



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

PEDRO HIGOR ROCHA MARIANO

**AÇÃO ANTIBACTERIANA E ANTIFÚNGICA DE NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA
FUNCIONALIZADA CONTENDO BROMETO DE CETILTRIMETILAMÔNIO
(CTAB)**

FORTALEZA

2024

PEDRO HIGOR ROCHA MARIANO

AÇÃO ANTIBACTERIANA E ANTIFÚNGICA DE NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA
FUNCIONALIZADA CONTENDO BROMETO DE CETILTRIMETILAMÔNIO (CTAB)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química Analítica.

Orientadora: Profa. Dra. Elisane Longhinotti
Coorientadores: Prof. Dr. Eduardo Henrique Silva de Sousa e Dr. Pedro Martins da Silva Filho

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- M286a Mariano, Pedro Higor Rocha.
Ação antibacteriana e antifúngica de nanopartículas de sílica funcionalizada contendo brometo de cetiltrimetilamônio (ctab) / Pedro Higor Rocha Mariano. – 2024.
68 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2024.
Orientação: Profa. Dra. Elisane Longhinotti.
Coorientação: Prof. Dr. Eduardo Henrique Silva de Sousa e Pedro Martins da Silva Filho.
1. Nanopartículas. 2. Sílica funcionalizada. 3. Brometo de cetiltrimetilamônio. 4. Staphylococcus. 5. Candida. I. Título.

CDD 540

PEDRO HIGOR ROCHA MARIANO

AÇÃO ANTIBACTERIANA E ANTIFÚNGICA DE NANOPARTÍCULAS DE SÍLICA
FUNCIONALIZADA CONTENDO BROMETO DE CETILTRIMETILAMÔNIO (CTAB)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química Analítica.

Aprovada em 16 de fevereiro de 2024

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Elisane Longhinotti (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Said Gonçalves da Cruz Fonseca
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Mayron Alves de Vasconcelos
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

A Deus

A minha família

A Isabelle

Aos meus Gatos Sara e Ravena

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por tudo, desafios e dores, as quais possibilitaram ser quem sou hoje.

Agradeço aos meu pais, Lourdes e Edmilson, que pavimentaram a estrada da minha vida. Os maiores exemplos de perseverança que conheço.

Sou imensamente grato a Isabelle Mary por todo o apoio especialmente nas conversas madrugadas adentro sobre ciência e pesquisa.

Agradeço à Sara e Ravena, meus dois gatos, por existirem e me confortarem nos momentos mais difíceis.

Agradeço ao João Cardoso, meu terapeuta, que me acompanhou nesse último ano facilitando meu crescimento pessoal e profissional.

Aos meus amigos e colegas do PPGBioq por tantos momentos de descontração ao longo do mestrado.

Agradeço à prof. dra. Elisane Longhinotti por ter me acolhido como seu aluno de mestrado e pela compreensão nos momentos delicados no mestrado.

Aos meus coorientadores dr. Pedro Martins e prof. dr. Eduardo Sousa por todo o apoio intelectual na minha formação como pesquisador bem como na elaboração deste trabalho.

Agradeço aos colegas de laboratório pela parceria e momentos de descontração, que tornaram o mestrado mais fácil de lidar.

Aos laboratórios LIBS coordenado pelo prof Edson Teixeira., Laboratório de Genética Molecular coordenado pelo prof. Thales Granjeiro e a Central Analítica pela disponibilidade e suporte.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 pelo fomento a minha bolsa de estudos e financiamento da pesquisa na qual seria impossível concluir o mestrado.

A Universidade Federal do Ceará pelos 13 anos de histórias e emoções vividos nos Campi Pici e Benfica.

“O Jurídico não substitui o simbólico”

Reitor Custódio Almeida

RESUMO

O desenvolvimento dos nanomateriais possibilitou aprimorar a solução de problemas em diversas áreas. Na medicina o uso de nanocarreadores de fármacos contribuiu para o desenvolvimento de novas formas de tratamento de doenças, tais como câncer e infecções fúngicas e bacterianas, utilizando menores concentrações do fármaco e assim reduzindo os efeitos colaterais do mesmo. Nanopartículas de sílica são esferóides de escala nanométrica, contendo siloxano, nas quais podem ter sua superfície modificada para o transporte de diferentes fármacos. O surgimento de novas cepas bacterianas e fúngicas resistentes a tratamentos considerados padrões exige que novos agentes antimicrobianos sejam desenvolvidos. Neste trabalho foi avaliada a atividade antibacteriana e antifúngica do brometo de cetiltrimetilamônio em nanopartículas de sílica funcionalizadas com grupamento amina (MPSi-CTAB). A síntese do material é uma modificação do método de Stöber, onde o tetraetoxisilano (TEOS) e o 3-aminopropiltriétoxissilano (APTES) foram utilizados como fonte de silício e o CTAB como modelador da estrutura do nanomaterial. Após a síntese foram realizadas extrações (uma parcial e uma extra) do CTAB, utilizando uma solução HCl/Etanol 1%. O material foi caracterizado por microscopia eletrônica de varredura e de transmissão (MEV e MET respectivamente), por espectroscopia de infravermelho transformada de Fourier (FTIR), ressonância magnética nuclear de ^{13}C (RMN ^{13}C), termogravimetria (TG) para a estimar a quantidade de CTAB (CTAB, 9,4% m/m) e potencial zeta (MPSi: +13 mV e MPSi-CTAB: +41 mV). Os ensaios de atividade antibacteriana e antifúngica foram conduzidos em placas de 96 poços, diluindo em série MPSi, MPSi-CTAB e os antibióticos, nos ensaios antibacterianos, no caso utilizando resazurina. A fim de avaliar a toxicidade do material foi conduzido testes de ação hemolítica com MPSi-CTAB e citotóxico com fibroblastos murinos contra MPSi e MPSi-CTAB, ambos diluídos em série. Os resultados mostram que MPSi-CTAB exibiu atividade antimicrobiana contra a cepa resistente à metilina de *Staphylococcus aureus* ATCC 700698 com CIM e CBM (concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima, respectivamente) de $0,625 \text{ mg mL}^{-1}$ e $1,25 \text{ mg mL}^{-1}$, respectivamente, A combinação de MPSi-CTAB com ampicilina ou tetraciclina reduziu os valores de CIM em 32 e 16 vezes respectivamente, além de inibir a formação de biofilme para as quatro cepas estudadas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 e cepas resistentes a metilina, *Staphylococcus aureus* ATCC 700698 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984). O material desenvolvido também exibiu atividade antifúngica contra cepas de

Candida com valores de CIM variando de 0,0625 a 0,5 mg mL⁻¹. MPSi-CTAB apresentou baixa citotoxicidade em fibroblastos murinos, sendo que mais de 80% das células permaneceram viáveis com 0,31 mg mL⁻¹ do material. Por fim, uma formulação em gel baseado em carbopol, trietanolamina e MPSi-CTAB ou MPSi foram preparadas e ensaios de inibição de crescimento em placa de Petri foram avaliadas. A ação antibacteriana e antifúngica foi comparada à ação de produtos comerciais (antifúngico baseado em cetoconazol e álcool em gel 70% m/m). Observou-se também que MPSi não apresentou ação antibacteriana, antifúngica, inibição da formação de biofilme bem como citotoxicidade significativa. Estes resultados mostram o potencial do material MPSi-CTAB para novas pesquisas, visando o desenvolvimento de tratamentos ou prevenção de infecções causadas por espécies de *Staphylococcus* resistentes à metilina e de *Candida*.

Palavras-chave: nanopartículas; sílica funcionalizada; Brometo de cetiltrimetilamônio; *Staphylococcus*; *Candida*.

ABSTRACT

The development of nanomaterials has enabled the improvement of problem-solving in various fields. In medicine, the use of drug nanocarriers has contributed to the development of new forms of disease treatment, such as cancer and fungal and bacterial infections, by employing lower drug concentrations, thereby reducing their side effects. Silica nanoparticles are nanoscale spheres containing siloxane, whose surface can be modified for transporting different drugs. The emergence of new bacterial and fungal strains resistant to standard treatments demands the development of new antimicrobial agents. In this study, the antibacterial and antifungal activity of cetyltrimethylammonium bromide in silica nanoparticles functionalized with amine groups (MPSi-CTAB) was evaluated. The material synthesis is a modification of the Stöber method, where tetraethoxysilane (TEOS) and 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES) were used as silicon sources and CTAB as a structure modulator of the nanomaterial. After synthesis, extractions (partial and full) of CTAB were performed using a 1% HCl/Ethanol solution. The material was characterized by scanning and transmission electron microscopy (SEM and TEM respectively), Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), ^{13}C nuclear magnetic resonance (NMR ^{13}C), thermogravimetry (TG) to estimate the amount of CTAB (CTAB, 9.4% w/w), and zeta potential (MPSi: +13 mV and MPSi-CTAB: +41 mV). Antibacterial and antifungal assays were conducted in 96-well plates, diluting MPSi, MPSi-CTAB, and antibiotics in antibacterial assays, using resazurin. To evaluate material toxicity, hemolytic action tests were conducted with MPSi-CTAB and cytotoxic tests with murine fibroblasts against MPSi and MPSi-CTAB, both serially diluted. The results showed that MPSi-CTAB exhibited antimicrobial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ATCC 700698 with MIC and MBC (minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration, respectively) of 0.625 mg mL^{-1} and 1.25 mg mL^{-1} , respectively. The combination of MPSi-CTAB with ampicillin or tetracycline reduced MIC values by 32 and 16 times, respectively, besides inhibiting biofilm formation for the four strains studied (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 and methicillin-resistant strains, *Staphylococcus aureus* ATCC 700698 and *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984). The developed material also exhibited antifungal activity against *Candida* strains with MIC values ranging from 0.0625 to 0.5 mg mL^{-1} . MPSi-CTAB showed low cytotoxicity in murine fibroblasts, with over 80% of cells remaining viable with 0.31 mg mL^{-1} of the material. Finally, a gel formulation based on carbopol, triethanolamine, and MPSi-

CTAB or MPSi was prepared, and growth inhibition assays in Petri dishes were evaluated. The antibacterial and antifungal action was compared to that of commercial products (ketoconazole-based antifungal and 70% w/w alcohol gel). It was also observed that MPSi showed no antibacterial, antifungal, biofilm formation inhibition, or significant cytotoxicity. These results demonstrate the potential of MPSi-CTAB material for further research aimed at developing treatments or prevention of infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus* species and *Candida*.

Keywords: nanoparticles; functionalized silica; Cetyltrimethylammonium bromide; *Staphylococcus*; *Candida*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Número de publicações envolvendo as palavras-chave: “nanoparticles” e “drug delivery”, realizado na SCOPUS em 25/01/2024.....	19
Figura 2 –	Efeito sobre a concentração sanguínea do fármaco após a administração convencional e a liberação controlada.....	20
Figura 3 –	Representação do mecanismo de formação de oligômeros de siloxano.....	21
Figura 4 –	Esquema de formação de nanopartículas porosas por surfactante para posterior carreamento de fármacos.....	22
Figura 5 –	Número de publicações envolvendo as palavras-chave: “sílica nanoparticles” e “drug delivery”, realizado na base de dados SCOPUS em 25/01/2024.....	23
Figura 6 –	Estágios de formação de biofilme.....	26
Figura 7 –	Representação das placas com as concentrações finais (diluição seriada 2 em relação CIM) para os ensaios combinados contra MRSA: a) <i>S. aureus</i> contra MPSi-CTAB + AMP; b) <i>S. epidermidis</i> contra MPSi-CTAB + AMP e c) <i>S. aureus</i> contra MPSi-CTAB+TETRA.....	35
Figura 8 –	Caracterização de MPSi-CTAB, imagens de a) MEV e b) e c) MET.....	39
Figura 9 –	Perfil de remoção do CTAB de MPSi monitorada por FTIR: a) CTAB (roxo), MPSi-antes da extração (Vermelho), MPSi-CTAB (azul) e MPSi (cinza), b) expansão do espectro para a região de 3100-2750 cm ⁻¹ e c) expansão do espectro para a região de 1700-1350 cm ⁻¹	40

- Figura 10 – CP/MAS RMN ^{13}C para MPSi-CTAB no estado sólido: a) MPSi-CTAB, exibindo sinais fortes e fracos e b) expansão dos sinais fracos associados ao CTAB..... 41
- Figura 11 – Curva termoanalíticas para MPSi-CTAB e MPSi na faixa de MPSi-CTAB e MPSi na faixa de 25-900°C, em uma taxa de aquecimento $10^\circ\text{C min}^{-1}$, utilizando ar sintético..... 42
- Figura 12 – Espectros de absorvância para diferentes concentrações finais de CTAB ($0,022 \text{ mg mL}^{-1}$ (— —), $0,044 \text{ mg mL}^{-1}$ (···), $0,066 \text{ mg mL}^{-1}$ (· - ·), $0,088 \text{ mg mL}^{-1}$ (- · -) e CBB (—), misturadas com $750 \mu\text{L}$ de CBB..... 44
- Figura 13 – Espectros de absorvância para diferentes nanopartículas de sílica sintetizadas de forma escalonada de 170 mg de material e $10 \mu\text{L}$ misturados com $750 \mu\text{L}$ de CBB: MPSi após 5 lavagens (— —), MPSi após duas lavagens (···), MPSi antes da extração do CTAB (· - ·) e CBB (—)..... 44
- Figura 14 – Teste de difusão em meio de cultura utilizando Gel-MPSi-CTAB contra cepas de *Candida*. As cepas utilizadas foram *C. krusei* ATCC 6258 (1), *C. tropicalis* ATCC 13803 (2), *C. parapsilosis* ATCC 22019 (3), *C. parapsilosis* ATCC 90018 (4) e *C. tropicalis* ATCC 750 (5). A doses (20 mg) foram distribuídas da seguinte forma: Gel-MPSi (quadrante superior esquerdo), Gel-MPSi-CTAB (quadrante superior direito) e a formulação em gel na ausência e MPSi e MPSi-CTAB (quadrantes inferiores direito e esquerdo, respectivamente)..... 46
- Figura 15 – Teste de difusão em meio de cultura utilizando Gel-MPSi-CTAB contra cepas de *Candida*. As cepas utilizadas foram *C. krusei* ATCC 6258 (1), *C. parapsilosis* ATCC 90018 (2), *C. parapsilosis* ATCC 22019 (3), *C. tropicalis* ATCC 13803 (4) e *C. tropicalis* ATCC 750 (5). A doses foram distribuídas da seguinte forma: água ultrapura estéril (A), creme antifúngico

	baseado em cetoconazol (dose de 15 mg) (B), álcool em gel 70% (m/m) (dose de 50 mg) (C) e Gel-MPSi-CTAB (dose de 25 mg) (D).....	47
Figura 16 –	Efeito de MPSi-CTAB e MPSi sobre a susceptibilidade de biofilmes de <i>S. aureus</i> e <i>S. epidermidis</i> por contagem de UFC.....	51
Figura 17 –	Teste de difusão em meio de cultura utilizando Gel-MPSi-CTAB contra cepas de Staphylococcus. As cepas utilizadas foram <i>S. aureus</i> ATCC 25923 (1), <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228 (2), <i>S. aureus</i> ATCC 700698 (3), <i>S. epidermidis</i> ATCC 35984 (4) e <i>C. tropicalis</i> ATCC 750 (5). A doses foram distribuídas da seguinte forma: água ultrapura estéril (A), creme antibacteriano baseado em mupirocina (doses de 32, 36 ± 4,57 mg) (B), álcool em gel 70% (m/m) (doses de 32, 36 ± 4,57 mg) (C) e Gel-MPSi-CTAB (doses de 41,87 ± 4,07 mg) (D).....	53
Figura 18 –	Estudo de hemólise utilizando MPSi-CTAB sobre glóbulos vermelhos (O ⁺). A concentração de MPSi-CTAB variou de 5 a 0,078 mg mL ⁻¹ e incubadas por 2 h. Os controles positivos e negativos foram 1% de SDS e 0,9% de NaCl, respectivamente.....	54
Figura 19 –	Viabilidade celular de fibroblastos murinos tratados com MPSi, MPSi-CTAB e CTAB: a) comparação entre concentrações iguais de MPSi e MPSi-CTAB e b) comparação entre concentrações de CTAB livre e encapsulado em MPSi-CTAB.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Valores de CIM e CFM para MPSi-CTAB contra cepas de <i>Candida</i> .	45
Tabela 2 –	Halos de inibição para cepas de <i>Candida</i> expostas a amostras de Gel-MPSi-CTAB (doses de 20 mg) contendo 0,5% (m/v) de MPSi-CTAB.....	46
Tabela 3 –	Halos de inibição (mm) de espécies de <i>Candida</i> expostas a Gel-MPSi-CTAB e a um creme antifúngico baseado em cetoconazol, para comparação. Os controles positivo e negativo foram respectivamente: um gel contendo 70% m/m de etanol (dose de 50 mg) e água (100 µL).....	47
Tabela 4 –	Medidas de CIM e CBM para MPSi-CTAB contra bactérias.....	48
Tabela 5 –	Valores de CIM para os antibióticos ampicilina (AMP) e tetraciclina (TETRA) e de MPSi-CTAB e efeito sobre a CIM das combinações AMP + MPSi-CTAB e TETRA + MPSi-CTAB.....	49
Tabela 6 –	Proporção entre os antibióticos e CTAB nos ensaios combinados.....	49
Tabela 7 –	Zonas de inibição (mm) de crescimento de cepas de <i>Staphylococcus</i> e expostas a amostras de Gel-MPSi-CTAB (doses de 41.87 ± 4.07 mg contendo 0.5% (m/v) do material) e de um creme comercial baseado em mupirocina. Álcool em gel 70% (m/m) e água foram utilizados como controles positivo e negativo, respectivamente.....	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMP	Ampicilina
APTES	3-aminopropiltriétoxisilano
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
CBB	<i>Coomassie Brilliant Blue G-250</i>
CTAB	Brometo de cetiltrimetilamônio
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CIM	Concentração inibitória mínima
CBM	Concentração bactericida mínima
CFM	Concentração fungicida mínima
FTIR	Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MET	Microscopia eletrônica de transmissão
MPSi	Nanopartícula de sílica mesoporosa
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina
RMN ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de carbono-13
SBF	Soro bovino fetal
TEOS	Tetraetoxisilano
TETRA	Tetraciclina
TG	Termogravimetria
TSA	Ágar tríptico de soja
TSB	Caldo tríptico de soja
UFC	Unidade formadora de colônia

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
1.1	Nanopartículas como carreadores em medicina	19
1.2	Materiais de sílica	21
1.3	Algumas bactérias e fungos impactantes na saúde humana	23
1.3.1	<i>Staphylococcus aureus e Staphylococcus epidermidis</i>	23
1.3.2	<i>Candida</i>	24
1.4	Resistência Antimicrobiana e Biofilmes	25
1.5	CTAB em nanopartículas e ação antimicrobiana	27
2	OBJETIVOS	29
2.1	Objetivo Geral	29
2.2	Objetivos Específicos	29
3	METODOLOGIA	30
3.1	Materiais	30
3.2	Síntese de MPSi-CTAB e MPSi	30
3.3	Caracterização de MPSi-CTAB e MPSi	31
3.3.1	<i>Identificação do CTAB via Colorimetria</i>	31
3.4	Produção da formulação Gel-MPSi-CTAB	32
3.5	Ensaio antifúngicos	33
3.5.1	<i>Teste de susceptibilidade antifúngica in vitro</i>	33
3.5.2	<i>Atividade antifúngica do Gel-MPSi-CTAB</i>	33
3.6	Ensaio antibacterianos	34
3.6.1	<i>Determinação de CIM e CBM</i>	34
3.6.2	<i>Avaliação do efeito de MPSi-CTAB associado a antibióticos</i>	34
3.6.3	<i>Ensaio de formação do biofilme</i>	36
3.6.7	<i>Atividade antibacteriana do Gel-MPSi-CTAB</i>	36

3.8	Ensaio da atividade hemolítica para MPSi-CTAB	37
3.9.1	<i>Linhagens celulares e condições de cultura</i>	37
3.9.2	<i>Viabilidade celular</i>	38
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1	Caracterização de MPSi-CTAB	39
4.1.2	<i>Identificação de CTAB via Colorimetria</i>	43
4.2	Testes antifúngicos <i>in vitro</i>	45
4.3	Atividade antibacteriana	47
4.3.1	<i>Efeito do MPSi-CTAB contra bactérias</i>	48
4.3.2	<i>Efeito de MPSi-CTAB associado a antibiótico padrão</i>	48
4.3.3	<i>Ensaio de inibição de formação de biofilme</i>	50
4.3.4	<i>Atividade antibacteriana do Gel-MPSi-CTAB</i>	51
4.5	Ensaio de atividade hemolítica de MPSi-CTAB	53
4.6	Citotoxicidade.....	54
5	CONCLUSÃO	56
	REFERÊNCIAS	57

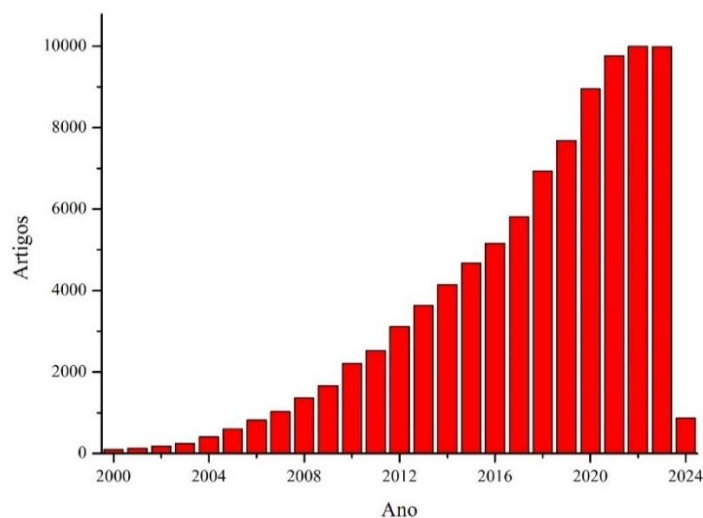
1 INTRODUÇÃO

1.1 Nanopartículas como carreadores em medicina

O desenvolvimento dos nanomateriais abriram uma nova fronteira nas ciências integrando conhecimentos da física, química e biologia para a solução de problemas em diferentes áreas (Mazari et al., 2021). Na área da saúde esses materiais possibilitaram uma grande evolução no desenvolvimento de tratamentos para diversas doenças, incluindo câncer (Damodharan, 2021). Na agronomia as aplicações envolvem melhora do crescimento e proteção das plantas para melhorar a produção (Khot et al., 2012) ao passo que podem ser aplicados também na remoção de poluentes orgânicos como pesticidas (Lu e Astruc, 2020); na engenharia as características mecânicas peculiares desses materiais possibilitaram o desenvolvimento de baterias mais eficientes e concreto mais resistente às intempéries ambientais, por exemplo (Gajanan e Tijare, 2018; Armand e Tarascon, 2008).

