

Atividade antibiofilme de filmes finos a base de pentóxido de nióbio contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia Coli*

CARLA MARCELINO TRASSANTE¹; SÉRGIO CAVA²; RAMON DADALTO CARVALHO³; INAIARA LEITE RODRIGUES⁴; JANICE LUHERING GIONGO⁵; RODRIGO DE ALMEIDA VAUCHER⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – carla.farmaceutica@outlook.com

²Univerdidade Federal de Pelotas– sergiocava@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas - ramondadaltocarvalho@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas - inaiaraleite68@gmail.com

⁵Universidade Federal do Rio Grande – janicegiongo@hotmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – rodvaucher@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

Biofilmes são comunidades bacterianas associadas à superfícies, com importante papel na resistência microbiana. Uma característica definidora de um biofilme é a presença da matriz extracelular, composta de substâncias poliméricas extracelulares secretadas pelas células que vivem em seu interior, e que dificulta a morte das bactérias colonizadoras. (JING e BASSLER, 2019). As infecções provocadas pela formação de biofilmes trazem uma problemática preocupante à saúde humana atualmente. Somente nos Estados Unidos, aproximadamente 1,7 milhões de infecções hospitalares estão associadas a formação de biofilmes, resultando em um prejuízo econômico em torno de 11 bilhões de dólares por ano (MAKABENTA et al., 2021). Dentre os micro-organismos comumente associados as formação desses biofilmes estão bactérias como o *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) e *Escherichia coli* (*E.coli*).

O Nióbio (Nb) é um elemento químico de número atômico 41 e 92,90637 unidades de massa atômica. Na área da saúde, o nióbio tem sido usado em implantes biomédicos, além de apresentar outras atividade como antivirais, antibacterianos, e em alguns estudos para o tratamento de tumores (OLIVEIRA et al., 2023). Estudos sobre a utilização do Nb nesta área vêm sendo desenvolvidos com sucesso. Tais estudos sugerem a utilização para o revestimento de materias médicos com o objetivo de melhorar tanto sua ação antimicrobiana, quanto as propriedades biológicas de próteses dentárias e ortopédicas (VASCONCELOS et al., 2023; GE et al., 2020; SENOCKACK et al., 2021; LEITUNE et al., 2013; HAMMAMI et al., 2023; RAJAN, DAS e AROCKIARAJAN, 2022, MORETO et al., 2021).

Neste estudo avaliamos a ação de filmes finos de pentóxido de nióbio (Nb₂O₅) na formação de biofilmes bacterianos de *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) e *Escherichia coli* (*E. coli*).

2. METODOLOGIA

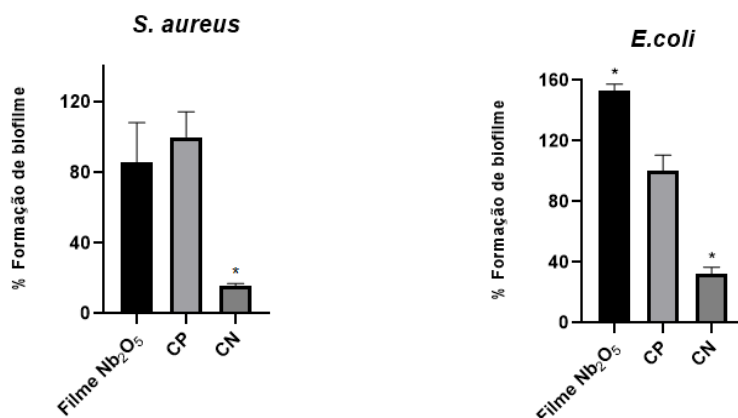
A primeira etapa do estudo foi realizada a produção dos filmes finos a base de Nb₂O₅. As amostras utilizadas foram as seguintes: vidro recoberto com filme de Nb₂O₅ e vidro recoberto com filme a base de sílica (SiO₂). Os filmes foram desenvolvidos no laboratório de Crescimento de Cristais Avançado e Fotônica (CCAF) da Engenharia de Materiais da UFPel.

