensão e da água utilizados apresentaram esterilidade.

A nanopartícula teve atividade inibitória na concentração de 0,5 mg/ml para a Gram-positiva *Staphylococcus aureus* ATCC, e 1 mg/ml para as Gram-negativas *Escherichia Coli* ATCC e *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase.

O teste com as cepas de linhagens de referência ATCC foi feito com o objetivo de avaliar o perfil de sensibilidade às nanopartículas de bactérias que possuem uma grande riqueza de informação e são reconhecidas clinicamente como responsáveis por infecções em humanos, validando-se o estudo como confiável e preciso. Resultados semelhantes em relação a testes com tais cepas foram relatados nos estudos de Emami-Karvani & Chehrazi (2011) com nanopartículas de ZnO. Os autores obtiveram valores do CIM para *E. coli* (PTCC 1431) e *S. aureus* (PTCC 1399) de 1 e 0,5 mg/mL, respectivamente (Tabela 1). Isso demonstra que nanopartículas obtidas por diferentes metodologias podem resultar na mesma eficácia da atividade antimicrobiana com determinadas bactérias.

**Tabela1.** Determinação da Concentração Inibitória Mínima.

<b>Concentração (mg/ml)</b>	<b><i>E. coli</i></b>	<b><i>S. aureus</i></b>	<b><i>K. pneumoniae</i></b>
<b>0,015</b>	Crescimento	Crescimento	Crescimento
<b>0,031</b>	Crescimento	Crescimento	Crescimento
<b>0,062</b>	Crescimento	Crescimento	Crescimento
<b>0,125</b>	Crescimento	Crescimento	Crescimento
<b>0,250</b>	Crescimento	Crescimento	Crescimento
<b>0,500</b>	Crescimento	Inibição	Crescimento
<b>1,000</b>	Inibição	Inibição	Inibição

No que se refere aos efeitos em *S. aureus*, verifica-se também uma concordância com os dados apresentados por Reddy et al. (2007), no qual os autores pontuam que a suscetibilidade do *S. aureus* à nanopartícula de ZnO foi mais alta do que em relação à *E. coli*.

A *K. pneumoniae* produtora de *carbapenemase* testada nesse estudo é uma bactéria Gram-negativa isolada de um paciente internado em um hospital público. Ela foi previamente caracterizada apresentando o gene *bla<sub>KPC</sub>*, o qual pode causar resistência aos agentes betalactâmicos. No atual estudo, ela se mostrou resistente aos antibióticos carbapenêmicos e sensível à nanopartícula de ZnO na concentração de 1 mg/ml, o que abre perspectivas para maiores estudos como uso alternativo de ação antimicrobiana.

Atualmente, a polimixina é um dos limitados agentes antimicrobianos utilizados no tratamento de pacientes com infecções causadas por micro-organismos multirresistentes. No entanto, esse antibiótico é nefrotóxico e a resistência a ele também tem sido descrita (Mendes e Burdmann, 2009). Dessa forma, é necessária a busca por novos compostos antimicrobianos, e a nanopartícula vem se destacando por sua eficiência.

Baseando-se nos resultados obtidos no CIM deste trabalho e estudos anteriores, pode ser constatado que bactérias gram-positivas são mais sensíveis às nanopartículas

de ZnO. Não se sabe os motivos da diferença dos efeitos antimicrobianos sobre Gram-negativa e Gram-positiva, é necessário maior estudo; porém, vários mecanismos têm sido propostos. De acordo com Russel (2003), a principal diferença está relacionada ao *Staphylococcus aureus* ser uma bactéria Gram-positiva com uma estrutura de membrana menos complexa. As gram-negativas possuem uma camada celular externa composta de lipopolissacarídeo (LPS), a qual pode agir como um fator de barreira a mais de permeabilidade (Espitia et al., 2012).