Na medicina diversos nanomateriais são estudados, entre eles estão nanopartículas metálicas, pontos quânticos, nanotubos de carbono e nanocompósitos de argila e zeólitas que podem ser utilizados na entrega de fármacos, como agentes antimicrobianos, construção de nanomáquinas e geração de nanoimagem (Damodharan, 2021). Nas duas últimas décadas mais de 30 mil publicações foram feitas sobre o desenvolvimento de materiais para a entrega de fármacos baseados em nanopartículas, evidenciando o interesse acadêmico neste tipo de material (Figura 1).

Figura 1 — Número de publicações envolvendo as palavras-chave: “nanoparticles” e “drug delivery”, realizado na SCOPUS em 25/01/2024.

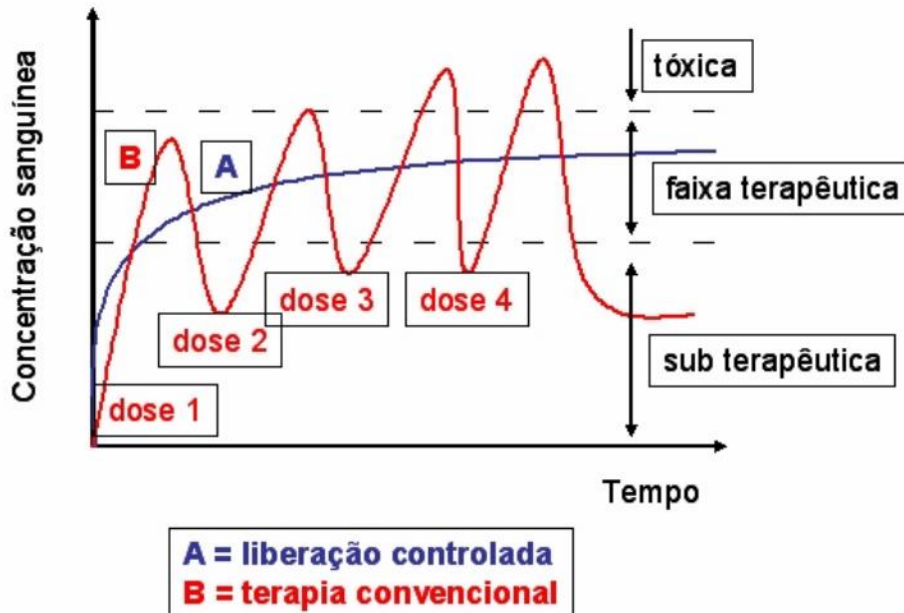


Fonte: O autor

O surgimento de novas enfermidades torna emergente o desenvolvimento de novas formas de tratamento. Com os avanços das técnicas de síntese de caracterização é possível modular as características físico-químicas das nanopartículas como tamanho, forma, carga superficial e funcionalização, que promovem a retenção e liberação controlada de diversas moléculas (Kassem et al., 2024). Além disso, o uso de nanopartículas como carreadores de fármacos pode permitir a redução dos efeitos colaterais e a quantidade de fármaco administrada (da Silva Filho et al., 2019).

Na Figura 2 observa-se a relação entre a concentração de um fármaco pelo tempo de administração, cuja entrega controlada mantém a concentração em níveis seguros, enquanto a aplicação convencional de certas doses, em momentos distintos, o fármaco pode ser eventualmente danoso ou não apresentar o efeito desejado (Aouda e Mattoso, 2009). Entre os diversos tipos de nanopartículas destacam-se os materiais baseados em sílica devido a sua estabilidade térmica, capacidade de funcionalização e modificação de superfície, bem como biocompatibilidade (Metin et al., 2011; Li et al., 2021).

Figura 2 — Efeito sobre a concentração sanguínea do fármaco após a administração convencional e a liberação controlada.



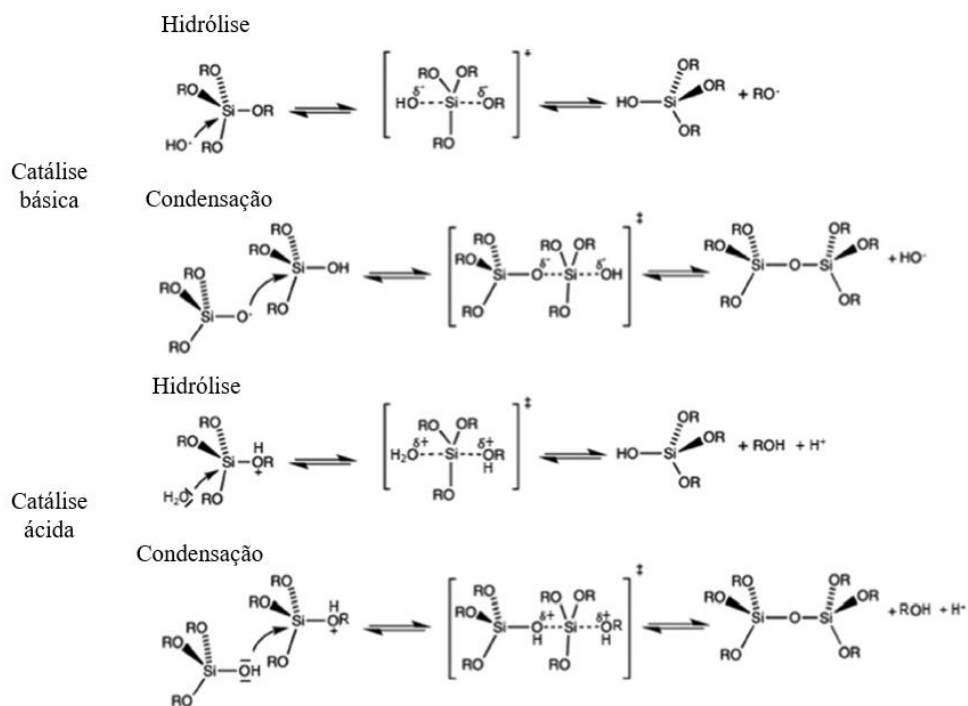
Fonte: AOUADA, F. A.; MATTOSO, 2009

1.2 Materiais de sílica

As nanopartículas de sílica são materiais de formato esférico e que possuem seus átomos de silício ligados ao oxigênio, formando uma estrutura base de siloxano (O—Si—O), sendo mais comumente empregado o processo sol-gel de síntese, que compreende a formação de uma suspensão coloidal (Singh et al., 2014). Um outro processo também utilizado no preparo de nanopartículas de sílica tem sido o método de microemulsão, quando se utilizam micelas formadas por óleos e surfactantes como modelador e reator desses materiais (Singh et al., 2014).

O mecanismo de formação desse material compreende a hidrólise da fonte de silício, quer seja o precursor um composto inorgânico (silicatos) ou orgânico (alcóxidos de silício), gerando diferentes graus de condensação (Vallet-Regí et al., 2022) (Figura 3). A hidrólise realizada em meio ácido forma uma suspensão com menor grau de condensação, pois ocorre uma taxa menor de nucleação, formando oligômeros lineares, enquanto a síntese em meio básico forma oligômeros com ligação cruzada aumentando a velocidade de nucleação e consequentemente o grau de condensação. Devido a isso a hidrólise ácida é mais adequada quando se deseja obter formas mais variadas como estruturas em tubo, esferas ocas ou partículas esféricas com nanocanais (Lin e Mou, 2002).

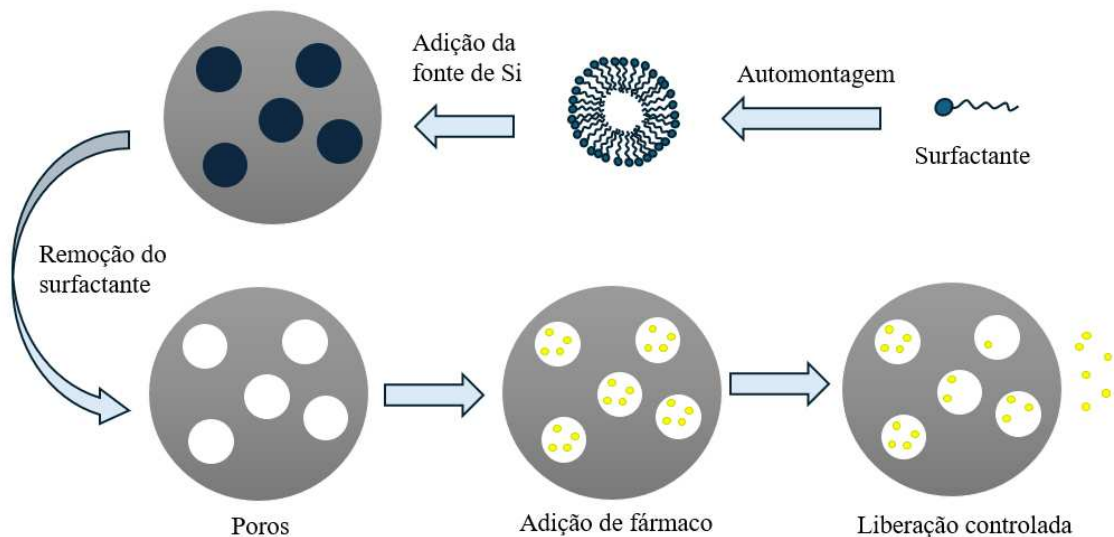
Figura 3 — Representação do mecanismo de formação de oligômeros de siloxano.



Fonte: adaptado de Vallet-Regí et al., 2022.

No processo sol-gel de síntese de nanopartículas de sílica destaca-se o método de Stöber. Descrito em 1968 por Stöber, esse método emprega um alcóxido de silício, etanol para dispersar a suspensão reduzindo a alta taxa de nucleação promovida pela catálise básica com amônia, obtendo-se esferas de sílica amorfa na faixa de 50 a 200 nm (Stöber, Fink e Bohn, 1968). Posteriormente foi observado que a modificação das condições experimentais alterava as características do material, entre elas pode-se destacar o uso de surfactantes como brometo de cetiltrimetilamônio e cloreto de n-hexadecilpiridínio como modeladores (Wu e Lin., 2013) (Figura 4).

Figura 4 — Esquema de formação de nanopartículas porosas por surfactante para posterior carregamento de fármacos.

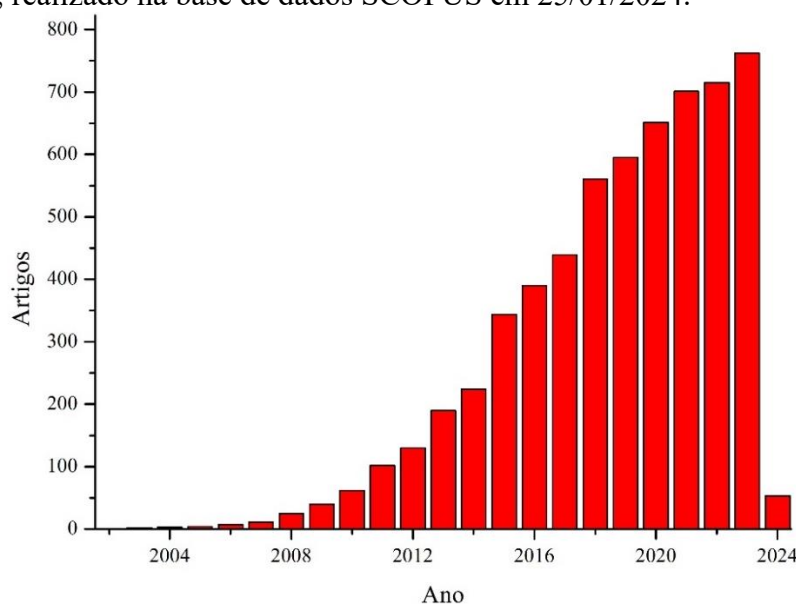


Fonte: O autor.

Os surfactantes, baseados em compostos quaternários de amônio, por apresentarem uma cadeia apolar seguido de uma cabeça polar formam micelas estáveis em solução, que podem apresentar diferentes tamanhos e formas dependendo do comprimento e da concentração do surfactante (Huo et al., 1996). Após a remoção do surfactante das nanopartículas, formam-se poros de dimensões uniformes. Assim, uma das principais características modificáveis é o tamanho dos poros, nos quais subdividem os materiais porosos como microporosos (menores que 2,0 nm), mesoporosos (entre 2,0 e 50 nm) e macroporosos (maiores que 50 nm) (El-Safty et al., 2005).

A capacidade de modificações na superfície e dos poros desses materiais tornou possível realizar diversos estudos de retenção e liberação de moléculas de interesse terapêutico destacando-se: RNA com células-alvo específicas (He et al, 2024); óxido nítrico (NO) para o tratamento de câncer (Stevens et al., 2010); funcionalização da superfície com peptídeos para diagnóstico por imagem (Hu, Xiao e Zhang, 2016); funcionalização com biopolímeros para a entrega de doxorubicina (Enyu et al., 2024); carreamento de Ca para melhora do processo de cicatrização (Haseef et al., 2024); transporte de insulina (Hu et al., 2016) e combinação com antibióticos para ação antimicrobiana em cimento ósseo (Yang et al., 2023). Tendo isso em vista, as nanopartículas de sílica ganharam destaque, devido às diversas possibilidades de aplicação. Assim, o interesse acadêmico por estudos envolvendo esses materiais aumenta continuamente, resultando em centenas de publicações nos últimos anos (Figura 5).

Figura 5 — Número de publicações envolvendo as palavras-chave: “sílica nanoparticles” e “drug delivery”, realizado na base de dados SCOPUS em 25/01/2024.



Fonte: O autor.

1.3 Algumas bactérias e fungos impactantes na saúde humana

1.3.1 *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus aureus e *Staphylococcus epidermidis* são os membros mais importantes desse gênero de bactérias devido a sua importância clínica, sendo distribuídos pelo globo. A elevada densidade demográfica (observada na Ásia) e a falta de estudos amplos dificultam a

obtenção de dados epidemiológicos seguros sobre isolados clínicos (observado na África) somados a alta capacidade de *S. aureus* de adquirir resistência a novos antibióticos torna emergente novos estudos sobre antimicrobianos capazes de combater esses patógenos (LEE et al., 2018).

S. aureus e *S. epidermidis* apresentam as seguintes características gerais: formato cocóide; não apresenta estruturas que proporcionem mobilidade e são coagulase-positiva e coagulase-negativa, respectivamente (NAMVAR et al, 2014). Fazem parte do microbioma do corpo humano, colonizando principalmente a mucosa o sistema respiratório superior, períneo e na pele, no caso da *S. epidermidis* (OTTO, 2012). As principais formas de disseminação da infecção são pelo contato de microferimentos abertos com áreas contaminadas, no entanto a presença de adesinas (componentes presentes nas membranas celulares externas) que promovem a adesão mesmo em superfícies metálicas ou polímeros plásticos como instrumentos de uso hospitalar (LEE et al, 2018).

S. aureus é considerado responsável por 76% das infecções de pele (Mcdougal et al., 2006), no qual provoca cerca de 5 milhões de visitas hospitalares por ano (Hersh et al., 2008). Esta bactéria está associada a dermatite atópica (DA) (Iwamoto et al., 2019), que é detectada em aproximadamente 70% dos pacientes com lesões de pele e 39% dos pacientes com DA sem apresentar lesões (Feltz et al., 2016), contudo é raramente detectada em pele saudável (Hendriks et al., 2021). Por outro lado, *Staphylococcus epidermidis* foi considerado por muito tempo como um microrganismo inofensivo, porém esta bactéria tem sido um dos principais agentes patogênicos associados às infecções nosocomiais em pacientes imunocomprometidos, imunossuprimidos e hospitalizados em estado crítico (McCann, Gilmore e Gorman, 2008), causando infecções oportunistas (Nguyen et al., 2017).

1.3.2 *Candida*

Existem aproximadamente 150 espécies capazes de infectar humanos, sendo a *C. albicans* o principal representante desse gênero. No cenário atual, infecções por *Candida* não-albicans (*Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida dubliniensis*) tornaram-se frequentes, podendo ser considerados como patógenos emergentes em humanos (Deorukhkar. Saini e Mathew, 2014; Ruhnke, 2006).

Assim como algumas bactérias, espécies de *Candida* habitam a mucosa oral e vaginal sem provocar danos, porém infecções podem ser desenvolvidas caso o hospedeiro apresente alguma falha no sistema imunológico, tornando a *Candida* um patógeno oportunista

(TALAPKO et al, 2021). Lesões no sistema gastrointestinal podem agravar o quadro clínico, bem como uso de equipamentos intravenosos contaminados, favorecendo infecções sistêmicas por *Candida* spp. nas quais é atribuída uma alta taxa de mortalidade (Henriques e Williams, 2020). Esta situação é preocupante, pois infecções por *C. krusei* provocam uma alta taxa de mortalidade (40 a 58%) e apresentam pouca resposta a terapias baseadas em fluconazol (Gómez-Gaviria e Mora-Monte, 2020).

Em 2022, a Organização Mundial de Saúde colocou *C. auris*, *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* na lista de alta prioridade (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022) devido à patogenicidade e à resistência aos tratamentos conhecidos. Atualmente são conhecidas apenas 4 classes de antifúngicos contra *Candida*: os azols (fluconazol, itraconazol, isavuconazol, posaconazol e voriconazol), polienos (amprotericina B e formulações lipídicas), equinocandinas (anidulafungina, caspofungina e micafungina) e pirimidina (ARENDRUP e PATTERSON, 2017), o que torna emergente o desenvolvimento de novos antifúngicos.

Diferentemente de *S. epidermidis* e *S. aureus*, a *C. albicans* não possui a capacidade de induzir resistência horizontal (liberação de genes que são posteriormente assimilados por outras células), porém o uso prolongado de antifúngicos e longos períodos de internação têm sido apontado como a principal forma de desenvolvimento de resistência antimicrobiana por *Candida* spp (ARENDRUP e PATTERSON, 2017). Além disso, *C. auris* foi identificada como um fungo resistente a várias classes de antibióticos (JEFFERY-SMITH et al., 2018).

1.4 Resistência Antimicrobiana e Biofilmes

A resistência antimicrobiana é uma problemática de interesse global, provocando prejuízos socioeconômicos todos os anos. Apenas em 2019, 1,27 milhões de mortes foram atribuídas e 4,95 milhões houve contribuição de patógenos resistentes (Murray et al., 2022). A aquisição de resistência é um processo natural quando o microrganismo é exposto a quantidades não letais de moléculas potencialmente danosas, porém esse processo é acelerado quando o uso de antibióticos é feito de forma inadequada (Larsson e Flach, 2022).