No estudo de Liu et. al (2009), o contato da *E. coli* com nanopartículas de ZnO levou à danificação e deformação da membrana bacteriana, tendo-se desintegração de componentes intracelulares. Ainda assim, o mecanismo de ação exato que as nanopartículas causam essas deformidades e morte ainda também não é definido, os modos mais prováveis que têm sido estudados são: liberação de íons  $Zn^{2+}$ ; interação da nanopartícula com a integridade membrana bacteriana; e a produção de espécies reativas de oxigênio, o que induz ao estresse oxidativo (Espitia et al., 2012).

A concentração é outro fator determinante na interação da membrana celular da bactéria e os danos causados por esse metal. Padmavathy e Vijayaraghavan (2008), em seu trabalho com *E. coli* e nanopartícula de ZnO similarmente encontraram que suspensões em baixas concentrações resulta em menos atividade antimicrobiana. Segundo Espitia et al. (2012), nanopartícula de ZnO em baixas concentrações não demonstra toxicidade por ser um nutriente essencial em vários processos celulares. Isso pode ser confirmado nos experimentos de Reddy et al. (2007), onde foi observado que células de *E. coli* tratadas com baixas concentrações aumentou o número de unidade formadora de colônias, comparando-se com o controle.

Portanto, conclui-se que no estudo antimicrobiano em relação aos efeitos de nanopartícula de zinco, pode-se tanto favorecer o crescimento das culturas bacterianas quanto inibi-lo, dependendo do micro-organismo e da concentração da nanopartícula, notando-se a preferência dos micro-organismos por concentrações baixas, o que aumenta a sua multiplicação.

Esse trabalho demonstra que essas nanopartículas metálicas possuem potencial de serem incorporadas em produtos e materiais onde é crucial o controle microbiano, como por exemplo, nas áreas farmacêutica, alimentícia e hospitalar. Para isso, é necessário que sejam feitos mais ensaios de caracterização e toxicidade. Com esses estudos, há também a possibilidade de serem utilizadas como alternativa às drogas

antibióticas convencionais, e uma estratégia a micro-organismos resistentes,

Em aplicações que envolvam células eucarióticas, são necessários estudos de toxicidade *in vivo*, constatando-se o mecanismo de ação que elas podem afetar essas células. Em um desses testes, Reddy et al. (2007) demonstrou toxicidade seletiva das mesmas por células procarióticas. As células T não apresentaram modificação nas mesmas concentrações que foi demonstrado toxicidade para as bactérias testadas. Já o estudo de Zhang et al. (2011) testou os efeitos tóxicos de quatro tipos de nanopartículas (entre elas, ZnO) em fibroblastos pulmonares fetais humanos (HFL1); e foi demonstrado que os quatro tipos testados induzem à apoptose e modificações mitocondriais e morfológicas.

Alok & Vyom (2010) destaca a necessidade de maiores estudos de segurança e riscos desse campo tão emergente, ressaltando a preocupação global com sistemas biológicos. Da mesma forma, Cancino et al. (2014) salienta a limitação de conhecimento existente em relação aos efeitos tóxicos das nanopartículas, e sobre qual, de fato, é a interação, o mecanismo de penetração e as limitações desse material com sistemas biológicos. Há ainda pouco conhecimento sobre a biodisponibilidade, biodegradabilidade e toxicidade desses novos nanomateriais (Quina, 2004). Portanto, tornam-se imprescindíveis maiores estudos para avanços.

#### **4. Conclusão**

As nanopartículas de ZnO foram sintetizadas por meio da metodologia de coprecipitação, e a análise com FTIR comprova a eficiência na formação de óxidos metálicos com ligação Zn-O. Pode-se concluir que as nanopartículas de ZnO sintetizadas têm efeito antimicrobiano sobre gram-negativas e gram-positivas, tendo maior atividade sobre essas últimas. Isso demonstra potencial para serem incorporadas em produtos de uso comum, onde é necessário controle microbiano; tendo-se também perspectivas de uso como um método alternativo no controle e tratamento de infecções. Para serem aplicadas em mecanismos que envolvam células eucarióticas, são necessários maiores estudos de toxicidade *in vivo* e do mecanismo de ação podem afetar essas células. Além disso, há outros desafios a seguir, como uma avaliação rigorosa do seu ciclo de vida e impacto ambiental. Isso é de extrema importância para que se tenha uma regulamentação, padronização e crescimento em aplicações inovadoras.