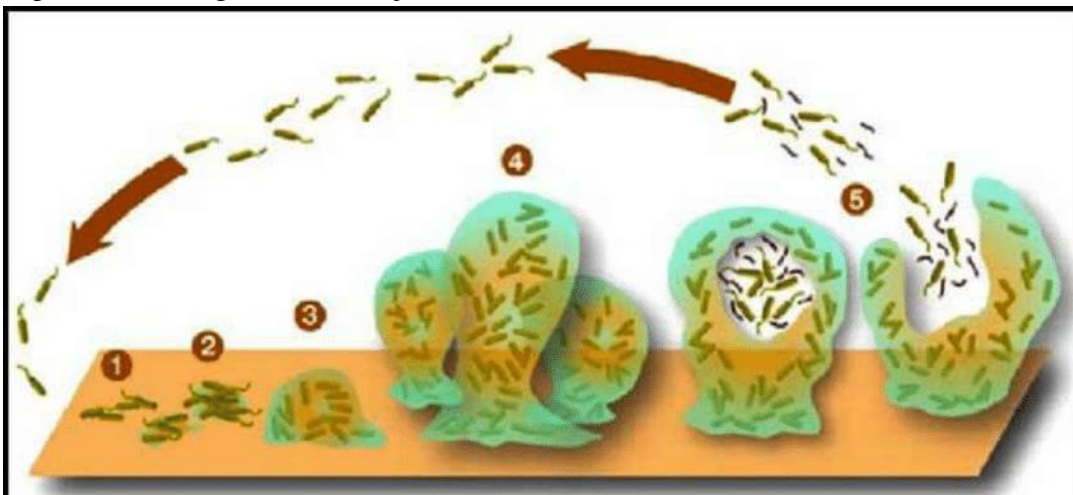
Alguns mecanismos de resistência são conhecidos, sendo os mais importantes a ativação das bombas de efluxo, alteração dos sítios ativos de interação e produção de enzimas capazes de neutralizar moléculas nocivas à célula e formação de biofilme (KHAMENEH et al, 2016). Esses mecanismos são regulados pela expressão de genes nos quais conferem resistência e estão relacionados com a virulência do patógeno, por exemplo a *C. krusei* é classificada como um fungo resistente a fluconazol e cepas de *S. aureus* resistente à metilina (Samaranayake e

Samaranayake,; Bal et al., 2017). A virulência de um microorganismo é a capacidade causar dano ao hospedeiro, sendo potencializada pela presença de mecanismos de adesão a superfícies e proteção da colônia (Cavalheiro e Teixeira, 2018).

Os biofilmes são agregados de células envolvidas numa matriz extracelular composta por polissacarídeos, proteínas e lipídios e até DNA extracelular, formando uma barreira física e química, impedindo o contato direto e neutralizando moléculas potencialmente nocivas (Kostakioti, Hadjifrangiskou, Hultgren, 2013). Além disso, a estrutura complexa dos biofilmes confere resistência mecânica ao aglomerado e permite a comunicação intercelular por quorum sensing (que é a expressão de genes em resposta a interação com outras células, permitindo a passagem de moléculas sinalizadoras e nutrientes (MILLER e BASSLER, 2011). Apesar de ser um aspecto importante da virulência de patógenos produtores de biofilme, como *Staphylococcus* e *Candida*, a sua formação depende das condições de desenvolvimento da colônia, que ocorre em alguns estágios (Kostakioti, Hadjifrangiskou, Hultgren., 2013) (Figura 6):

1. No primeiro momento, as células em estágio planctônico fixam-se em uma superfície (tecido vivo ou não) de forma fraca por meio de interações de Van der Waals pela produção de adesinas;
2. Crescimento da colônia e produção da matriz extracelular para proteção e favorecimento de interações mais forte com a superfície;
3. No terceiro estágio o biofilme começa a desenvolver uma estrutura mais complexa;
4. Amadurecimento do biofilme e aprimoramento da estrutura;
5. Desprendimento de parte da colônia para fixar-se em outras superfícies

Figura 6 — Estágios de formação de biofilme.



Fonte: SANDLE, 2013 (© Creative Commons Library)

Apesar de colonizarem o corpo humano, *S. aureus*, *S. epidermidis* e *Candida* spp.. Esses microrganismos são considerados patógenos oportunistas especialmente para pacientes que receberam tratamento prolongado com antibióticos, agravando infecções superficiais (candidíase vulvovaginal e abscessos formados por cepas de *Staphylococcus*) para infecções sistêmicas graves (bacteremia e candidemia) por meio de procedimentos cirúrgicos, levando a óbito grande parte dos pacientes (Eggimann, Garbino e Pittet, 2003; Kotey et al., 2021; Bal et al., 2017). A previsão para 2050 pela OMS de mortes de 700 mil pessoas por ano no mundo patógenos resistentes a antimicrobiano e gere um custo acumulado de 8 trilhões de euros (DOI: 10.11576/seejph-4312), evidenciando preocupação a nível mundial quanto a desenvolver novas formas de tratamento.

1.5 CTAB em nanopartículas e ação antimicrobiana

A recente situação pandêmica trouxe urgência para o desenvolvimento de novas terapias, inclusive para tratamentos contra agentes patogênicos novos ou negligenciados. O brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) é um agente germicida, frequentemente utilizado em desinfecção e sanitização. Este composto é considerado seguro e de baixo custo para esterilização de ambientes (Denyer e Hugo, 1977; Naves et al., 2013). Além disso, o CTAB é um dos principais componentes utilizados na extração de ácidos nucleicos de bactérias, fungos (Bellamy e Ralph, 1968), plantas (Minas et al., 2011), e patógenos que provocam pneumonia (Lapa et al., 2020), além de apresentar propriedades antivirais (Ly-Chatain et al., 2013; Sands, 1986). Este agente tem sido utilizado também para facilitar a lise celular pelo rompimento das estruturas de vírion (Sharma et al., 2020). Essas propriedades têm estimulado o estudo do CTAB como um agente antibacteriano em combinação com nanopartículas de prata (Chang et al., 2017; Jang et al., 2015), ciclodextrina (Zhou et al., 2017), membrana filtradoras (Cihanğlu e Altinkaya, 2020), nanotubos de carbono (Bai et al., 2011), ferrita (Chen et al., 2014) e zeólitas (Mad Salim et al., 2014).

Na síntese de materiais mesoporosos, o CTAB é empregado como um direcionador de poros que atua como um “template” especialmente em nanopartículas baseados em sílica (Lin e Mou, 2002; Tang, Li e Chen, 2012; Wu e Lin, 2013). No entanto, depois da formação do material o surfactante é removido por calcinação ou por extração líquida utilizando meio etanólico (Wu e Lin, 2013). Alguns estudos apontam que uma extração líquida simples não remove completamente o CTAB, o qual permanece nas estruturas mais internas dos poros,

exigindo tratamentos mais severos (Feng et al., 2014; Giménez, Ybarra e Soler-Illia, 2020; Kumar et al., 2006). Infelizmente, a extração líquida é a única alternativa quando compostos orgânicos são empregados para formar a partícula via processo de co-condensação (Gomes et al., 2014) ou agentes silantes como o aminopropiltriétoxissilano (APTES) (da Silva Filho et al., 2019). A possível interferência de traços de CTAB dentro das nanopartículas na atividade antimicrobiana de materiais baseados em sílica não foi completamente investigada.

Staphylococcus aureus resistente à meticilina (MRSA) é a principal causa de mortalidade relacionada a infecções, provocando 50% dos óbitos após 90 dias de bacteremia (Bal et al., 2017). Tendo isso em vista, é necessário investigar novos tratamentos e fármacos, incluindo o uso combinado de agentes antibacterianos. A sílica é um material autorizado pelo U.S *Food and Drug Administration* (*Food and Drug Administration* (FDA), 2017), sendo classificado como “geralmente reconhecido como seguro” (GRAS) para uso em cosméticos e aditivos alimentares (Roy, 2012). Para aplicações tópicas, nanopartículas têm mostrado baixa toxicidade, por exemplo doses de 2,000 mg kg⁻¹ aplicadas durante 90 dias em ratos não provocaram nem mesmo lesões na pele (Ryu et al., 2014). Estudos recentes, empregando cremes para tratamentos tópicos (Li et al., 2014; Lin et al., 2018; Sapino et al., 2015) evidenciaram a sílica como um veículo promissor. Por esta razão, neste trabalho, foi estudada a ação da sílica funcionalizada com APTES contendo traços de CTAB combinada ou não com antibióticos (tetraciclina e ampicilina) sobre cepas resistentes e sensíveis à meticilina de *Staphylococcus* (*S. aureus* e *S. epidermidis*) e também sobre os fungos *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial de nanopartículas de sílica mesoporosa amino funcionalizada contendo quantidade reduzida de brometo de cetiltrimetilamônio contra o crescimento *in vitro* de espécies de *Candida* e *Staphylococcus*.

2.2 Objetivos Específicos

- Preparar uma formulação em gel baseado em carbopol contendo nanopartículas de sílica amino funcionalizada com quantidade reduzida de CTAB;
- Comparar a ação fungicida e bactericida da formulação em gel contra cepas de *Candida* e *Staphylococcus* com produtos comerciais;
- Determinar a concentração inibitória mínima, concentração fungicida e bactericida mínimas de nanopartículas de sílica contendo CTAB contra cepas de *Candida* e *Staphylococcus*;
- Realizar ensaios de inibição de formação de biofilme de cepas de *Staphylococcus* contra nanopartículas de sílica contendo CTAB;
- Determinar a atividade hemolítica e viabilidade celular de fibroblastos das nanopartículas de sílica contendo CTAB.

3. METODOLOGIA

3.1 Materiais

3-aminopropiltriétoxissilano ($\geq 98\%$, APTES, Sigma-Aldrich), tetraétoxissilano ($\leq 98\%$, TEOS, Sigma-Aldrich), hidróxido de amônio (28%, NH_4OH , Synth), etanol (95%, Dynamics) e brometo de cetiltrimetilamônio ($\geq 99\%$, CTAB, VETEC). Coomassie Brilliant Blue G-250 (CBB, SIGMA), Ácido ortofosfórico (85%, Dinâmica). Os antibióticos utilizados nos ensaios antibacterianos foram: ampicilina sódica (AMP, Sigma), cloridrato de tetraciclina (TETRA, Sigma). Nos ensaios combinados foi utilizado a resazurina (Sigma) como indicador colorimétrico. Os meios de cultura utilizados foram caldo trípico de soja (TSB, KASVI), ágar trípico de soja (TSA, KASVI), *Sabouraud* (KASVI), ágar Mueller Hinton (MHA, KASVI), creme antifúngico baseado em cetoconazol (2% m/m, CIMED Indústria Farmacêutica, Pouso Alegre, MG, Brasil), creme antibacteriano baseado em mupirocina (2% m/m, Prati Indústria Farmacêutica, Toledo, PR, Brasil), álcool em gel (70% m/m de etanol). As cepas bacterianas foram divididas em dois grupos, cepas sensíveis: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 e cepas resistentes a meticilina: *Staphylococcus aureus* ATCC 700698 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984. Para os testes de atividade antifúngica foram utilizadas 7 cepas de *Candida*: *C. albicans* ATCC 10231, *C. albicans* ATCC 64124, *C. tropicalis* ATCC 750, *C. tropicalis* ATCC 13803, *C. parapsilosis* ATCC 90018, *C. parapsilosis* ATCC 22019 e *C. krusei* ATCC 6258.

3.2 Síntese de MPSi-CTAB e MPSi

A síntese do material MPSi-CTAB e MPSi foi realizada a partir de procedimento já descrito na literatura (da Silva Filho et al., 2019). Em um Erlenmeyer de borossilicato de 250 ml foram adicionados 100 mL de água destilada seguidos de 0,1 g de CTAB e 2 mL NH_4OH 28%. Antes de prosseguir com a síntese, foram preparadas 11 mL de duas soluções etanólicas: 1. TEOS (9,0%) e outra 2. APTES 9,0%. O reator foi então levado a um banho ultrassônico (42 kHz). As soluções de TEOS e APTES foram adicionadas alternadamente a cada 2 mL no reator de modo que o tempo total da síntese ocorreu em 15 min. Encerrado esse processo, o material foi centrifugado em tubos Falcon de 50 mL por 10 min a uma velocidade de 2.500 rpm. O sobrenadante foi removido e o precipitado gerado foi mantido no tubo de centrifugação e lavado, sequencialmente, duas vezes com etanol, uma vez com água destilada e uma vez com

acetona. Após o processo, o sólido resultante foi transferido para uma superfície plana de uma placa de vidro no qual foi seco por 24 h a 30 °C.

Para realizar a extração do CTAB foi adicionado 4,00 g do material sintetizado na etapa anterior a 100 mL de uma solução 1,0 % de HCl em etanol mantidos em um erlenmeyer de borossilicato de 250 mL. A mistura foi agitada com o auxílio de uma barra magnética à temperatura ambiente por 24 h. O material foi lavado duas vezes com etanol e então 100 mL de etanol foram adicionados, essa mistura foi mantida sob agitação magnética por 24 h, à temperatura ambiente. Posteriormente, essa amostra foi ainda lavada duas vezes com etanol e uma vez com acetona. O sólido foi seco a 30 °C por 24h, e denominado MPSi-CTAB.

A fim de remover traços de CTAB foi realizada uma nova extração do material MPSi-CTAB. Em um erlenmeyer de 100 mL foram adicionados 1,00 g de MPSi-CTAB a 50 ml de água. A mistura foi agitada à temperatura ambiente por 24h. Após esse processo o material foi ainda lavado duas vezes com etanol, uma vez com água e duas vezes com acetona. O sólido, seco a 30 °C por 24 h, foi denominado MPSi.

3.3. Caracterização de MPSi-CTAB e MPSi

A caracterização dos materiais sintetizados foi realizada por espectroscopia vibracional no infravermelho com transformada de Fourier (do inglês, FTIR), termogravimetria (TG), ressonância magnética nuclear de ^{13}C e potencial *Zeta*.

Os espectros de FTIR foram obtidos utilizando um espectrômetro FTLA 2000 (ABB) em um intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} . A termogravimetria foi conduzida em uma termobalança modelo SHIMADZU TGA-60 de 25 a 1000 °C a uma taxa de 10 °C min^{-1} em meio de ar sintético com fluxo de 50,0 mL min^{-1} . O espectro de ressonância magnética nuclear de polarização cruzada de estado sólido (^{13}C CP/MAS NMR) foi coletado em um espectrômetro Oxford AS400 NMR a 100 MHz com uma frequência de rotação de amostra de 3 kHz. A análise da Potencial Zeta foi obtida por meio de um Nano Zetasizer modelo Malvern ZS utilizando uma suspensão aquosa em uma concentração de 0,5 mg mL^{-1} em pH 7,0.

3.3.1 Identificação do CTAB via Colorimetria

A fim de identificar o CTAB presente na sílica foi empregado um método espectrofotométrico na região do visível, alternativo ao FTIR e TG. O CTAB é um interferente no método de Bradford de quantificação de proteínas aumentando a intensidade do sinal na

região do espectro em 590 nm (Aminian et al., 2013). Portanto, escolheu-se o corante Coomassie Brilliant Blue G-250 (CBB) como espécie absorvente para auxiliar na identificação do CTAB. A sílica pode ser dissolvida em pH superior a 13, e que precipita em valores menores de pH (Lin e Mou, 2002). Portanto, a abertura do material sintetizado para a liberação do CTAB foi realizada seguindo esses resultados. Foram adicionados 2,0 mL de NaOH 3 mol L⁻¹ a 170 mg do material de sílica em tubos de ensaio de borossilicato e levados para banho ultrassônico por 3 min e então aquecidos a 65 °C por 10 min em banho-maria. Nesta etapa, a suspensão, uma vez de aspecto branco e opaco, torna-se translúcida. Após o resfriamento para a temperatura ambiente foi adicionado 2,0 mL de HCl 3 mol L⁻¹ para precipitar os componentes dos materiais (TEOS e APTES) exceto o CTAB. A suspensão foi centrifugada por 10 min a 3500 rpm e o sobrenadante reservado para análise. Em seguida, uma alíquota de 10 µL do sobrenadante e 750 µL de uma solução de *Coomassie Brilliant Blue G-250* (CBB) (100 mg L⁻¹, preparada conforme descrito na literatura por Bradford, 1976) foram adicionadas a uma cubeta descartável de 1 cm de caminho ótico. As medidas de absorbância em 590 nm realizadas imediatamente após o preparo da mistura na cubeta.

3.4. Produção da formulação Gel-MPSi-CTAB

Para a produção do gel contendo MPSi-CTAB foi utilizado uma formulação hidrofílica baseada em carbopol 940. Em um béquer de vidro foi dissolvido 250 mg de carbopol 940 em 25 mL de trietanolamina 2% (pH = 8,3). Uma outra mistura foi preparada, dispersando 250 mg de MPSi-CTAB em 25 mL de trietanolamina (2%) em banho ultrassônico por 8 min. O conteúdo dos recipientes foi misturado e homogeneizado, formando um gel denominado Gel-MPSi-CTAB.

3.5 Ensaios antifúngicos

3.5.1 *Teste de susceptibilidade antifúngica in vitro*

Os ensaios de atividade antifúngica do material sintetizado foram realizados no Laboratório de Genética Molecular da Universidade Federal do Ceará. O método de microdiluição em caldo foi utilizado para determinar a susceptibilidade de cepas de *Candida* à MPSi-CTAB nos quais seguiram o modelo do *Clinical and Laboratory Standards Institute* – CLSI (M27-A3) com algumas modificações. O material MPSi-CTAB foi ressuscitado em água ultrapura e estéril (1 mg mL^{-1}), levado para banho ultrassônico (42 kHz). Uma diluição dupla seriada de MPSi-CTAB foi realizada em caldo de dextrose Sabouraud em placas de 96 poços em U. As cepas de *Candida* foram cultivadas em caldo de dextrose Sabouraud cuja concentração foi ajustada para 1×10^3 unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC mL^{-1}) então inoculadas nos poços e incubadas por 24 h a 35°C . O controle positivo e negativo foram os poços que continham apenas o meio de cultura e as células inoculadas na ausência de MPSi-CTAB, respectivamente. A concentração inibitória mínima (CIM) foi definida como a menor concentração em que não houve crescimento visível, sendo posteriormente confirmado pela leitura da absorbância em 620 nm. Destes poços, 5 μL foram coletados, inoculados em placas de Petri contendo agar Sabouraud e incubadas por 24 h a 35°C para determinar a concentração fungicida mínima (CFM) que eliminou cerca de 99,9 % dos inoculados. Todos os testes foram realizados em triplicata.

3.5.2 *Atividade antifúngica do Gel-MPSi-CTAB*

Os testes de difusão em ágar foram adaptados do documento CLSI M44-A2. A densidade celular das culturas de *Candida* foi ajustado para 0,5 na escala de McFarland e inoculada em placas de Petri contendo ágar Sabouraud, utilizando um bastão com algodão estéril saturado com a suspensão do inóculo e incubadas por 24 h a 35°C . As alíquotas de Gel-MPSi-CTAB, do creme contendo cetoconazol e álcool em gel (70% m/m) foram depositadas sobre as placas com o auxílio de uma seringa hipodérmica sem agulha. Os diâmetros das zonas de inibição foram medidos com o auxílio de um paquímetro e o resultado foi comparado com creme comercial baseado em cetoconazol.

3.6 Ensaios antibacterianos

3.6.1 Determinação de CIM e CBM

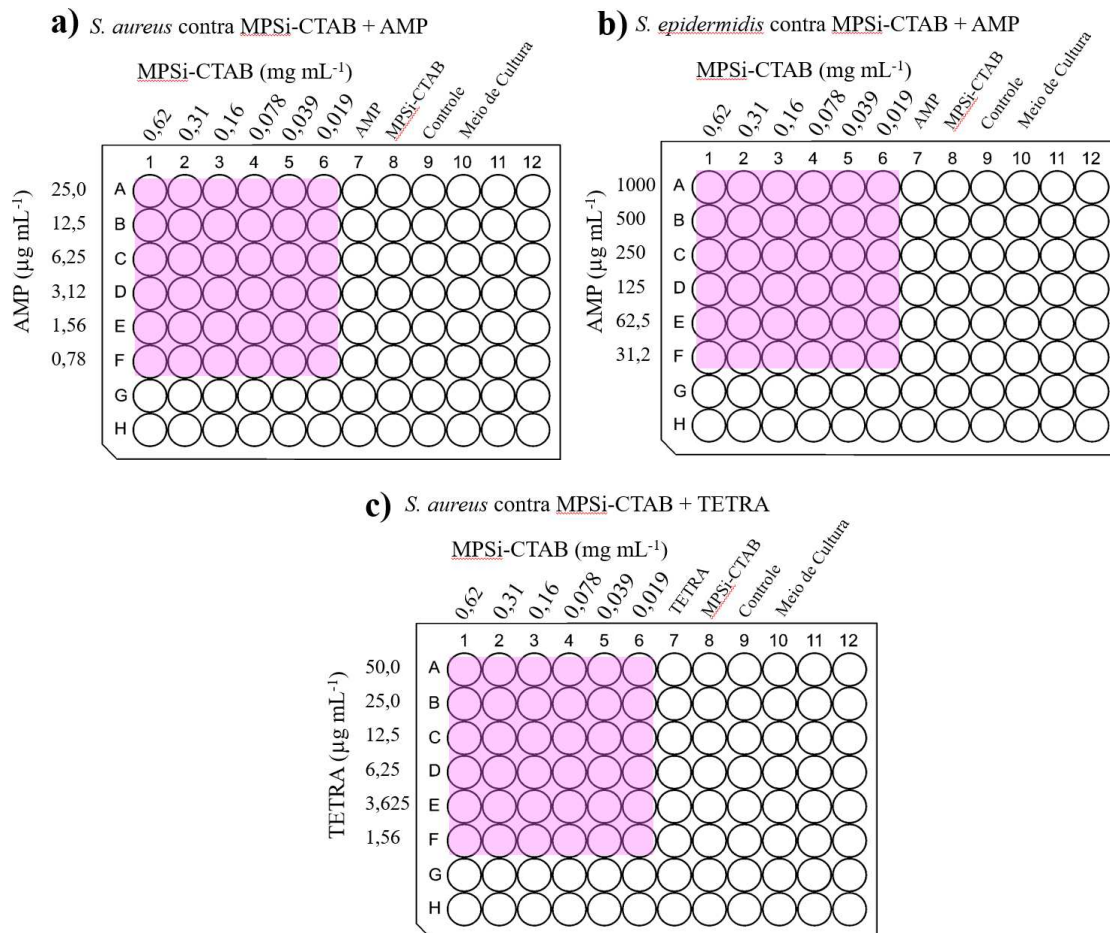
Os ensaios de atividade antibacteriana do material sintetizado foram realizados no Laboratório Integrado de Biomoléculas (LIBS) da Universidade Federal do Ceará. Os ensaios de microdiluição em caldo foram realizados em placas de 96 poços de poliestireno de fundo plano. Os poços da linha A foram preenchidos com 100 μL de uma solução de TSB contendo 10,00 mg mL^{-1} de MPSi ou MPSi-CTAB e então realizada uma diluição seriada de base 2, obtendo-se concentrações de 10,00 a $1,56 \times 10^{-1} \text{ mg mL}^{-1}$. Posteriormente 100 μL de uma suspensão bacteriana a $2,0 \times 10^6 \text{ UFC mL}^{-1}$ foi adicionada à placa, obtendo-se concentrações das nanopartículas variando de 5,00 a $7,81 \times 10^{-2} \text{ mg mL}^{-1}$. Por fim, a concentração final da suspensão bacteriana foi de $1,0 \times 10^6 \text{ UFC mL}^{-1}$ para um volume final de 200 μL . As placas foram incubadas por 24 h a 37 °C. Para a CIM da ampicilina (AMP) e da tetraciclina (TETRA) foram realizados ensaios separados onde foi realizada uma diluição seriada de base 2 cujas concentrações finais variaram de 0,04 a 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e de 0,39 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. A CIM foi considerada como a menor concentração na qual não foi observada turbidez. A CBM foi determinada coletando 10 μL , inoculando em uma placa de Petri contendo TSA e incubada por 24 h a 37 °C e considerada como a menor concentração em que não foi observada UFC.

3.6.2 Avaliação do efeito de MPSi-CTAB associado a antibióticos

A avaliação do potencial antibacteriano da combinação entre os antibióticos e MPSi-CTAB foi adaptada de metodologia já relatada da literatura (Lechartier, Hartkoorn e Cole, 2012; Rosato et al., 2007). Duas combinações foram preparadas (MPSi-CTAB + TETRA e MPSi-CTAB + AMP) e avaliadas contra cepas resistentes aos respectivos antibióticos (*Staphylococcus aureus* ATCC 700698 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984). Em microplacas de poliestireno de 96 poços de fundo plano (Figura 7), foram preparadas suspensões com 4 vezes a CIM. Adicionou-se 100 μL da dispersão das nanopartículas nos poços (A1 a A6) e diluídas seriadamente em base 2 (A a H), tendo um volume final de 50 μL . Em outra microplaca, 150 μL dos fármacos foram adicionadas nos poços (A a H), diluídas em série de base 2 (poços 1 a 6) e transferidas 50 μL para a microplaca contendo as nanopartículas. A suspensão bacteriana (100 μL) foi adicionada à mesma placa onde obteve-se uma concentração de $1 \times 10^6 \text{ UFC mL}^{-1}$ onde a concentração final dos fármacos foi de 1, 1/2, 1/4 of 1/8, 1/16 e

1/32 da CIM (Odds, 2003) (Figura 7). A incubação foi realizada a 37 °C por 24 h. Nas colunas 7 a 10 foram adicionados os fármacos na CIM, MPSi-CTAB na CIM, controle e meio de cultura estéril, respectivamente.

Figura 7 – Representação das placas com as concentrações finais (diluição seriada 2 em relação CIM) para os ensaios combinados contra MRSA: a) *S. aureus* contra MPSi-CTAB + AMP; b) *S. epidermidis* contra MPSi-CTAB + AMP e c) *S. aureus* contra MPSi-CTAB + TETRA.



Fonte: O autor.

Após o preparo, as placas foram analisadas pelo ensaio de resazurina e turbidimetria, para isso uma solução de resazurina a 0,25% foi preparada, utilizando uma solução tampão fosfato 0,1% para então ser esterilizada e filtrada (0,2 µm de poro). Em cada poço, 20 µL da solução de resazurina e incubados por 24 h a 37 °C. A redução da resazurina em resorufina pelo metabolismo foi medida em fluorômetro de placa em 530 nm e 590 nm. O efeito sinérgico foi avaliado de acordo com o Índice de Concentração Inibitória Fracionada (ICIF) de cada composto usado na associação como mostrado nas equações:

$$ICIF = CIF_{MPSi-CTAB} + CIF_{Antibiótico} \quad \text{Eq. 1}$$

$$CIF_{MPSi-CTAB} = \frac{CIM_{MPSi-CTAB} \text{ associado}}{CIM_{MPSi-CTAB} \text{ individual}} \quad \text{Eq. 1.1}$$

$$CIF_{MPSi-CTAB} = \frac{CIM_{Antibiótico} \text{ associado}}{CIM_{Antibiótico} \text{ individual}} \quad \text{Eq. 1.2}$$

Os valores de ICIF menores do que 0,5; entre 0,5 e menor ou igual a 4 e maior do que 4 indicam relação sinérgica, aditiva e antagônica, respectivamente.

3.6.3 Ensaios de formação do biofilme

A metodologia utilizada é similar a outros estudos que utilizam sílica (Carpenter et al., 2012; Hetrick et al., 2009;) para a contagem de células formadoras de biofilme (Andrade et al., 2020; Breed and Dotterrer, 1916). Depois da incubação e da formação do biofilme, o meio de cultura é removido e as microplacas foram lavadas com água destilada estéril para remover células pouco aderidas. Subsequentemente, cada poço é preenchido com 200 μL de água destilada estéril e a placa é levada para um banho ultrassônico por 8 min para separar as células embebidas no biofilme. Então uma diluição seriada foi realizada (de 10 a 10^6 vezes), 10 μL foram removidos das suspensões e inoculadas em TSA e incubadas por 24 h. A UFC foi determinada e os resultados expressos em $\text{Log}_{10} \text{UFC mL}^{-1}$.

3.6.7 Atividade antibacteriana do Gel-MPSi-CTAB

Primeiramente, 10 mL de TSB foi adicionado em placa de Petri, depois de solidificar 100 μL de uma suspensão *S. epidermidis* ATCC 35984 de concentração $1 \times 10^6 \text{ UFC mL}^{-1}$ e 200 μL de uma suspensão de contendo $2 \times 10^6 \text{ UFC mL}^{-1}$ de *S. aureus* ATCC 700698 (em outra placa) foram gotejadas no centro e espalhada. Gotas de Gel-MPSi-CTAB foram adicionadas à placa e incubadas por 24 h a 35 °C. As alíquotas foram depositadas sobre as placas com o auxílio de uma seringa hipodérmica sem agulha e a estimativa das doses aplicadas sobre a placa foi estimada pela média de dez medidas de massa. A inibição do crescimento microbiano foi avaliada a olho nu pela formação dos halos de inibição, em que as células não foram visualizadas. As medidas dos diâmetros foram realizadas com o auxílio de um

paquímetro e os resultados expressos em média e desvio padrão. A atividade antibacteriana do Gel-MPSi-CTAB foi comparada com um creme comercial antibacteriano baseado em mupirocina e com álcool em gel 70% (m/m) em etanol.

3.8 Ensaio da atividade hemolítica para MPSi-CTAB

Este ensaio foi realizado de acordo com a literatura (Andrade et al., 2020). Amostras de sangue humano (O⁺) recém coletadas foram misturadas com uma solução de heparina, sendo realizado no Laboratório Integrado de Biomoléculas (LIBS) da Universidade Federal do Ceará. A suspensão de células vermelhas foi lavada 3 vezes com NaCl 0,9% e redispersas. As análises foram conduzidas em placas de 96 poços em que foi realizada uma diluição seriada em base 2 de forma que a concentração de MPSi-CTAB variou de 5 a 0,078 mg mL⁻¹ e nestes adicionado os glóbulos vermelhos e por fim incubadas por 2 h. Para o controle positivo foi utilizado uma solução de 1% de dodecilsulfato de sódio (SDS) e como controle negativo duas soluções foram utilizadas, uma de NaCl 0,9% e outra de 4% DMSO. Então a suspensão foi centrifugada e o sobrenadante coletado e a densidade ótica foi determinada em 450 nm (OD450). O percentual de hemólise foi calculado de acordo com a Eq. 2:

$$\text{Hemólise (\%)} = \left(\frac{\text{OD}_{450} \text{ MPSiCT} - \text{OD}_{450} \text{ NaCl}}{\text{OD}_{450} \text{ SDS 1\%} - \text{OD}_{450} \text{ NaCl}} \right) \times 100 \quad \text{Eq. 2}$$

3.9 Ensaios de Citotoxicidade

3.9.1 Linhagens celulares e condições de cultura

As linhagens de células de fibroblastos mamários murinos (NCTC-CL929) do ATCC® (*American Type Culture Collection*, USA) foram adquiridas do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ). O material foi mantido a 37 °C em frascos T-25 contendo meio DMEM suplementado com soro bovino fetal 10% (SBF), L-glutamina 1%, penicilina 100 µg mL⁻¹ e estreptomicina 100 µg mL⁻¹ em atmosfera úmida contendo 5% de CO₂. O meio de cultura foi trocado a cada três dias ou quando 90% de confluência foi alcançada, então foram tratadas com uma solução de tripsina 0,025% e EDTA 0,1% e e usados para ensaios de viabilidade. Em todos os ensaios, as células foram usadas entre os números de passagem 3 e 10 (Nunes et al., 2020).

3.9.2 Viabilidade celular

Para determinar o efeito da MPSi-CTAB e CTAB, *CellTiter 96 MTT Aqueous Powder Reagent* (Promega) foi utilizado de acordo com as instruções do fabricante. Seguindo a tripsinização, as células ($1,0 \times 10^4$ por 200 μL por poço) foram semeadas em placas de 96 poços de fundo plano em DMEM contendo SBF e incubadas durante a noite. Depois disso, o sobrenadante foi removido e o meio de cultura foi substituído (DMEM) com diferentes concentrações de MPSi, MPSi-CTAB e CTAB (próxima à concentração do material encapsulado). Os ensaios de viabilidade celular, foram realizados utilizando sal MTS dentro de 24 h para todas as linhagens celulares, portanto todos os meios de cultura foram removidos e substituídos por DMEM sem suplementação, contendo o sal de tetrazólio de MTT. A densidade ótica foi medida em 570 nm em um leitor de microplaca (SpectraMax i3). Todos os ensaios foram realizados em triplicata para três experimentos independentes, onde a viabilidade celular foi calculada utilizando a Eq. 3

$$\text{Viabilidade Celular}(\%) = \left(\frac{(\text{Abs média OD } 570 \text{ nm (compostos)})}{(\text{Abs média OD } 570 \text{ nm (controlê)})} \right) \times 100 \quad \text{Eq. 3}$$

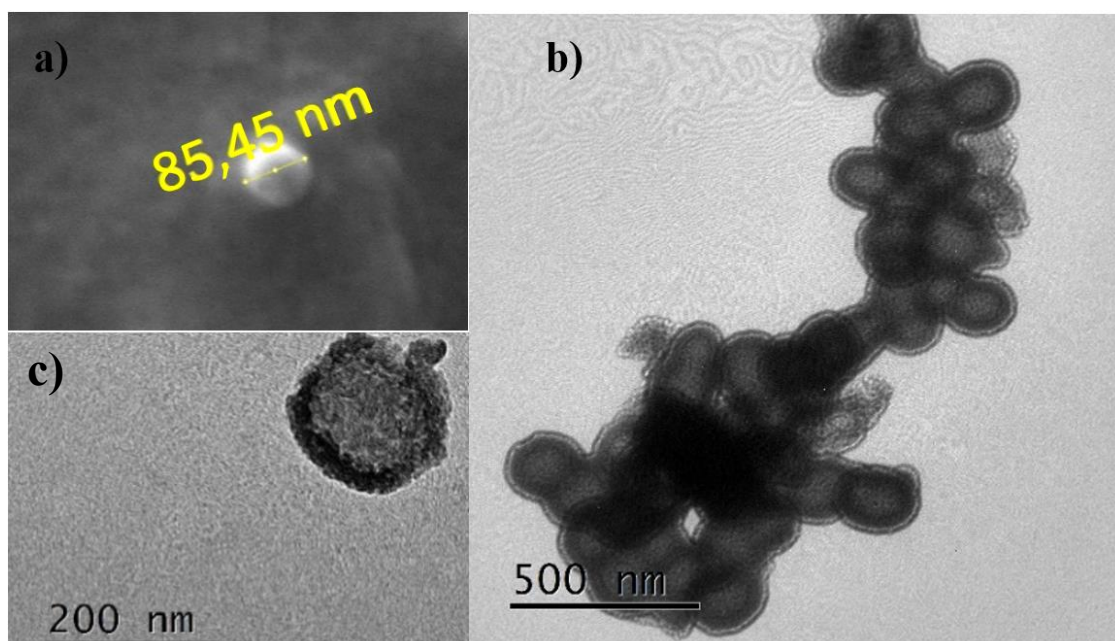
A diferença entre as médias das triplicatas foi verificada aplicando o teste One-way ANOVA com pós-teste Bonferroni, realizado com o auxílio do software GraphPad Prism versão 5.0 para Windows (San Diego, California, USA). Os ensaios de atividade viabilidade celular do material sintetizado foram realizados no Laboratório Integrado de Biomoléculas (LIBS) da Universidade Federal do Ceará.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização de MPSi-CTAB

O nanomaterial de sílica sintetizado, MPSi-CTAB, possui formato esférico de tamanho variando de 80 a 200 nm como pode ser visto nas imagens obtidas pela microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia eletrônica de transmissão (MET) (Figura 8).

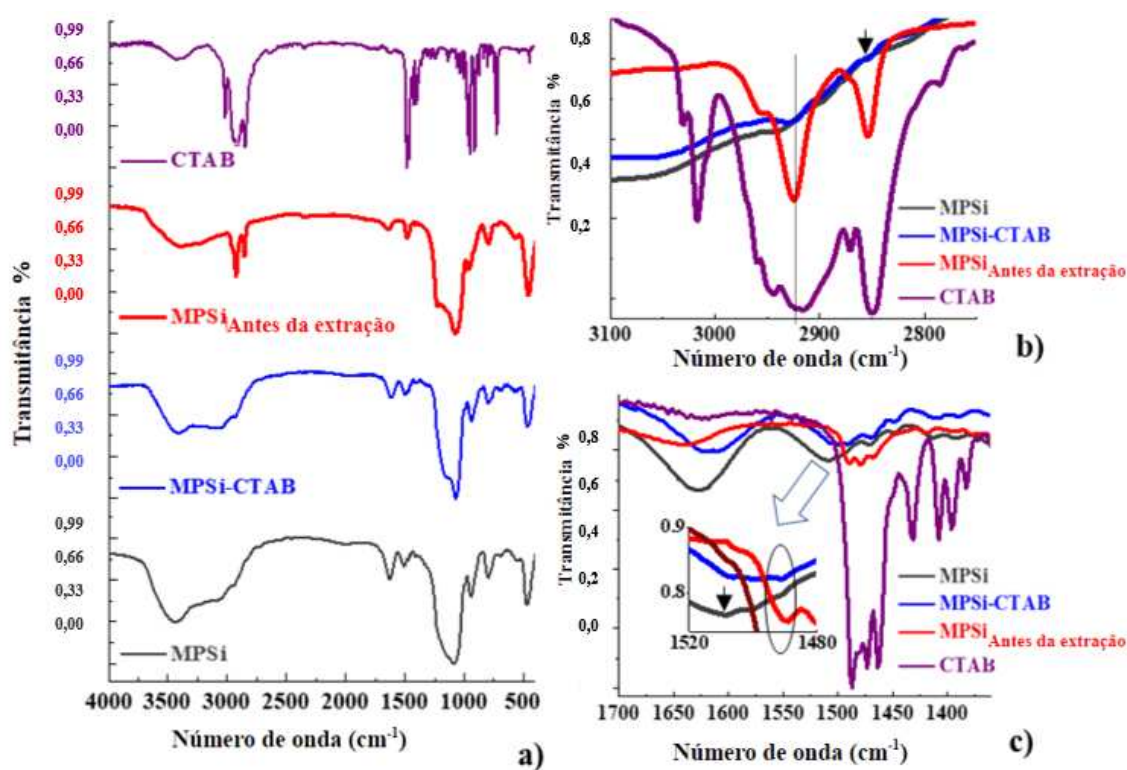
Figura 8 – Caracterização de MPSi-CTAB, imagens de a) MEV e b) e c) MET.



Fonte: O autor.

A Figura 9 mostra o espectro de FTIR do CTAB, MPSi antes da extração do CTAB (MPSi-antes da extração), extração moderada (MPSi-CTAB) e extração extensiva do CTAB do material (MPSi). O espectro vibracional do CTAB mostrou bandas em 3017 cm^{-1} e 2919 cm^{-1} (estiramentos assimétricos de C-H); 1487 cm^{-1} (dobramento simétrico de C-H de $\text{CH}_3\text{-N}^+$), 2849 cm^{-1} (estiramento simétrico de C-H), 1473 cm^{-1} e 1462 cm^{-1} (dobramento de CH_2) (Su, Yang e Zhu, 2015; Sui et al., 2005). Para MPSi, MPSi-CTAB e MPSi-antes da extração o espectro mostra bandas em $3750\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ (OH e SiO-H) e 1627 cm^{-1} (δ HOH) juntamente com outras bandas associadas à sílica em 480 cm^{-1} (δ O-Si-O), 920 cm^{-1} (ν_β Si-O), 1200 cm^{-1} (ν_{as} Si-O-Si), 1100 cm^{-1} (ν_s Si-O-Si) e 1412 cm^{-1} (ν_s Si-C) (Nishio, 1997; Vansant et al., 1995). Nos espectros vibracionais na região do infravermelho das amostras MPSi e MPSi-CTAB, as bandas em 1508 cm^{-1} (Figura 9b) sugerem a presença de estruturas características de aminopropil em anel ($\text{H}_3\text{N}^+\text{---OSi}$) (Shimizu et al., 1997).

Figura 9 – Perfil de remoção do CTAB de MPSi monitorada por FTIR: a) CTAB (roxo), MPSi-antes da extração (Vermelho), MPSi-CTAB (azul) e MPSi (cinza), b) expansão do espectro para a região de 3100-2750 cm^{-1} e c) expansão do espectro para a região de 1700-1350 cm^{-1} .

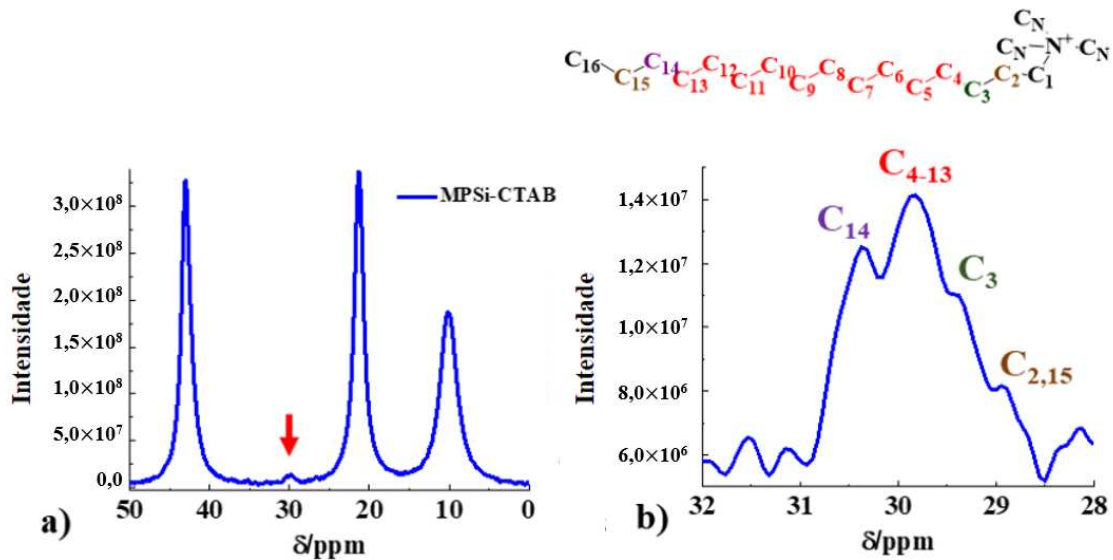


Fonte: O autor.