## Referências

Baquero F, Blázquez J (1997). Evolution of antibiotic resistance. The Dept of Microbiology, Ramón y Cajal Hospital, National Institute of Health (INSALUD). Trends Ecol Evol. Madrid, Spain. 12: 482-487.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169534797012238>

Cancino J, Marangoni VS, Zucolotto V (2014). Nanotecnologia em medicina: aspectos fundamentais e principais preocupações. Quim. Nova, São Paulo. 37 (3), 521-526.

[.http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422014000300022](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422014000300022)

Dhawan A, Sharma V (2010). Toxicity assessment of nanomaterials: methods and challenges. Anal. Bioanal. Chem., 398(2): 589-605.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20652549>

Emani-Karvani Z, Chehrazi P (2011). Antibacterial activity of ZnO nanoparticle on gram-positive and gram-negative bacteria. African Journal of Microbiology Research, 5(12), 1368-1373.

[http://www.academicjournals.org/article/article1380805340\\_Emami-Karvani%20and%20Chehrazi.pdf](http://www.academicjournals.org/article/article1380805340_Emami-Karvani%20and%20Chehrazi.pdf)

Espitia PJP, Soares NFF, Coimbra JSR, Andrade NJ, Cruz RS (2012). Zinc oxide nanoparticles: synthesis, antimicrobial activity and food packaging applications. Food Bioprocess Techno, 5:1447-1464.

<http://link.springer.com/article/10.1007/s11947-012-0797-6>

Filho EBO (2015). Síntese e emprego de nanopartículas metálicas em reações orgânicas. Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Exatas e Tecnologia. Trabalho de Conclusão de Curso. Dourados.

Liu Y, He L, Mustapha A, Li H, Hu ZQ, Lin M (2009). Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against Escherichia coli O157:H7. Journal of Applied Microbiology ISSN 1364-5072. Mengshi Lin, Food Science Program. Division of Food Systems &

Bioengineering, University of Missouri, Columbia, MO 65211.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19486396>

Liong M, Lu J, Kovoichich M, Xia T, Ruehm SG, Nel AE, Tamanoi F, Zink JI (2008). Multifunctional inorganic nanoparticles for imaging, targeting, and drug delivery. Department of Radiological Sciences, University of California, Los Angeles. ACS Nano 2 (5) 889–896.

<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/nn800072t>

Mendes CAC, Burdmann EA (2009). Polimixinas- revisão com ênfase na sua nefrotoxicidade. Med Bras55 (6): 752-9.

[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-42302009000600023](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302009000600023)

Naber CK (2009). *Staphylococcus aureus* bacteremia: epidemiology, pathophysiology, and management strategies: department for cardiology and angiology, Centre for Cardiovascular Medicine, Elisabeth Hospital Essen, Essen, Germany. Clinical Infectious Diseases.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19374578>

Padmavathy N, Vijayaraghavan R (2008). Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles- an antimicrobial study. Science and Technology of Advanced Materials, 9(3), 035004.

<http://iopscience.iop.org/article/10.1088/1468-6996/9/3/035004/meta>

Quina FH (2004). Nanotecnologia e o meio ambiente: perspectivas e riscos. Química Nova, São Paulo. 27.

[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422004000600031](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422004000600031)

Rai M (2013). Nanobiotecnologia verde: biossínteses de nanopartículas metálicas e suas aplicações como nanoantimicrobianos. Ciência Cult. São Paulo.65 (3).