O espectro vibracional da MPSi-CTAB indicou a presença de CTAB, evidenciada pelas bandas em 1490 cm^{-1} ($\nu_{\text{as}}\text{CH}_3$ and $\nu_{\text{s}}\text{CH}_2$), 2928 cm^{-1} e 2854 cm^{-1} ($\nu_{\text{as}} \text{CH-CH}_2$) (Figura. 9b e 9c); enquanto no espectro da MPSi nenhuma dessas bandas foi observada. Porém, há ainda uma banda em 2941 cm^{-1} associada aos grupamentos aminopropil (Hiraoui et al., 2011; Petreanu et al., 2023).

A presença da porção de aminopropil é observada também no espectro CP/MAS RMN de ^{13}C para a amostra de MPSi-CTAB (Figura 10). Os três sinais em 43,16, 21,6 e 10,3 ppm é atribuída ao APTES ligado à sílica. Além disso, outros 4 sinais de baixa intensidade são observados de 32 a 28,5 ppm. Este último foi associado a cadeia alifática de átomos de carbono esperado no CTAB (C13 em 30,3 ppm, C4-C13 em 29,8 ppm, C3 em 29,3 ppm e C15 e C2 em 28,9 ppm), de acordo com a literatura (Xu, Feng e Che, 2014).

Figura 10 – CP/MAS RMN ^{13}C para MPSi-CTAB no estado sólido: a) MPSi-CTAB, exibindo sinais fortes e fracos e b) expansão dos sinais fracos associados ao CTAB.



Fonte: O autor.

A análise termogravimétrica (Figura 11) da amostra de MPSi e MPSi-CTAB mostraram três eventos térmicos. O primeiro, do início até 200 °C é associado a presença de água, o segundo é relativo à combustão de matéria orgânica (310 a 330 °C), enquanto o terceiro evento indica que o interior do material sofreu a condensação dos grupos silanóis (580 a 1000 °C) (Ma et al., 2010; Kunc et al., 2019). Baseado nestes eventos é possível estimar a quantidade de CTAB em MPSi-CTAB, obtendo-se um valor de 93,8 mg g⁻¹ como mostrado pelos cálculos a seguir:

1) Proporção de TEOS e APTES como matéria orgânica em relação a quantidade de siloxano:

$$\%SiO_2^{Si} + \% (APTES^{Si} + TEOS^{Si}) + \%H_2O^{Si} = 100$$

$$\% (APTES^{Si} + TEOS^{Si}) = 100 - \%SiO_2^{Si} - \%H_2O^{Si}$$

Dividindo por $\%SiO_2^{Si}$

$$\frac{\% (APTES^{Si} + TEOS^{Si})}{\%SiO_2^{Si}} = \frac{(100 - \%SiO_2^{Si} - \%H_2O^{Si})}{\%SiO_2^{Si}}$$

2) Considerando que o percentual de TEOS e APTES é igual em Si e Si-CT e substituindo pelo resultado da etapa anterior, tem-se:

$$2.1) \%SiO_2^{Si-CT} + \% (APTES^{Si-CT} + TEOS^{Si-CT}) + \%H_2O^{Si-CT} + \%CTAB = 100$$

$$\% (APTES^{Si-CT} + TEOS^{Si-CT}) = \%SiO_2^{Si-CT} \times \frac{\%(APTES^{Si} + TEOS^{Si})}{\%SiO_2^{Si}}$$

$$2.2) \% (APTES^{Si-CT} + TEOS^{Si-CT}) = \%SiO_2^{Si-CT} \times \frac{(100 - \%SiO_2^{Si} - \%H_2O^{Si})}{\%SiO_2^{Si}}$$

3) Substituindo o resultado de 2.2 em 2.1, tem-se:

$$\%SiO_2^{Si-CT} + \%SiO_2^{Si-CT} \times \frac{(100 - \%SiO_2^{Si} - \%H_2O^{Si})}{\%SiO_2^{Si}} + \%H_2O^{Si-CT} + \%CTAB = 100$$

$$\%CTAB = 100 - \%H_2O^{Si-CT} - \%SiO_2^{Si-CT} + \%SiO_2^{Si-CT} \times \frac{(100 - \%SiO_2^{Si} - \%H_2O^{Si})}{\%SiO_2^{Si}}$$

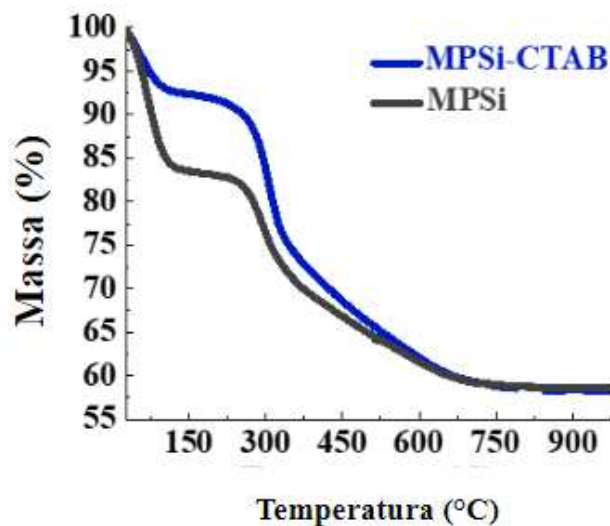
4) Dos resultados da análise termogravimétrica, tem-se:

$$\%CTAB = 100 - 8,17 - 58,11 - 58,11 \times \frac{(100 - 16,93 - 58,55)}{58,55}$$

$$\%CTAB = 9,38$$

Onde o índice sobrescrito Si e Si-CT referem-se a MPSi e MPSi-CTAB respectivamente.

Figura 11 – Curva termoanalíticas para MPSi-CTAB e MPSi na faixa de MPSi-CTAB e MPSi na faixa de 25-900°C, em uma taxa de aquecimento 10°C min⁻¹, utilizando ar sintético.



Fonte: O autor.

Notavelmente, a quantidade de CTAB contida em MPSi-CTAB foi maior do que em outros trabalhos com sílica (Chen et al., 2014; Ma et al., 2010). Bandas vibracionais características do CTAB apresentaram intensidade reduzida se comparada com outros estudos

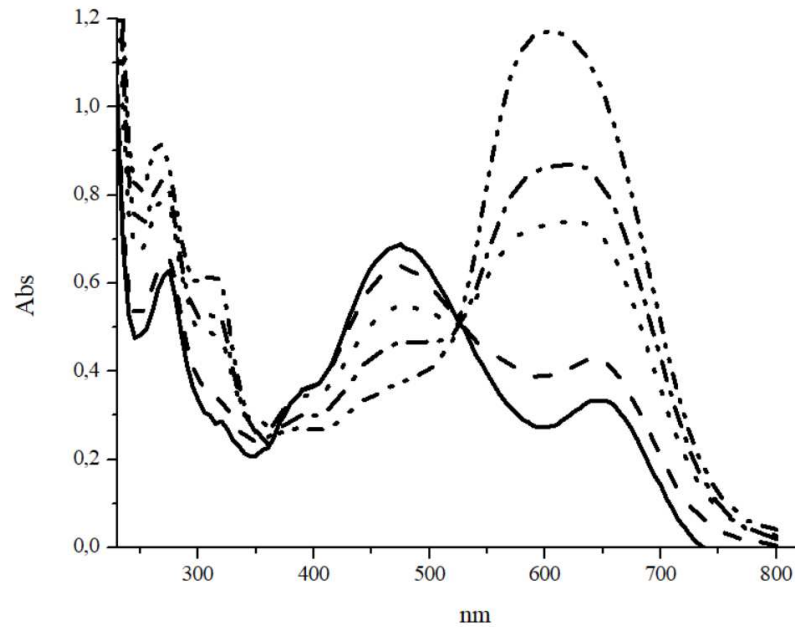
em que a adsorção de CTAB é realizada em pequenas quantidades (1,5% m/m) (Chen et al., 2014; Ma et al., 2010). A razão entre as bandas em 1627 cm^{-1} e 1508 cm^{-1} de MPSi-CTAB e MPSi foi de 1,04 e 1,24, respectivamente (Figura 9c) provavelmente devido à alta disponibilidade dos grupos silanol na superfície de MPSi, aumentando a quantidade de água absorvida. Além disso, MPSi e MPSi-CTAB apresentam duas bandas sutis em 3017 cm^{-1} , 2919 cm^{-1} , reforçando a hipótese de internalização do CTAB, que pode ser relacionada com uma possível liberação lenta de CTAB para o meio. No entanto, a presença do CTAB foi responsável por alterar significativamente a carga superficial da MPSi, aumentando o potencial Zeta em 29 unidades (MPSi-CTAB: +41,47 mV; MPSi: +12,77 mV), desta forma, permitindo uma maior dispersão de MPSi-CTAB (Ma et al., 2010). Ademais, considerando a característica carga negativa das membranas celulares, esse perfil possibilita relevantes aplicações biológicas (Halder et al., 2015).

4.1.2 Identificação de CTAB via Colorimetria

O Figura 12 mostra a variação espectral na região do visível e ultravioleta para o corante CBB na presença de diferentes concentrações de CTAB. Observa-se que um incremento na concentração do CTAB leva a um aumento da absorbância em torno de 600 nm com concomitante redução do sinal em torno de 475 nm. Além disso, o deslocamento da banda sugere que o CTAB interage mais fortemente com a espécie aniônica devido, provavelmente, a atração dipolo-dipolo e as interações de van der Waals (Aminian et al., 2013).

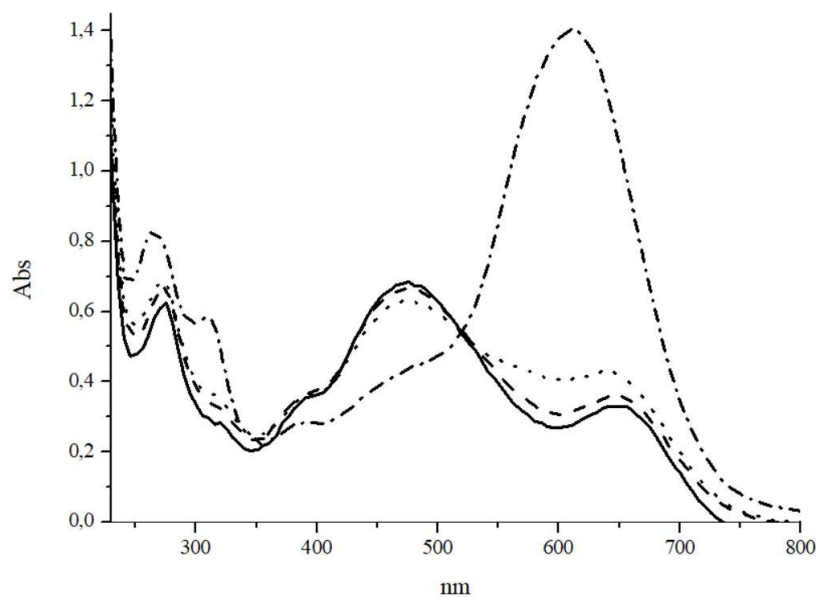
Os espectros eletrônicos do Figura 13 mostram a efetiva remoção do CTAB à medida que o material de sílica é lavado. Embora mais estudos precisam ser realizados para quantificar o CTAB, os resultados mostram que a espectrometria UV/vis pode ser usadas para verificar a remoção do CTAB do material, além do FTIR e TG. Assim, mais estudos precisam ser realizados para utilizar o método a colorimétrico com CBB para quantificar o CTAB remanescente no processo de síntese de nanopartículas de sílica.

Figura 12 – Espectros de absorvância para diferentes concentrações finais de CTAB ($0,022 \text{ mg mL}^{-1}$ (---), $0,044 \text{ mg mL}^{-1}$ (···), $0,066 \text{ mg mL}^{-1}$ (·-·), $0,088 \text{ mg mL}^{-1}$ (-·-·) e CBB (—), misturadas com $750 \mu\text{L}$ de CBB.



Fonte: O autor.

Figura 13 – Espectros de absorvância para diferentes nanopartículas de sílica sintetizadas de forma escalonada de 170 mg de material e $10 \mu\text{L}$ misturados com $750 \mu\text{L}$ de CBB: MPSi após 5 lavagens (---), MPSi após duas lavagens (···), MPSi antes da extração do CTAB (·-·) e CBB (—).



Fonte: O autor.

4.2 Testes antifúngicos *in vitro*

As suspensões aquosas testadas de MPSi-CTAB inibiram o crescimento celular para cepas de *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*, exibindo atividade fungistática e fungicida (Tabela 1). Os valores de CIM variaram de 0,0625 mg mL⁻¹ (*C. krusei* ATCC 6258) a 0,5 mg mL⁻¹ (*C. parapsilosis* ATCC 90018 e ATCC 22019), enquanto a CFM variou de 0,0625 mg mL⁻¹ (*C. krusei* ATCC 6258) a 1 mg mL⁻¹ (*C. parapsilosis* ATCC 90018). Além disso, o crescimento celular de *C. albicans* (ATCC 10231 a ATCC 64124) não foi afetado por MPSi-CTAB na concentração mais alta testada (1 mg mL⁻¹).

Tabela 1 – Valores de CIM e CFM para MPSi-CTAB contra cepas de *Candida*.

Cepas	CIM (mg mL ⁻¹)	CFM (mg mL ⁻¹)
<i>C. albicans</i> ATCC 10231*	—	—
<i>C. albicans</i> ATCC 64124*	—	—
<i>C. tropicalis</i> ATCC 750	0,125	0,25
<i>C. tropicalis</i> ATCC 13803	0,125	0,125
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 90018	0,500	1,00
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	0,500	0,500
<i>C. krusei</i> ATCC 6258	0,0625	0,0625

*Não letal e não inibiu o crescimento celular na concentração mais alta avaliada (1mg mL⁻¹).

Fonte: O autor.

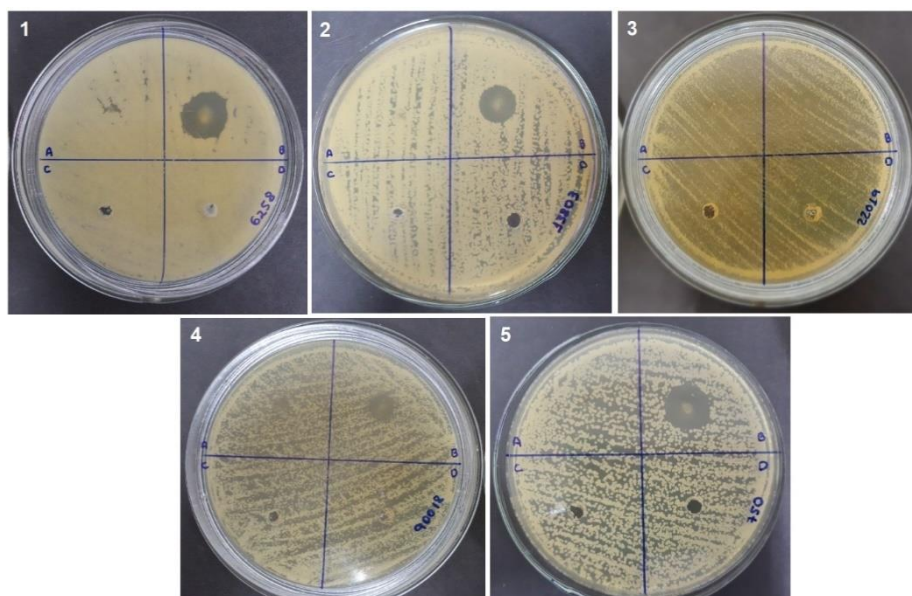
A fim de demonstrar o potencial antifúngico da MPSi-CTAB contra *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*, um gel baseado em carbopol contendo MPSi-CTAB foi preparado e conduzido um teste de difusão em ágar (Tabela 2). Foram observados em todas as placas zonas de inibição ao redor das amostras (20,0 ± 5 mg) de gel cujos diâmetros variaram de 7,0 mm (*C. parapsilosis* ATCC 22019) a 16 mm (*C. tropicalis* ATCC 750 e *C. krusei* ATCC 6258). Além disso, a média dos diâmetros das zonas de inibição mostrou boa correlação com valores de CIM de 24 h, evidenciando que *C. tropicalis* ATCC 750 e *C. krusei* ATCC 6258 são cepas mais susceptíveis a MPSi-CTAB. Amostras de gel contendo MPSi não inibiu o crescimento celular na concentração mais alta testada (1 mg mL⁻¹) (Figura 14), evidenciando que o CTAB é o principal componente responsável pela atividade antifúngica de MPSi-CTAB.

Tabela 2 – Halos de inibição para cepas de *Candida* expostas a amostras de Gel-MPSi-CTAB (doses de 20 mg) contendo 0,5% (m/v) de MPSi-CTAB.

Cepas	Diâmetro (mm)		
	Gel-MPSi-CTAB	MPSi	Água
<i>C. tropicalis</i> ATCC 750	16,0 ± 2,0	0,0	0,0
<i>C. tropicalis</i> ATCC 13803	12,0 ± 0,0	0,0	0,0
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 90018	9,0 ± 2,0	0,0	0,0
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	7,0 ± 1,0	0,0	0,0
<i>C. krusei</i> ATCC 6258	16,0 ± 2,0	0,0	0,0

Fonte: O autor.

Figura 14 – Teste de difusão em meio de cultura utilizando Gel-MPSi-CTAB contra cepas de *Candida*. As cepas utilizadas foram *C. krusei* ATCC 6258 (1), *C. tropicalis* ATCC 13803 (2), *C. parapsilosis* ATCC 22019 (3), *C. parapsilosis* ATCC 90018 (4) e *C. tropicalis* ATCC 750 (5). As doses (20 mg) foram distribuídas da seguinte forma: Gel-MPSi (quadrante superior esquerdo), Gel-MPSi-CTAB (quadrante superior direito) e a formulação em gel na ausência e MPSi e MPSi-CTAB (quadrantes inferiores direito e esquerdo, respectivamente).



Fonte: O autor.

Em outro experimento (Figura 15), foi comparada a atividade antifúngica do gel-MPSi-CTAB e de um creme comercial baseado em cetoconazol (Tabela 3). Esse composto é um derivado de imidazol utilizado principalmente no tratamento de infecções dérmicas (Marok et al., 2023). Doses de 25 mg de Gel-MPSi-CTAB (0,5% m/v) e de 15 mg de creme contendo cetoconazol (2% m/m) foram aplicadas. Os resultados mostram que a ação antifúngica do Gel-MPSi-CTAB foi comparável a um produto já estabelecido comercialmente especialmente contra *C. krusei*. Portanto, o material desenvolvido se mostra como um promissor agente

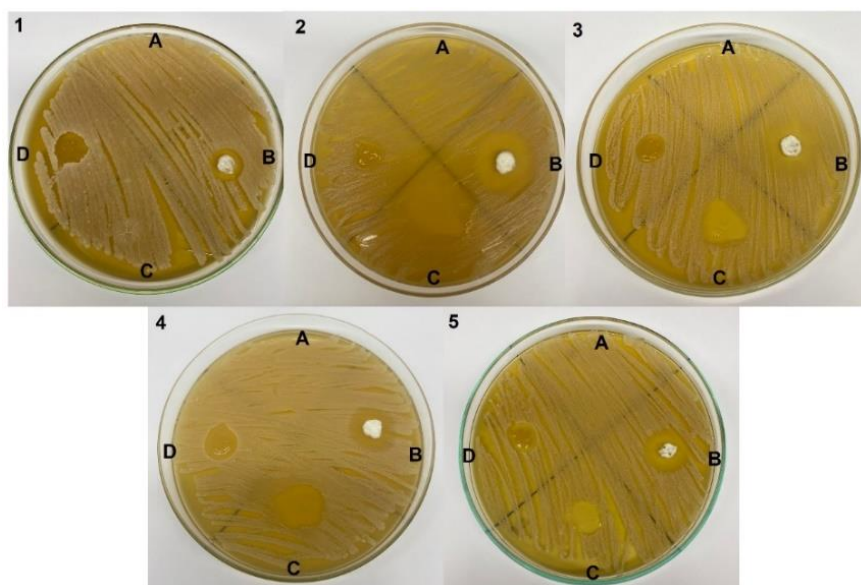
antifúngico, sendo um possível *Candidato* para o tratamento de infecções dérmicas causadas por espécies de *Candida*.

Tabela 3 – Halos de inibição (mm) de espécies de *Candida* expostas a Gel-MPSi-CTAB 0,5% m/v (doses de $25 \pm 4,7$ mg) e a um creme antifúngico baseado em cetoconazol 2% m/m (dose de $15 \pm 4,2$ mg), para comparação. Os controles positivo e negativo foram respectivamente: um gel contendo 70% m/m de etanol (dose de 50 ± 5 mg) e água (100 μ L).

Cepas	Gel-MPSi-CTAB ¹	Antifúngico comercial ¹	70% (m/m) Álcool em gel ¹	Água
<i>C. tropicalis</i> ATCC 750	$18,0 \pm 2,0$	$20,0 \pm 2,0$	$17,0 \pm 2,0$	0,0
<i>C. tropicalis</i> ATCC 13803	$18,0 \pm 2,0$	$23,0 \pm 1,0$	$18,0 \pm 1,0$	0,0
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 90018	$17,0 \pm 2,0$	$30,0 \pm 1,0$	$25,0 \pm 1,0$	0,0
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	$14,0 \pm 1,0$	$14,0 \pm 1,0$	$20,0 \pm 1,0$	0,0
<i>C. krusei</i> ATCC 6258	$19,0 \pm 1,0$	$18,0 \pm 1,0$	0,0	0,0

¹Diâmetros de crescimento das zonas de inibição após incubação por 24 h a 35°C.

Figura 15 – Teste de difusão em meio de cultura utilizando Gel-MPSi-CTAB contra cepas de *Candida*. As cepas utilizadas foram *C. krusei* ATCC 6258 (1), *C. parapsilosis* ATCC 90018 (2), *C. parapsilosis* ATCC 22019 (3), *C. tropicalis* ATCC 13803 (4) e *C. tropicalis* ATCC 750 (5). A doses foram distribuídas da seguinte forma: água ultrapura estéril (A), creme antifúngico baseado em cetoconazol (dose de 15 mg) (B), álcool em gel 70% (m/m) (dose de 50 mg) (C) e Gel-MPSi-CTAB (dose de 25 mg) (D).



Fonte: O autor.

4.3 Atividade antibacteriana

4.3.1 Efeito do MPSi-CTAB contra bactérias

Apenas MPSi-CTAB exibiu CIM e CBM mensuráveis, enquanto MPSi não exibiu nenhuma atividade inibitória sobre as bactérias investigadas em concentrações de até 5 mg mL⁻¹ (Tabela 4).

A atividade antibacteriana de MPSi-CTAB está de acordo com relato anterior em que se empregou materiais contendo CTAB, ex. zeólita NaY (Mad Salim et al., 2014). Neste caso, o CTAB adsorvido também obteve atividade antimicrobiana contra *S. aureus*, com halos de inibição de 19 a 20 mm com o CTAB na concentração de 21,5 mmol L⁻¹.

Tabela 4 – Medidas de CIM e CBM para MPSi-CTAB contra bactérias.

Cepas	CIM (mg mL ⁻¹)	CBM (mg mL ⁻¹)
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	0,156	0,312
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	0,312	0,312
<i>S. aureus</i> ATCC 700698	0,625	1,25
<i>S. epidermidis</i> ATCC 35984	0,312	0,625

Fonte: O autor.

4.3.2 Efeito de MPSi-CTAB associado a antibiótico padrão

O uso combinado de MPSi-CTAB com os antibióticos apresentou atividade sinérgica para *S. aureus* ATCC 700698, FICI de 0,28 e 0,31 para ampicilina e tetraciclina, respectivamente. Para *S. epidermidis* ATCC 35984, a ampicilina combinada com MPSi-CTAB mostrou um valor de FICI foi 0,56, indicando ação aditiva, contudo, a presença de MPSi-CTAB em 0,156 mg mL⁻¹ reduziu a CIM para a ampicilina em 16 vezes (Tabela 5). Observa-se que para *S. aureus* a proporção de CTAB foi significativamente superior a ambos os antibióticos, em contrapartida à proporção para *S. epidermidis*, reforçando que a redução da utilização de AMP combinada com CATB foi mais relevante contra a cepa de *S. aureus* (Tabela 6).

Tabela 5 – Estudos antibacterianos em combinação, CIM para os antibióticos ampicilina (AMP) e tetraciclina (TETRA) e MPSi-CTAB, e seu efeito em combinado.

Bactéria	Material		Antibiótico		FICI
	MPSi-CTAB (CIM, mg mL ⁻¹)		AMP (CIM, mg mL ⁻¹)		
	(individual*)	(combinado**)	(individual*)	(combinado**)	
<i>S. aureus</i> 700698	0,625	0,156	25	0,781	0,28
<i>S. epidermidis</i> 35984	0,312	0,156	1000	62,25	0,56
Bactéria	MPSi-CTAB (CIM, mg mL ⁻¹)		TETRA (CIM, mg mL ⁻¹)		FICI
	(individual*)	(combinado**)	(individual*)	(combinado**)	
	<i>S. aureus</i> 700698	0,625	0,156	50	

*Apenas o fármaco (ampicilina ou tetraciclina ou MPSi-CTAB); **Concentração do fármaco na combinação: TETRA ou AMP com MPSi-CTAB.

Fonte: O autor.

Tabela 6 – Proporção em massa entre os antibióticos e CTAB nos ensaios combinados.

Bactéria	Material (%)	Antibiótico (%)
	CTAB	AMP
<i>S. aureus</i> 700698	94,9	5,1
<i>S. epidermidis</i> 35984	19,0	81,0
Bactéria	CTAB (%)	TETRA (%)
	<i>S. aureus</i> 700698	82,3

Fonte: O autor.

O efeito sinérgico observado para a combinação de MPSi-CTAB com AMP ou TETRA, pode estar associado com o efeito permeabilizador do CTAB que torna possível uma maior absorção dos antibióticos. Estudos envolvendo *S. aureus* mostraram que a AMP e o CTAB são capazes de reduzir a viabilidade celular, porém a AMP não é capaz de mudar a carga superficial ou a permeabilidade da membrana em contraste ao CTAB, e que, além de causar

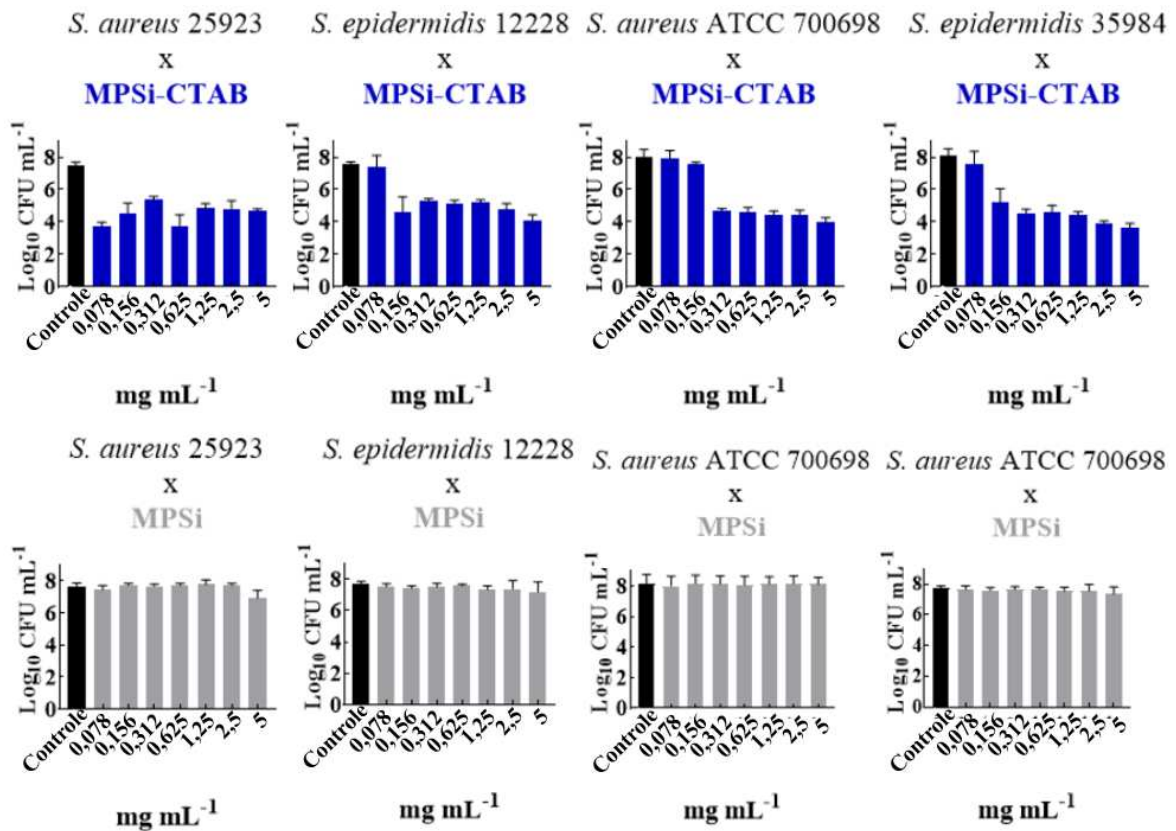
esses efeitos, conduz à ruptura da membrana (Halder et al. 2015). A combinação dessas duas atividades pode estar relacionada ao sinergismo observado, porém mais estudos são necessários para elucidar completamente os mecanismos biológicos. No entanto, isto não é um fenômeno isolado, materiais que contêm aminas quaternárias, ex. óxido de grafeno contendo amina quaternária mostrou efeito sinérgico contra MRSA (Liu et al., 2018). Em outro estudo, uma amina quaternária homopolimérica mostrou um efeito sinérgico/aditivo quando combinada com guanidina contra bactéria Gram-negativa com 99,9 % de eliminação desses microrganismos (Leong et al., 2020). É importante notar que MPSi foi incapaz de eliminar as cepas bacterianas, enquanto MPSi-CTAB mostrou elevada ação bactericida, além de aumentar a eficiência dos antibióticos (AMP ou TETRA) quando combinados.

4.3.3 Ensaio de inibição de formação de biofilme

A ação antibiofilme dos materiais MPSi-CTAB e MPSi foi avaliada (Figura 16). Os valores de UFC indicaram uma redução de 630 a 10.000 vezes, equivalente a 99,84 a 99,999% das células viáveis quando empregado MPSi-CTAB. Esse resultado indica que MPSi-CTAB promove a dispersão/degradação do biofilme, reduzindo a tolerância das células aos antibióticos. Por outro lado, MPSi não apresentou qualquer atividade.

As aminas quaternárias (como cloreto de benzalcônio, cloreto de dimetilbenzilamônio e cloreto de benzildimetildodecilamônio) são capazes de causar danos à parede e membrana celular, liberando o citoplasma no meio e levando a consequente morte celular, portanto, essas substâncias podem ser consideradas antibióticos de amplo espectro contra bactérias Gram-positivas (Jennings, Minbiole e Wuest, 2016). Em contrapartida, a imobilização do CTAB impede um aumento da adesão do CTAB se comparado ao CTAB livre, minimizando a interação com a parede celular (Naves et al., 2013). Em outros estudos, foi observada inibição de biofilme bacteriano com a combinação do CTAB com polimetilmetacrilato (Melo et al., 2011), além disso um aumento da capacidade bactericida do CTAB mesmo em baixas concentrações (Zhou et al., 2017). Isso reforça o material MPSi-CTAB como agente bactericida promissor.

Figura 16 – Efeito de MPSi-CTAB e MPSi sobre a susceptibilidade de biofilmes de *S. aureus* e *S. epidermidis* por contagem de UFC.



Fonte: O autor.

4.3.4 Atividade antibacteriana do Gel-MPSi-CTAB

O primeiro ensaio (dados não mostrados), utilizando um gel sem nanopartículas e empregando MPSi na formulação não foram observados zona de inibição mensurável, no entanto, empregando-se Gel-MPSi-CTAB (Figura 17) observou-se inibição do crescimento sendo os respectivos halos de inibição para *S. aureus* (ATCC 7000698) e *S. epidermidis* (ATCC 35984) de 15 mm e de 21 mm, respectivamente. A atividade inibitória do crescimento bacteriano do creme baseado em mupirocina foi notadamente superior ao Gel-MPSi-CTAB, no entanto, observou-se comportamento semelhante ao álcool em gel 70% (m/m) (Tabela 7). Vale ressaltar que a ação do álcool em gel é rápida (evaporação do etanol), enquanto o Gel-MPSi-CTAB permanece na superfície.

Estes resultados justificam potenciais aplicações da MPSi-CTAB contra infecções tópicas causadas por *S. aureus* e *S. epidermidis* resistentes a antibióticos. Em um estudo utilizando pele de cabra foi mostrado que ao serem imersas em uma solução de 5% de CTAB

por 10 min, o crescimento de bactérias (várias cepas do gênero *Bacillus*) foi inibido por 12 dias (tempo máximo estudado) em temperatura ambiente (Pandian, 2009). Estudos anteriores indicam que uma solução de 3% de CTAB aplicada sobre a pele absorve somente 0,093% a 3,15% de CTAB (Andersen, 1997). Outros estudos também mostram que materiais baseados em sílica em administração tópica prolongam a ação de diversos compostos bioativos e reduzem possível toxicidade (da Silva Filho et al., 2023; Li et al., 2014; Lin et al., 2018; Sapino et al., 2015). Isto sugere que a imobilização do CTAB em sílica pode melhorar a atuação do material na profilaxia e tratamento de infecções tópicas causadas por agentes microbianos.

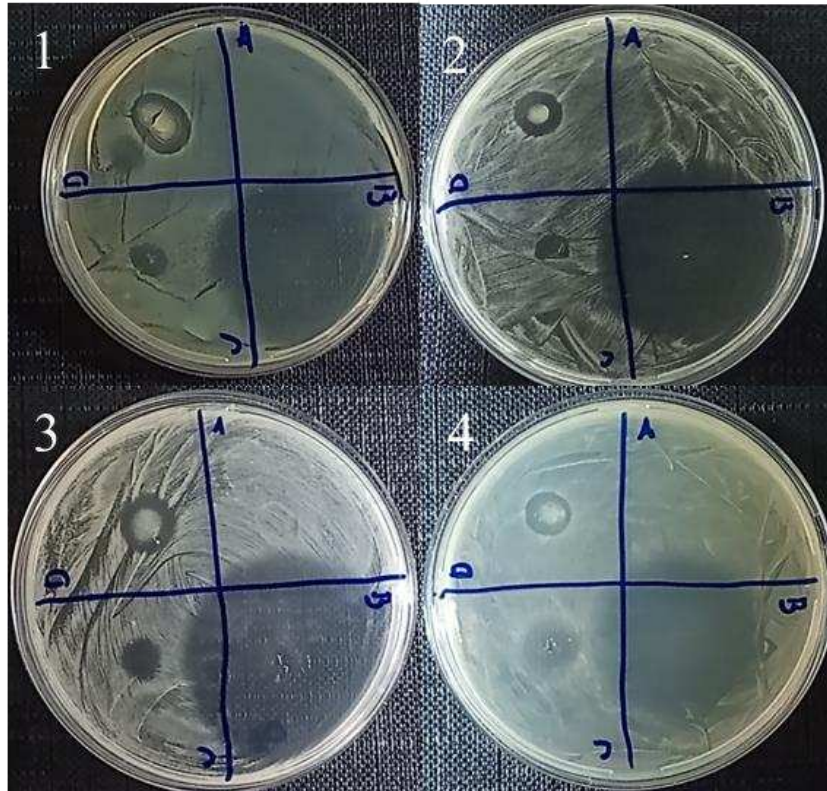
Tabela 7 – Zonas de inibição (mm) de crescimento de cepas de *Staphylococcus* expostas a amostras do Gel-MPSi-CTAB (doses de $41,9 \pm 4,01$ mg contendo 0.5% (m/v) do material) e de um creme comercial baseado em mupirocina 2% m/m (doses de $33,6 \pm 4,3$ mg). Álcool em gel 70% (m/m) (doses de $32,8 \pm 5,2$ mg) e água foram utilizados como controles positivo e negativo, respectivamente.

Cepas	Gel-MPSi-CTAB¹	Bactericida Comercial¹	Álcool em gel 70% (m/m)¹	Água
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	$14,96 \pm 0,05$	$38,33 \pm 2,88$	$11,67 \pm 2,88$	0
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	$21,00 \pm 1,00$	$40,00 \pm 5,00$	$9,67 \pm 0,57$	0
<i>S. aureus</i> ATCC 700698	$15,67 \pm 1,54$	$39,33 \pm 1,54$	$12,33 \pm 2,51$	0
<i>S. epidermidis</i> ATCC 35984	$16,67 \pm 1,52$	$38,34 \pm 2,88$	$12,33 \pm 2,89$	0

¹Diâmetros de inibição medidos após incubação por 24 h a 35 °C.

Fonte: O autor.

Figura 17 – Teste de difusão em meio de cultura utilizando Gel-MPSi-CTAB contra cepas de *Staphylococcus*. As cepas utilizadas foram *S. aureus* ATCC 25923 (1), *S. epidermidis* ATCC 12228 (2), *S. aureus* ATCC 700698 (3), *S. epidermidis* ATCC 35984 (4) e *C. tropicalis* ATCC 750 (5). As doses foram distribuídas da seguinte forma: água ultrapura estéril (A), creme antibacteriano baseado em mupirocina (doses de 32, 36 ± 4,57 mg) (B), álcool em gel 70% (m/m) (doses de 32, 36 ± 4,57 mg) (C) e Gel-MPSi-CTAB (doses de 41,87 ± 4,07 mg) (D).

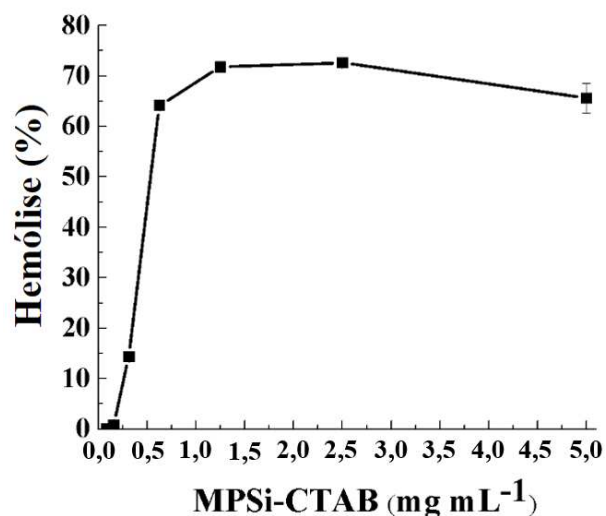


Fonte: O autor.

4.5 Ensaio de atividade hemolítica de MPSi-CTAB

Este ensaio foi conduzido para avaliar preliminarmente a segurança no uso interno de MPSi-CTAB. Um elevado percentual de hemólise (73-64%) foi observado em concentrações maiores do que 0,312 mg mL⁻¹, no entanto, em concentrações de 0,312 mg mL⁻¹; 0,156 mg mL⁻¹ e 0,078 mg mL⁻¹ a taxa de hemólise foi de somente 14%, 0,9% e 0%, respectivamente (Figura 18). É interessante observar que na concentração acima de 0,312 mg mL⁻¹ a taxa de hemólise foi de 74%, contudo, ainda menor do que a descrita para outros materiais baseados em sílica (Lin e Haynes, 2010) e sílica modificada com grupos amino, variando de 64 a 85% de viabilidade celular de macrófagos (Yu, Malugin e Ghandehar, 2011).

Figura 18 – Estudo de hemólise utilizando MPSi-CTAB sobre glóbulos vermelhos (O⁺). A concentração de MPSi-CTAB variou de 5 a 0,078 mg mL⁻¹ e incubadas por 2 h. Os controles positivos e negativos foram 1% de SDS e 0,9% de NaCl, respectivamente.



Fonte: O autor.

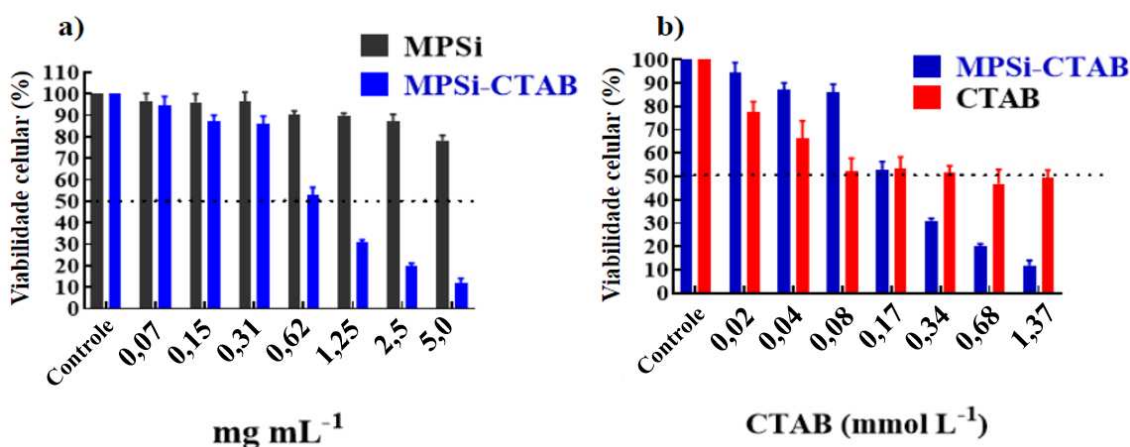
Relatos anteriores mencionam que o CTAB possui elevada atividade hemolítica na concentração de 50 mmol L⁻¹ (0,0182 mg mL⁻¹), provocando hemólise completa dos glóbulos vermelhos de ratos (Isomaa, Bergman e Sandberg, 1978). Este valor está próximo à concentração de CTAB em MPSi-CTAB (0,156 mg mL⁻¹ contém o equivalente de 0,014 mg mL⁻¹ de CTAB), porém apresentando 0,9% de hemólise. Estes resultados indicam que, apesar da ação antimicrobiana, o CTAB imobilizado não acarreta toxicidade significativa aos glóbulos vermelhos, estando de acordo com outro trabalho utilizando sílica aminofuncionalizada, apresentando hemólise inferior 2,2% (Yildirim, Ozgur e Bayindir, 2013). Em contrapartida a outros materiais, especialmente os não porosos, esse fenômeno não ocorre, fornecendo mais evidências à hipótese de que o CTAB está interiorizado na sílica mesoporosa (Lau et al., 2012). Portanto, o efeito sinérgico de MPSi-CTAB com antibióticos e a baixa ação hemolítica de 0,156 a 0,078 mg mL⁻¹, aumenta o potencial da MPSi-CTAB em tratamentos tópicos contra as cepas estudadas.