[http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?pid=S0009-67252013000300014&script=sci\\_arttext](http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?pid=S0009-67252013000300014&script=sci_arttext)

Rasmussen JW, Martinez E, Louka P, Wingett DG (2010). Zinc oxide nanoparticles for

selective destruction of tumor cells and potential for drug delivery applications. NIH Public Access, Expert Opin Drug Deliv.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20716019>

Reddy KM, Feris K, Bell J, Wingett DG, Hanley C, Punnoose A (2007). Selective toxicity of zinc oxide nanoparticles to prokaryotic and eukaryotic systems. *Applied Physics Letters*, 90(21).

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2153488/>

Rodríguez-Páez JE (2001). Síntesis de polvos cerámicos por el método de precipitación. *Boletín de La Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, 40 (3).

<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2895928>

Russell AD (2003). Similarities and differences in the responses of microorganisms to biocides. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52(5), 750–763.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14519671>

Santos GVF (2010). Estudo da síntese de partículas de ZnO: uma contribuição para o entendimento de processos fotocatalíticos. Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Pós-graduação em ciência de materiais. Recife-Pernambuco.

<http://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/1488>

Silva KE, Maciel WG, Sacchi FP, Carvalhaes CG, Rodrigues-Costa F, Silva AC, Croda MG, Negrão FJ, Croda J, Gales AC, Simionatto S (2016). Risk factors for KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: watch out for surgery. *JMed Microbiol*. 2016 Jun; 65(6):547-53.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27002853>

Soares VM (2012). Emergência de *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase (KPC) em um hospital terciário. *J. Bras. Patol. e Med. Lab.* 48(4).

[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1676-24442012000400003](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442012000400003)

Zhang XQ, Yin LH, Tang M, Pu YP (2011). ZnO, TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, and Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles-induced toxic effects on human fetal lung fibroblasts. *Biomedical and Environmental Sciences*, 24, (6).

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22365403>

## ANEXO I

African Journal of Microbiology Research

AJMR - Instrução para Autores

Introdução

Ética em pesquisa

Diretrizes de relatório

Preparando seu manuscrito

Título

Resumo

Abreviaturas

Introdução

Materiais e métodos

Resultados e discussão

Declaração de conflito de interesses

Agradecimentos

Referências

Tabelas e figuras

Certificado de Aceitação

Pagamento do manuscrito

Provas

Publicação

Notificação da publicação

---

### **Introdução**

Os autores devem ler a política editorial e ética de publicação antes de enviar os seus manuscritos. Autores também devem usar as diretrizes para relatórios adequados na preparação de seus manuscritos.

### **Ética em Pesquisa**

Estudos envolvendo seres humanos devem ser conduzidos de acordo com a Associação Médica Mundial (WMA) Declaração de Helsinki - Princípios Éticos para a Pesquisa Médica Envolvendo Seres Humanos.

Estudos envolvendo animais não humanos devem seguir diretrizes éticas adequadas, tais como o Animal Welfare Act , The Animals (Scientific Procedures) Act (Amendment) Order 1993 , a directiva do Parlamento da UE relativa à protecção dos animais utilizados para fins científicos, as políticas, diretrizes ARRPA , etc.

### **Diretrizes de relatório**

Relatórios responsáveis pelos estudos de investigação, o que inclui um relato completo, transparente, preciso e oportuno do que foi feito e o que foi encontrado durante uma pesquisa, é uma parte integrante de uma boa pesquisa e prática publicação e não um extra opcional.

### **Preparando seu manuscrito**

O tipo de artigo deve determinar a estrutura manuscrito. No entanto, a estrutura geral para artigos deve seguir a estrutura IMRAD.

### **Título**

A frase título deve ser breve.

Lista de autores com nomes completos (primeiro nome, meio-nome e último nome).

Filiações dos autores (departamento e instituição).

E-mails e números de telefone

### **Resumo**

O resumo deve ser inferior a 300 palavras. O resumo pode ser apresentado em formato não-estruturado ou estruturado. As palavras-chave deve ser inferior a 10.

### **Abreviaturas**

Abreviatura deve ser usada apenas para não padrão e termos muito longos.

### **Introdução**

O enunciado do problema deve ser indicado na introdução de uma forma clara e concisa.

### **Materiais e métodos**

Materiais e métodos devem ser claramente apresentados para permitir a reprodução das experiências.

**Resultados e discussão**

Resultados e discussão talvez combinadas em uma única seção. Resultados e discussão também podem ser apresentados separadamente, se necessário.

**Divulgação de conflito de interesses**

Os autores devem divulgar todas interesse financeiro/relevante que pode ter influenciado o estudo.

**Agradecimentos**

Reconhecimento de pessoas, fundos, etc deve ser breve.

**As tabelas e figuras**

As tabelas devem ser mantidas a um mínimo.

As tabelas devem ter um título descritivo curto.

A unidade de medida usada em uma tabela deve ser indicado.

As tabelas devem ser numeradas consecutivamente.

As tabelas devem ser organizadas em Microsoft Word ou uma planilha Excel.

Figuras / Gráficos devem ser preparadas em GIF, TIFF, JPEG ou PowerPoint.

Tabelas e Figuras devem ser devidamente citadas pelo manuscrito.

**Referências**

As referências devem ser listadas em ordem alfabética no final do artigo. DOIs, PubMedIDs e links para artigos referenciados deve ser declarado sempre que disponíveis.

Exemplos:

Baumert J, Kunter M, Blum W, Brunner M, Voss T, Jordan A, Klusmann U, Krauss S, Neubrand M, Tsai YM (2010). Teachers` conhecimento matemático, a ativação cognitiva em sala de aula, e o progresso do aluno. *Sou. Educ. Res. J.* 47 (1): 133-180.

<http://dx.doi.org/10.3102/0002831209345157>

Christopoulos DK, Tsionas EG (2004). "Finacial Desenvolvimento e Crescimento Econômico: Evidências do Painel Unidade de Raiz e Cointegração Testes de" *J. Dev.Econ.* pp.55-74

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jdeveco.2003.03.002>

Goren A, Laufer J, Yativ N, Kuint J, Ben Ackon M, Rubinshtein M, Paret G, Augarten A (2001). Transiluminação da palma por punção venosa em recém-nascidos. *Pediátrico. Emerg. Cuidados* 17: 130-131.

<http://dx.doi.org/10.1097/00006565-200104000-00013>

PMid: 11334094

Mishra A, Mishra SC (2001). endoscopia nasal diagnóstico de baixo custo com otoscópio modificado. *J. Laryngol. Otol.* 115: 648-649.

<http://dx.doi.org/10.1258/0022215011908739>

PMid: 11535147

### **Certificado de Aceitação**

Aos autores é emitido um certificado de aceitação de manuscritos que foram revisados e aceitos para publicação por um editor.

### **O pagamento da taxa de manutenção manuscrito**

Uma vez que um manuscrito foi aceito, o autor correspondente será contatado para fazer o pagamento necessário da taxa de manutenção manuscrito. Por favor, note que, no sistema de gestão de manuscrito, a opção de pagamento só é habilitado para manuscritos que foram aceitos para publicação.

### **Provas**

Antes da publicação, uma prova é enviada ao autor correspondente. Autores são aconselhados a ler a prova e correção tipográfica menor ou erros gramaticais. Os autores deverão devolver imediatamente provas para o escritório editorial.

### **Publicação**

Uma vez que as provas são recebidas na redação, os manuscritos são normalmente incluídos na próxima edição da revista. O artigo será, posteriormente, publicado no site da revista.

### **Notificação publicação**

Após o artigo está disponibilizado no site da revista, um aviso de publicação é enviada ao autor correspondente com links para a questão e artigo.