4.6 Citotoxicidade

Nos ensaios de viabilidade celular, usando de fibroblastos murinos, o nanomaterial MPSi mostrou citotoxicidade reduzida na concentração mais alta testada (5 mg mL⁻¹), com uma viabilidade celular de $78,37 \pm 2,35\%$ após 24 h (Figura 19). Por outro lado, MPSi-CTAB mostrou significativa citotoxicidade quando comparada com MPSi, reduzindo a viabilidade

celular para $52,93 \pm 3,45\%$ na concentração de $0,62 \text{ mg mL}^{-1}$. No entanto, é válido mencionar que em concentrações iguais ou menores do que $0,31 \text{ mg mL}^{-1}$ de MPSi-CTAB a viabilidade celular foi maior que 80%. O CTAB isolado aplicado em concentrações intermediárias de $0,176 \text{ mmol mL}^{-1}$ reduziu a viabilidade celular para $53,58 \pm 4,8\%$, de fato, a viabilidade celular foi próxima a 70% ($0,027 \text{ mmol mL}^{-1}$), cerca de 25 % menor do que a concentração mais baixa de MPSi-CTAB testada ($0,07 \text{ mg mL}^{-1}$). Baseado nesses estudos, o uso de MPSi-CTAB é promissor em concentrações iguais ou menores do que $0,31 \text{ mg mL}^{-1}$ (equivalente a $0,08 \text{ mmol}$ de CTAB por L^{-1}), no qual é observado efeito sinérgico com AMP e TETRA e inibição/degradação do biofilme contra *S. aureus* (ATCC 700698) e *S. epidermidis* (ATCC 35984) além atividade antifúngica contra *C. tropicalis* (ATCC 750), *C. tropicalis* (ATCC 13803) e *C. krusei* (ATCC 6258). Portanto, fica evidente o potencial uso de MPSi-CTAB contra infecções causadas por esses agentes patogênicos.

Figura 19 – Viabilidade celular de fibroblastos murinos tratados com MPSi, MPSi-CTAB e CTAB: a) comparação entre concentrações iguais de MPSi e MPSi-CTAB e b) comparação entre concentrações de CTAB livre e encapsulado em MPSi-CTAB.



Fonte: O autor.

5 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi preparado um nanomaterial contendo reduzidas quantidades de CTAB, retido na estrutura porosa de nanopartículas de sílica. Este material mostrou-se um promissor agente antifúngico contra algumas espécies de *Candida*, incluindo *C. krusei*. Ademais, apresentou capacidade antibacteriana, bem como ação sinérgica em combinação com antibióticos como ampicilina e tetraciclina contra *S. aureus* ATCC 700698 e *S. epidermidis* ATCC 35984. Foram também reunidas evidências a respeito da toxicidade reduzida do material, possibilitando novos caminhos para o uso de nanomateriais baseados em CTAB. A permeabilidade bacteriana a uma formulação em gel baseada em Carbopol e MPSi-CTAB dá suporte para o uso preventivo, por exemplo em materiais hospitalares e higiene das mãos, contra infecções causadas por estes agentes patogênicos. Estes promissores resultados, indicam que MPSi-CTAB pode ser explorado no tratamento de infecções fúngicas e bacterianas comuns ou mesmo contra outros agentes patogênicos emergentes. Ademais, este trabalho deve também servir como alerta que ao se explorar a ação antimicrobiana de materiais baseados em sílica se faz necessária uma extração extensiva dos surfactantes, assim assegurando que os efeitos biológicos observados não possam ser atribuídos ao CTAB remanescente.

REFERÊNCIAS

- AMINIAN, M.; NABATCHIAN, F.; VAISI-RAYGANI, A.; TORABI, M., Mechanism of Coomassie Brilliant Blue G-250 binding to cetyltrimethylammonium bromide: an interference with the Bradford assay. **Analytical Biochemistry**, v 434, 287-291, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ab.2012.11.014>. Acesso em: 08 abr. 2024.
- ANDERSEN, F. A., Final Report on The Safety Assessment of Cetrimonium Chloride, Cetrimonium Bromide, and Steartrimonium Chloride. **Int J Toxicol**, 16, 195–220, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/109158197227152>. Acesso em: 08 abr. 2024.
- ANDRADE, A. L.; VASCONCELOS, M. A. DE; ARRUDA, V. D. S.; GONZAGA, L., MARCOS, J.; CARVALHO, S.; CLAUDIA, A.; GONDIM, S.; LOPES, L. G. F.; SOUSA, E. H. S.; TEIXEIRA, E. H. Antimicrobial activity and antibiotic synergy of a biphosphinic ruthenium complex against clinically relevant bacteria. **Biofouling**, v 36, 442–454, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/08927014.2020.1771317>. Acesso em: 08 abr. 2024.
- AOUADA, F. A.; MATTOSO, L. H. C. Hidrogéis biodegradáveis: uma opção na aplicação como veículos carreadores de sistemas de liberação controlada de pesticidas. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária. v 28, 2009. ISSN 1678-0434. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/658248/hidrogéis-biodegradáveis-uma-opção-na-aplicação-como-veículos-carreadores-de-sistemas-de-liberação-controlada-de-pesticidas>. Acesso em 27 fev. 2024.
- ARENDRUP, M. C., e PATTERSON, T. F. Multidrug-resistant *Candida*: epidemiology, molecular mechanisms, and treatment. **The Journal of infectious diseases**, p. 445-451, 2017. Disponível em: DOI: 10.1093/infdis/jix131. Acesso em: 08 abr. 2024.
- ARMAND, M., TARASCON, J. M. Building better batteries. **Nature**, 451, 652-657, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/451652a>. Acesso em: 08 abr. 2024.
- BAI, Y.; PARK, I. S.; LEE, S. J.; BAE, T. S.; WATARI, F.; UO, M.; LEE, M. H. Aqueous dispersion of surfactant-modified multiwalled carbon nanotubes and their application as an antibacterial agent. **Carbon N Y**, v 49, 3663–3671, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2011.05.002>. Acesso em: 08 abr. 2024.
- BAL, A. M.; DAVID, M. Z.; GARAU, J.; GOTTLIEB, T.; MAZZEI, T.; SCAGLIONE, F.; TATTEVIN, P.; GOULD, I.M. Future trends in the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection: An in-depth review of newer antibiotics active against an enduring pathogen. **J Glob Antimicrob Resist**, v 10, 295–303, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.05.019>. Acesso em: 08 abr. 2024.

BELLAMY, A. R.; RALPH, R. K. Recovery and purification of nucleic acids by means of cetyltrimethylammonium bromide. **Methods Enzymol**, v 12, 156–160, 1968. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(67\)12125-3](https://doi.org/10.1016/0076-6879(67)12125-3). Acesso em: 08 abr. 2024.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v 72, 248-254, 1976. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3). Acesso em: 08 abr. 2024.

BREED, R. S.; DOTERRER, W. D. The Number of Colonies Allowable on Satisfactory Agar Plates. **J Bacteriol**, v 3, 321–331, 1916. Disponível em: <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/JB.1.3.321-331.1916>. Acesso em: 08 abr. 2024.

CARPENTER, A.W.; WORLEY, B. V; SLOMBERG, D.L.; SCHOEN, M.H.C Dual Action Antimicrobials: Nitric Oxide Release from Quaternary Ammonium-Functionalized Silica Nanoparticles. **Biomacromolecules**, v 10, 3334-3342, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/bm301108x>. Acesso em: 08 abr. 2024.

CARVALHO, G. C.; MARENA, G. D.; KARNOPP, J. C. F.; JORGE, J.; SÁBIO, R. M.; MARTINES, M. A. U.; BAUAB, T. M.; CHORILLI, M. Cetyltrimethylammonium bromide in the synthesis of mesoporous silica nanoparticles: general aspects and in vitro toxicity. **Advances in Colloid and Interface Science**, 102746, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2022.102746>. Acesso em: 08 abr. 2024.

CAVALHEIRO, M.; TEIXEIRA, M.C. *Candida* Biofilms: Threats, challenges, and promising strategies. **Front Med (Lausanne)**, v 5, 28, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00028>. Acesso em: 08 abr. 2024.

CHANG, Z. M.; WANG, Z.; LU, M. M.; SHAO, D.; YUE, J.; YANG, D.; LI, M. Q.; DONG, W. F. Janus silver mesoporous silica nanobullets with synergistic antibacterial functions. **Colloids Surf B Biointerfaces**, v 157, 199–206, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.05.079>. Acesso em: 08 abr. 2024.

CHEN, G.; LI, Z.; WANG, X.; XIE, L.; QI, Q.; FANG, W. Preparation of CTAB-loaded magnetic nanospheres for rapid bacterial capture and decontamination. **Mater Lett**, v 134, 290–294, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2014.07.100>. Acesso em: 08 abr. 2024.

CIHANOĞLU, A.; ALTINKAYA, S.A. A facile route to the preparation of antibacterial polysulfone-sulfonated polyethersulfone ultrafiltration membranes using a cationic surfactant cetyltrimethylammonium bromide. **J Memb Sci**, v 594, 117438, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2019.117438>. Acesso em: 08 abr. 2024.

DAMODHARAN, J. Nanomaterials in medicine—An overview. **Materials Today: Proceedings**, v 37, 383-385, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.05.380>. Acesso em: 08 abr. 2024.

DA SILVA FILHO, P.M.; PAZ, I.A.; NASCIMENTO, N.R.F.; NASCIMENTO, C.F.S.; VALDEVANE R. A; CAMILA P.; AQUINO, T. S.; IGOR F. V; LOPES, L.G. DE F., SOUSA, E.H.S., LONGHINOTTI, E. Incorporation of Nitroprusside on Silica Nanoparticles—A Strategy for Safer Use of This NO Donor in Therapy. **Mol. Pharm**, v 16, 2912-2921, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.9b00110>. Acesso em: 08 abr. 2024.

DA SILVA FILHO, P.M.; ANDRADE, A. L; LOPES, J. B.A.C; DE AZEVEDO, A.P; ALVES, M.V; FONSECA, S. P.; LOPES, L.G.F; SOUSA, E.H.S; TEIXEIRA, E.H; LONGHINOTTI, E. The biofilm inhibition activity of a NO donor nanosilica with enhanced antibiotics action. **Int J Pharm**, v 610, 121220, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.121220>. Acesso em: 08 abr. 2024.

DA SILVA FILHO, P.M., PAZ, I.A., NASCIMENTO, N.R.F. DO, ABREU, D.S., LOPES, L.G. DE F., SOUSA, E.H.S., LONGHINOTTI, E. Nitroprusside—Expanding the Potential Use of an Old Drug Using Nanoparticles. **Mol Pharm**, v 20, 6-22, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.2c00661>. Acesso em: 08 abr. 2024.

DENYER, S.P.; HUGO, W.B. the Mode of Action of Tetradecyltrimethyl Ammonium Bromide (CTAB) on Staphylococcus Aureus. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v 29, 66, 1977. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1977.tb11534.x>. Acesso em: 08 abr. 2024.

DEORUKHKAR, S.C.; SAINI, S.; MATHEW, S. Non- albicans *Candida* infection: An emerging threat. **Interdiscip Perspect Infect Dis**, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2014/615958>. Acesso em: 08 abr. 2024.

EGGIMANN, P.; GARBINO, J.; PITTET, D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. **Lancet Infectious Diseases**, v 3, 685-702, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(03\)00801-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(03)00801-6). Acesso em: 08 abr. 2024.

ENYU, X.; XINBO, L.; XUELIAN, C.; HUIMIN, C.; YIN, C.; YAN, C. Construction and performance evaluation of pH-responsive oxidized hyaluronic acid hollow mesoporous silica nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v 257, 128656, 2024. Disponível em: DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.128656. Acesso em: 08 abr. 2024.

FELTZ, W.T. VAN DER; HENNEKAM, M.; BELKUM, A. VAN; ZUUREN, E.J. VAN; PASMANS, S.G.M.A. Prevalence and odds of S taphylococcus aureus carriage in atopic dermatitis: a systematic review and meta-analysis. **British Journal of Dermatology**, v 175, 687–695, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/bjd.14566>. Acesso em: 08 abr. 2024.

FENG, J.; WANG, Z.; SHEN, B.; ZHANG, L.; YANG, X.; HE, N. Effects of template removal on both morphology of mesoporous silica-coated gold nanorod and its biomedical application. **RSC Adv**, v 4, 28683–28690, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c4ra03122a>. Acesso em: 08 abr. 2024.

GAJANAN, K.; TIJARE, S. N. Applications of nanomaterials. **Materials Today: Proceedings**, v 5, 1093-1096, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2017.11.187>. Acesso em: 08 abr. 2024.

GIMÉNEZ, G.; YBARRA, G.; SOLER-ILLIA, G.J.A.A. Preparation of mesoporous silica thin films at low temperature: a comparison of mild structure consolidation and template extraction procedures. **J Solgel Sci Technol**, v 96, 287–296, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10971-020-05410-z>. Acesso em: 08 abr. 2024.

GOMES, E.C.C.; DE CARVALHO, I.M.M.; DIÓGENES, I.C.N.; DE SOUSA, E.H.S.; LONGHINOTTI, E. On the incorporation of Rhodamine B and 2',7'- dichlorofluorescein dyes in silica: Synthesis of fluorescent nanoparticles. **Opt Mater (Amst)**, v 36, 1197–1202, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.optmat.2014.02.028>. Acesso em: 08 abr. 2024.

GÓMEZ-GAVIRIA, M.; MORA-MONTES, H.M. Current aspects in the biology, pathogeny, and treatment of *Candida krusei*, a neglected fungal pathogen. **Infect Drug Resist**, v 13, 1673–1689, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/IDR.S247944>. Acesso em: 08 abr. 2024.

HALDER, S.; YADAV, K.K.; SARKAR, R.; MUKHERJEE, S.; SAHA, P.; HALDAR, S. Alteration of Zeta potential and membrane permeability in bacteria: a study with cationic agents. **Springer plus**, v 4, 1–14, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40064-015-1476-7>. Acesso em: 08 abr. 2024.

HASEEF, H. M. A.; DINESH, S.; PRAKASH, J.; MARVAAN, M. S.; MADASAMY, S.; PANNERSELVAM, B.; VENKATASUBBU, G. D. Calcium oxide/silica nanocomposite and *L. coromandelica* bark incorporated κ -carrageenan/sodium alginate hydrogel for rapid hemostasis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v 254, 127951, 2024. Disponível em: DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.127951. Acesso em: 08 abr. 2024.

HE, X.; CHANG, Z.; CHEN, F.; ZHANG, W.; SUN, M.; SHI, T.; LIU, J.; CHEN, P.; ZHANG, K.; GUAN, S.; ZHAO, Z.; LI, M.; DONG, W. F.; SHAO, D.; YANG, C. Engineering a biomimetic system for hepatocyte-specific RNAi treatment of non-alcoholic fatty liver disease. **Acta Biomaterialia**, v 174, 281-296, 2024. Disponível em: DOI: 10.1016/j.actbio.2023.10.038. Acesso em: 08 abr. 2024.

HENDRIKS, A.; MNICH, M. E.; CLEMENTE, B.; CRUZ, A. R.; TAVARINI, S.; BAGNOLI, F.; SOLDAINI, E. Staphylococcus aureus-specific tissue-resident memory CD4+

T cells are abundant in healthy human skin. **Frontiers in Immunology**, v 12, 642711, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.642711>. Acesso em: 08 abr. 2024.

HENRIQUES, M.; WILLIAMS, D. Pathogenesis and virulence of *Candida albicans* and *Candida glabrata*. **Pathogens**, v 9, 1–3, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/pathogens9090752>. Acesso em: 08 abr. 2024.

HERSH, A.L.; CHAMBERS, H.F.; MASELLI, J.H.; GONZALES, R. National trends in ambulatory visits and antibiotic prescribing for skin and soft-tissue infections. **Arch Intern Med**, v 168, 1585–1591, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/archinte.168.14.1585>. Acesso em: 08 abr. 2024.

HETRICK, E.M.; SHIN, J.H.; PAUL, H.S.; SCHOENFISCH, M.H. Anti-biofilm efficacy of nitric oxide-releasing silica nanoparticles. **Biomaterials**, v 30, 2782–2789, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.01.052>. Acesso em: 08 abr. 2024.

HIRAOU, M.; GUENDOZ, M.; LORRAIN, N.; MOADHEN, A.; HAJI, L.; OUESLATI, M. Spectroscopy studies of functionalized oxidized porous silicon surface for biosensing applications. **Mater Chem Phys**, v 128, 151–156, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2011.02.052>. Acesso em: 08 abr. 2024.

HU, D.; LI, Y.; TENG, W.; LI, F.; LI, L.; LI, M.; WU, Z. pH-responsive mesoporous silica nanorod for high load and oral delivery of insulin. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v 91, 105256, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.105256>. Acesso em: 08 abr. 2024.

HU, J. J.; XIAO, D.; ZHANG, X. Z. Advances in peptide functionalization on mesoporous silica nanoparticles for controlled drug release. **Small**, v 12, 3344–3359, 2016. Disponível em: DOI: 10.1002/sml.201600325. Acesso em: 08 abr. 2024.

HUO, Q.; MARGOLESE, D. I.; STUCKY, G. D. Surfactant control of phases in the synthesis of mesoporous silica-based materials. **Chemistry of Materials**, v 8, 1147–1160, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/cm960137h>. Acesso em: 08 abr. 2024.

ISOMAA B.; BERGMAN, H.; SANDBERG, P. The Binding of CTAB, a Cationic Surfactant, to the Rat Erythrocyte Membrane. **Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)**, v 44, 36–42, 1978. Disponível em: DOI:10.1111/j.1600-0773.1979.tb02292.x. Acesso em: 08 abr. 2024.

IWAMOTO, K.; MORIWAKI, M.; MIYAKE, R.; HIDE, M. Staphylococcus aureus in atopic dermatitis: Strain-specific cell wall proteins and skin immunity. **Allergology International**, v 68, 309–315, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.alit.2019.02.006>. Acesso em: 08 abr. 2024.

JANG, H.; LIM, S.H.; CHOI, J.S.; PARK, Y. Antibacterial properties of cetyltrimethylammonium bromide-stabilized green silver nanoparticles against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Arch Pharm Res**, v 38, 1906–1912, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12272-015-0605-8>. Acesso em: 08 abr. 2024.

JEFFERY-SMITH, A., TAORI, S. K., SCHELENZ, S., JEFFERY, K., JOHNSON, E. M., BORMAN, A., ROHINI, M.; BROWN, C. S. *Candida auris*: a review of the literature. **Clinical microbiology reviews**, 2018. p. 10-1128. Disponível em: DOI: 10.1128/CMR.00029-17. Acesso em: 08 abr. 2024.

JENNINGS, M.C.; MINBIOLE, K.P.C.; WUEST, W.M. Quaternary Ammonium Compounds: An Antimicrobial Mainstay and Platform for Innovation to Address Bacterial Resistance. **ACS Infect Dis**, v 1, 288–303, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.5b00047>. Acesso em: 08 abr. 2024.

KASSEM, A. M.; ALMUKAINZI, M.; FARIS, T. M.; IBRAHIM, A. H.; ANWAR, W.; ELBAHWY, I. A.; EL-GAMAL F.R.; ZIDAN, M.F.; AKL M. A.; ABD-ELGAWAD, A. M.; ELSHAMY, A.; ELMOWAFY, M. A pH-sensitive silica nanoparticles for colon-specific delivery and controlled release of catechin: Optimization of loading efficiency and in vitro release kinetics. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v 192, 106652, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2023.106652>. Acesso em: 08 abr. 2024.

KHAMENEH, B., DIAB, R., GHAZVINI, K., BAZZAZ, B. S. F. Breakthroughs in bacterial resistance mechanisms and the potential ways to combat them. **Microbial pathogenesis**, 2016. p. 32-42. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.02.009>. Acesso em: 08 abr. 2024.

KHOT, L. R.; SANKARAN, S.; MAJA, J. M.; EHSANI, R.; SCHUSTER, E. W. Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: a review. **Crop protection**, v 35, 64-70, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.01.007>. Acesso em: 08 abr. 2024.

KOSTAKIOTI, M.; HADJIFRANGISKOU, M.; HULTGREN, S. J. Bacterial biofilms: development, dispersal, and therapeutic strategies in the dawn of the postantibiotic era. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v 3, 2013. Disponível em: DOI: 10.1101/cshperspect.a010306. Acesso em: 08 abr. 2024.

KOTEY, F.C.; DAYIE, N.T.; TETTEH-UARCOO, P.B.; DONKOR, E.S. *Candida* Bloodstream Infections: Changes in Epidemiology and Increase in Drug Resistance. **Infectious Diseases: Research and Treatment**, v 14, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/11786337211026927>. Acesso em: 08 abr. 2024.

KUMAR, R.; CHEN, H.T.; ESCOTO, J.L.V.; LIN, V.S.Y.; PRUSKI, M. Template removal and thermal stability of organically functionalized mesoporous silica nanoparticles.

Chemistry of Materials, v 18, 4319–4327, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/cm060598v>. Acesso em: 08 abr. 2024.

KUNC, F.; BALHARA, V.; SUN, Y.; DAROSZEWSKA, M.; JAKUBEK, Z. J.; HILL, M.; JOHNSTON, L. J. Quantification of surface functional groups on silica nanoparticles: Comparison of thermogravimetric analysis and quantitative NMR. **Analyst**, v 144, 5589–5599, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C9AN01080G>. Acesso em: 08 abr. 2024.

LAPA, S.A.; KLOCHIKHINA, E.S.; MIFTAKHOV, R.A.; ZOLOTOV, A.M. Multiplex PCR for Identification of Bacterial Pathogens of Infectious Pneumonia. **Russ J Bioorg Chem**, v 46, 859–861, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1134/S1068162020050131>. Acesso em: 08 abr. 2024.

LARSSON, D. G.; FLACH, C. F. Antibiotic resistance in the environment. **Nature Reviews Microbiology**, v 20, 257–269, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00649-x>. Acesso em: 08 abr. 2024.

LAU, I.P.; CHEN, H.; WANG, J.; ONG, H.C.; LEUNG, K.C.; HO, H.P.; KONG, S.K. In vitro effect of CTAB- and PEG-coated gold nanorods on the induction of eryptosis/erythroptosis in human erythrocytes. **Nanotoxicology**, v 6, 847–856, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/17435390.2011.625132>. Acesso em: 08 abr. 2024.

LECHARTIER, B.; HARTKOORN, R.C.; COLE, S.T. In Vitro Combination Studies of Benzothiazinone Lead Compound BTZ043 against Mycobacterium tuberculosis. **Antimicrob Agents Chemother**, v 56, 5790–5793, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AAC.01476-12>. Acesso em: 08 abr. 2024.

LEE, A. S.; DE LENCASTRE, H.; GARAU, J.; KLUYTMANS, J.; MALHOTRA-KUMAR, S.; PESCHEL, A.; HARBARTH, S. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus. **Nature reviews Disease primers**, v 4, 1–23, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.33>. Acesso em: 08 abr. 2024.

LEONG, J.; YANG, C.; TAN, J.; TAN, B.Q.; HOR, S.; HEDRICK, J.L.; YANG, Y.Y. Combination of guanidinium and quaternary ammonium polymers with distinctive antimicrobial mechanisms achieving a synergistic antimicrobial effect. **Biomater Sci**, v 8, 6920–6929, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/d0bm00752h>. Acesso em: 08 abr. 2024.

LI, H.; CHEN, X.; SHEN, D.; WU, F.; PLEIXATS, R.; PAN, J. Functionalized silica nanoparticles: classification, synthetic approaches and recent advances in adsorption applications. **Nanoscale**, v 13, 15998–16016, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/D1NR04048K>. Acesso em: 08 abr. 2024.

LIN, H.P.; MOU, C.Y. Structural and morphological control of cationic surfactant-templated mesoporous silica. **Acc Chem Res**, v 35, 927–935, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ar000074f>. Acesso em: 08 abr. 2024.

LIN, Y.C.; LIN, C.F.; ALALAIWE, A.; WANG, P.W.; FANG, Y.P.; FANG, J.Y. UV filter entrapment in mesoporous silica hydrogel for skin protection against UVA with minimization of percutaneous absorption. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v 122, 185–194, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.07.013>. Acesso em: 08 abr. 2024.

LIN, Y.S.; HAYNES, C.L. Impacts of Mesoporous Silica Nanoparticle Size, Pore Ordering, and Pore Integrity on Hemolytic Activity. **J Am Chem Soc**, v 132, 4834–4842, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/ja910846q>. Acesso em: 08 abr. 2024.

LIU, T.; LIU, Y.; LIU, M.; WANG, Y.; HE, W.; SHI, G.; HU, X.; ZHAN, R.; LUO, G.; XING, M.; WU, J. Synthesis of graphene oxide-quaternary ammonium nanocomposite with synergistic antibacterial activity to promote infected wound healing. **Burns Trauma**, v 6, 1–23, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s41038-018-0115-2>. Acesso em: 08 abr. 2024.

LU, F.; ASTRUC, D. Nanocatalysts and other nanomaterials for water remediation from organic pollutants. **Coordination Chemistry Reviews**, v 408, 213180, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213180>. Acesso em: 08 abr. 2024.

LY-CHATAIN, M.H.; MOUSSAOUI, S.; VERA, A.; RIGOBELLO, V.; DEMARIGNY, Y. Antiviral effect of cationic compounds on bacteriophages. **Front Microbiol**, v 4, 1–6, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00046>. Acesso em: 08 abr. 2024.

MA, X.; LEE, N.; OH, H.; KIM, J.; RHEE, C.; PARK, K.; KIM, S. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects Surface modification and characterization of highly dispersed silica nanoparticles by a cationic surfactant. **Colloids Surf A Physicochem Eng Asp**, v 358, 172–176, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2010.01.051>. Acesso em: 08 abr. 2024.

MAD SALIM, M.; NIK MALEK, N.A.N.; RAMLI, N.I.; MOHD HANIM, S.A.; HAMDAN, S. Antibacterial activity of CTAB-modified zeolite NaY with different CTAB loading. *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*. **Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences**, v 10, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.11113/mjfas.v10n3.267>. Acesso em: 08 abr. 2024.

MAZARI, S.A.; ALI, E.; ABRO, R.; KHAN, F.S.A.; AHMED, I.; AHMED, M.; NIZAMUDDIN, S.; SIDDIQUI, H.T.; HOSSAIN, N.; MUBARAK, N.M.; SHAH, A. Nanomaterials: Applications, waste-handling, environmental toxicities, and future challenges—A review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v 9, 105028, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105028>. Acesso em: 08 abr. 2024.

MAROK, F.Z.; WOJTYNIAK, J.G.; FUHR, L.M.; SELZER, D.; SCHWAB, M.; WEISS, J.; HAEFELI, W.E.; LEHR, T. A Physiologically Based Pharmacokinetic Model of Ketoconazole and Its Metabolites as Drug–Drug Interaction Perpetrators. **Pharmaceutics**, v 15, 679, 2023. Disponível em:

<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020679>. Acesso em: 08 abr. 2024.

MCCANN, M.T.; GILMORE, B.F.; GORMAN, S.P. Staphylococcus epidermidis device-related infections: pathogenesis and clinical management. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v 60, 1551–1571, 2008. Disponível em:

<https://doi.org/10.1211/jpp/60.12.0001>. Acesso em: 08 abr. 2024.

MCDUGAL, L.K.; CAREY, R.B.; PH, D.; TALAN, D.A. Methicillin-Resistant *S. aureus* Infections among Patients in the Emergency Department. **N Engl J Med**, v 355, 666-674, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa055356>. Acesso em: 08 abr. 2024.

MELO, L.D.; PALOMBO, R.R.; PETRI, D.F.S.; BRUNS, M.; PEREIRA, E.M.A.; CARMONA-RIBEIRO, A.M. Structure-activity relationship for quaternary ammonium compounds hybridized with poly(methyl methacrylate). **ACS Appl Mater Interfaces**, v 3, 1933–1939, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/am200150t>. Acesso em: 08 abr. 2024.

METIN, C. O.; LAKE, L. W.; MIRANDA, C. R.; NGUYEN, Q. P. Stability of aqueous silica nanoparticle dispersions. **Journal of Nanoparticle Research**, v 13, 839-850, 2011.

Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11051-010-0085-1>. Acesso em: 08 abr. 2024.

MILLER, M. B.; BASSLER, B. L. Quorum sensing in bacteria. **Annual Reviews in Microbiology**, 165-199, 2001. Disponível em: DOI: 10.1146/annurev.micro.55.1.165. Acesso em: 08 abr. 2024.

MINAS, K.; MCEWAN, N.R.; NEWBOLD, C.J.; SCOTT, K.P. Optimization of a high-throughput CTAB-based protocol for the extraction of qPCR-grade DNA from rumen fluid, plant and bacterial pure cultures. **FEMS Microbiol Lett**, v 325, 162–169, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02424.x>. Acesso em: 08 abr. 2024.

MURRAY, C. J.; IKUTA, K. S.; SHARARA, F.; SWETSCHINSKI, L.; AGUILAR, G. R.; GRAY, A.; TASAK, N. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **The Lancet**, v 399, 629-655, 2022. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0). Acesso em: 08 abr. 2024.

NAMVAR, A. E., BASTARAHANG, S., ABBASI, N., GHEHI, G. S., FARHADBAKHTIARIAN, S., AREZI, P., HOSSEINI M., BARAVATI S.Z., JOKAR Z., CHERMAHIN, S. G. Clinical characteristics of Staphylococcus epidermidis: a systematic

review. **GMS hygiene and infection control**, 2014. Disponível em: DOI: 10.3205/dgkh000243. Acesso em: 08 abr. 2024.

NAVES, A.F.; PALOMBO, R.R.; CARRASCO, L.D.M.; CARMONA-RIBEIRO, A.M. Antimicrobial particles from emulsion polymerization of methyl methacrylate in the presence of quaternary ammonium surfactants. **Langmuir**, v 29, 9677–9684, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/la401527j>. Acesso em: 08 abr. 2024.

NGUYEN, T.H.; PARK, M.D.; OTTO, M. Host response to *Staphylococcus epidermidis* colonization and infections. **Front Cell Infect Microbiol**, v 7, 1–7, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00090>. Acesso em: 08 abr. 2024.

NISHIO, E. Diffuse reflectance infrared Fourier transform spectral study of the interaction of 3-aminopropyltriethoxysilane on silica gel. Behavior of amino groups on the surface. **Colloid Polym. Sci**, v 275, 744–753, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s003960050143>. Acesso em: 08 abr. 2024.

NUNES, E.D.; VILLELA, A.D.; BASSO, L.A.; TEIXEIRA, E.H.; ANDRADE, A.L.; VASCONCELOS, M.A.; DO NASCIMENTO NETO, L.G.; GONDIM, A.C.S.; DIÓGENES, I.C.N.; ROMO, A.I.B.; NASCIMENTO, O.R.; ZAMPIERI, D.; PAULO, T.F.; DE CARVALHO, I.M.M.; DE FRANÇA LOPES, L.G.; SOUSA, E.H.S. Light-induced disruption of an acyl hydrazone link as a novel strategy for drug release and activation: isoniazid as a proof-of-concept case. **Inorg Chem Front**, v 7, 859–870, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c9qi01172b>. Acesso em: 08 abr. 2024.

ODDS, F.C. Synergy, antagonism, and what the checkerboard puts between them. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v 52, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jac/dkg301>. Acesso em: 08 abr. 2024.

OTTO, M. Molecular basis of *Staphylococcus epidermidis* infections. **Seminars in immunopathology**, v. 34, 201-214, 2012. Disponível em: DOI: 10.3205/dgkh000243. Acesso em: 08 abr. 2024.

PANDIAN, S.K. Evaluation of cetyltrimethylammonium bromide as a potential short-term preservative agent for stripped goat skin. **World J. Microbiol. Biotechnol**, v 25, 901–907, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11274-009-9969-6>. Acesso em: 08 abr. 2024.

PATEL J.B.; COCKERILL R.F.; BRADFORD A.P.; ELIOPOULOS M.G.; HINDLER A.J.; JENKINS G.S.; LEWIS S.J.; LIMBAGO B.; MILLER A.L.; NICOLAU P.D.; PWELL M.; SWENSON M.J.; TRACZEWSKI M.M.; TURNIDGE J.D.; M07-A10: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Tenth Edition. **CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)**, v35, 2015.

PETREANU, I.; NICULESCU, V. C.; ENACHE, S.; IACOB, C.; TEODORESCU, M. Structural Characterization of Silica and Amino-Silica Nanoparticles by Fourier Transform

Infrared (FTIR) and Raman Spectroscopy. **Analytical Letters**, v 56, 390-403, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00032719.2022.2083144>. Acesso em: 08 abr. 2024.

ROSATO, A.; VITALI, C.; LAURENTIS, N. D.; ARMENISE, D.; ANTONIETTA, M. Antibacterial effect of some essential oils administered alone or in combination with Norfloxacin. **Phytomedicine**, v 14, 727–732, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2007.01.005>. Acesso em: 08 abr. 2024.

ROY, K. US Food and Drug Administration GRAS Substances (SCOGS) Database—Select Committee on GRAS Substances (SCOGS) Opinion: Silicates, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1190/1.4761919>. Acesso em: 08 abr. 2024.

RUHNKE, M. Epidemiology of *Candida albicans* Infections and Role of Non-*Candida albicans* Yeasts. **Current Drug Targets**, v 7, 495-504, 2006. <https://doi.org/10.2174/138945006776359421>. Acesso em: 08 abr. 2024.

RYU, H.J.; SEONG, N.W.; SO, B.J.; SEO, H.S.; KIM, J.H.; HONG, J.S.; PARK, M.K.; KIM, M.S.; KIM, Y.R.; CHO, K.B.; SEO, M.Y.; KIM, M.K.; MAENG, E.H.; SON, S.W. Evaluation of silica nanoparticle toxicity after topical exposure for 90 days. **Int J Nanomedicine**, v 9, 127–136, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/IJN.S57929>. Acesso em: 08 abr. 2024.

SAMARANAYAKE, Y. H.; SAMARANAYAKE, L. P. *Candida krusei*: biology, epidemiology, pathogenicity and clinical manifestations of an emerging pathogen. **Journal of medical microbiology**, 295-310, 1994. Disponível em: DOI: 10.1099/00222615-41-5-295. Acesso em: 08 abr. 2024.

SANDLE, T. Bacterial Adhesion: an Introduction - **Scientific Figure on ResearchGate**, 2013. Disponível em: https://www.researchgate.net/figure/Graphic-Illustrating-the-Process-of-Biofilm-Formation-image-C-Creative-Commons-Library_fig1_239735127. Acesso em 4 abril de 2024.

SANDS, J.A. Virucidal activity of cetyltrimethylammonium bromide below the critical micelle concentration. **FEMS Microbiol Lett**, v 36, 261–263, 1986. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1986.tb01706.x>. Acesso em: 08 abr. 2024.

SAPINO, S.; UGAZIO, E.; GASTALDI, L.; MILETTO, I.; BERLIER, G.; ZONARI, D.; OLIARO-BOSSO, S. Mesoporous silica as topical nanocarriers for quercetin: Characterization and in vitro studies. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v 89, 116–125, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2014.11.022>. Acesso em: 08 abr. 2024.

SHARMA, A.; TIWARI, S.; KANTI, M.; LOUIS, J. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2): a global pandemic and treatment strategies. **Int J Antimicrob**

Agents, v 56, 106054, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106054>. Acesso em: 08 abr. 2024.

SHIMIZU, I.; OKABAYASHI, H.; TAGA, K.; NISHIO, E.; O'CONNOR, C.J. Diffuse reflectance infrared Fourier transform spectral study of the thermal and adsorbed-water effects of a 3-aminopropyltriethoxysilane layer modified onto the surface of silica gel. **Vib Spectrosc**, v 14, 113–123, 1997. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0924-2031\(97\)00002-7](https://doi.org/10.1016/S0924-2031(97)00002-7). Acesso em: 08 abr. 2024.

SINGH, L. P.; BHATTACHARYYA, S. K.; KUMAR, R.; MISHRA, G.; SHARMA, U.; SINGH, G.; AHALAWAT, S. Sol-Gel processing of silica nanoparticles and their applications. **Advances In Colloid And Interface Science**, v 214, 17-37, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2014.10.007>. Acesso em: 08 abr. 2024.

STEVENS, E. V.; CARPENTER, A. W.; SHIN, J. H.; LIU, J.; DER, C. J.; SCHOENFISCH, M. H. Nitric oxide-releasing silica nanoparticle inhibition of ovarian cancer cell growth. **Molecular pharmaceuticals**, v 7, 775-785, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/mp9002865>. Acesso em: 08 abr. 2024.

SU, G.; YANG, C.; ZHU, J.J. Fabrication of gold nanorods with tunable longitudinal surface plasmon resonance peaks by reductive dopamine. **Langmuir**, v 31, 817–823, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/la504041f>. Acesso em: 08 abr. 2024.

SUI, Z.; CHEN, X.; WANG, L.; CHAI, Y.; YANG, C.; ZHAO, J. An improved approach for synthesis of positively charged silver nanoparticles. **Chem Lett**, v 34, 100–101, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1246/cl.2005.100>. Acesso em: 08 abr. 2024.

STÖBER, W.; FINK, A.; Bohn, E. Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range. **Journal of colloid and interface science**, 26, 62-69, 1968. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0021-9797\(68\)90272-5](https://doi.org/10.1016/0021-9797(68)90272-5). Acesso em: 08 abr. 2024.

SZMYD, D. Persistent skin colonization with *Staphylococcus aureus* in atopic dermatitis: relationship to clinical and immunological parameters. **Clinical & Experimental Allergy**, v 35, 448–455, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2005.02210.x>. Acesso em: 08 abr. 2024.

TALAPKO, J., JUZBAŠIĆ, M., MATIJEVIĆ, T., PUSTIJANAC, E., BEKIĆ, S., KOTRIS, I., ŠKRLEC, I. *Candida albicans*—the virulence factors and clinical manifestations of infection. **Journal of Fungi**, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof7020079>. Acesso em: 08 abr. 2024.

TANG, F., LI, L., CHEN, D., 2012. Mesoporous silica nanoparticles: Synthesis, biocompatibility and drug delivery. **Advanced Materials** 24, 1504–1534. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/adma.201104763>. Acesso em: 08 abr. 2024.

TIMOFEEVA, L.; KLESHCHEVA, N. Antimicrobial polymers: Mechanism of action, factors of activity, and applications. **Appl Microbiol Biotechnol**, v 89, 475–492, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2920-9>. Acesso em: 08 abr. 2024.

VALLET-REGÍ, M.; SCHÜTH, F.; LOZANO, D.; COLILLA, M.; MANZANO, M. Engineering mesoporous silica nanoparticles for drug delivery: where are we after two decades? **Chemical Society Reviews**, v 51, 5365-5451, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/D1CS00659B>. Acesso em: 08 abr. 2024.

VANSANT, E.F.; VOORT, P. VAN DER; VRANCKEN, K.C. Characterization and Chemical Modification of the Silica Surface. **Elsevier Science**, 1995. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/bookseries/studies-in-surface-science-and-catalysis/vol/93/suppl/C>. Acesso em: 08 abr. 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, **World Health Organization**. WHO fungal priority pathogens list to guide research, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>. Acesso em 04 abr.2024.

WU, S.H.; LIN, H.P. Synthesis of mesoporous silica nanoparticles. *Chem Soc Rev*, v 42, 3862–3875, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c3cs35405a>. Acesso em: 08 abr. 2024.

XU, D.; FENG, J.; CHE, S. An insight into the role of the surfactant CTAB in the formation of microporous molecular sieves. **Dalton Transactions**, v 43, 3612–3617, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c3dt53308e>. Acesso em: 08 abr. 2024.

YANG, L.; YERGESHOV, A. A.; AL-THAHER, Y.; AVDOKUSHINA, S.; STATSENKO, E.; ABDULLIN, T. I.; PROKOPOVICH, P. Nanocomposite orthopaedic bone cement combining long-acting dual antimicrobial drugs. **Biomaterials Advances**, 213538, 2023. Disponível em: DOI: 10.1016/j.bioadv.2023.213538. Acesso em: 08 abr. 2024.

YILDIRIM, A.; OZGUR, E.; BAYINDIR, M. Impact of mesoporous silica nanoparticle surface functionality on hemolytic activity, thrombogenicity and non-specific protein adsorption. **J Mater Chem B**, v 1, 1909–1920, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c3tb20139b>. Acesso em: 08 abr. 2024.

YU, T.; MALUGIN, A.; GHANDEHARI, H. Impact of silica nanoparticle design on cellular toxicity and hemolytic activity. **ACS Nano**, v 5, 5717–5728, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/nn2013904>. Acesso em: 08 abr. 2024.

ZHOU, C.; WANG, H.; BAI, H.; ZHANG, P.; LIU, L.; WANG, S.; WANG, Y. Tuning Antibacterial Activity of Cyclodextrin-Attached Cationic Ammonium Surfactants by a

Supramolecular Approach. **ACS Appl Mater Interfaces**, v 9, 31657–31666, 2017.
Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsami.7b11528>. Acesso em: 08 abr. 2024.