Para o ensaio de formação de biofilme foram utilizadas placas de 6 poços nas quais as amostras ficaram submersas em 4 mL de caldo Brain Heart Infusion (BHI) enriquecido com 2% de glicose e 400 µL de inóculo, preparado de acordo com a escala de turidez 0.5 de Mc Farland. Os tratamentos foram compostos de

3 grupos distintos: amostra (filme de Nb₂O₅, caldo e inóculo), controle positivo (filme de SiO₂, caldo e inóculo) e controle negativo (filme de SiO₂ e caldo). A amostra permaneceu incubada sob agitação durante 48 horas a 37°C. Após 48 horas foi realizada a revelação do biofilme através do método de cristal violeta. As amostras foram lidas em espectrofotômetro a 570nm e as absorbâncias determinadas para cada grupo. Para as análises estatísticas foi utilizado o teste ANOVA-One way.

3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após lidas as absorbâncias de cada amostra obtivemos o seguinte gráfico:



É possível notar que houve formação de biofilme nas duas amostras testadas. Para *S. Aureus* obtivemos o valor de $p = 0,6109$, demonstrando que não houve diferença significativa entre amostra e CP. Para *E. coli* o valor de $p = 0,001$ indicando diferença significativa entre amostra e CP. Estudos mostram que a maioria das cepas de *Staphylococcus aureus* pode crescer como um biofilme multicelular, capacidade esta de extrema importância para infecções clínicas (GROSSMAN, BURGIN e RICE, 2021; LIU, ZHANG e JI, 2020; BAI et al., 2023) o que vem de encontro aos nossos resultados. Adamus-Białek, Kubiak e Czerwionka (2015) analisaram a formação de biofilme de 115 cepas de *E. coli* sob diferentes condições de crescimento e puderam concluir que a maioria das células bacterianas prefere mesmo viver em uma comunidade de biofilme sob as difíceis condições ambientais. A literatura nos traz exemplos de estudos realizados com filmes de pentóxido de nióbio associado a elementos químicos como prata, cobre e zinco, por exemplo (KUHTEL et al, 2016; BAENA et al., 2006; TALEBPOUR et al., 2024) porém não menciona a efetividade do pentóxido de nióbio puro, validando o que foi apresentado em nosso estudo.

4.CONCLUSÕES

A partir dos resultados observados acima fica demonstrado que existe a capacidade de formação de biofilme microbiano nas amostras revestidas com filme de pentóxido de nióbio, atestando assim que este não possui ação antibiofilme. Para *S. aureus* é possível notar uma capacidade de formação semelhante ao CP, enquanto que, para a *E. coli* foi demonstrado que existe uma formação significativamente maior em relação ao CP. Mais estudos são necessários para a utilização de compostos com atividade antimicrobiana que possam ser introduzidos nesses filmes na tentativa de inibir a formação dessas bactérias. Na próxima etapa será aplicada terapia fotodinâmica a fim de verificar se existe potencialização na

ação antibiofilme, além de realizar testes com filmes de pentóxido de nióbio dopado com prata (Ag) e zinco (Zn).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMUS-BIAŁEK, W.; KUBIAK, A.; CZERWONKA, G. Analysis of uropathogenic *Escherichia coli* biofilm formation under different growth conditions. **Acta Biochim Pol.** 2015;62(4):765-71. doi: 10.18388/abp.2015_1127. Epub 2015 Dec 10. PMID: 26665185
- BAI, X.; SHEN, Y.; ZHANG, T.; MENG, R.; ZHANG, Y.; DENG, Y.; GUO, N. Anti-biofilm activity of biochanin A against *Staphylococcus aureus*. **Appl Microbiol Biotechnol.** 2023 Feb;107(2-3):867-879. doi: 10.1007/s00253-022-12350-x. Epub 2022 Dec 31. PMID: 36585511.
- BAENA, M. I.; MÁRQUEZ, M. C.; MATRES, V.; BOTELLA, J.; VENTOSA, A. Bactericidal activity of copper and niobium-alloyed austenitic stainless steel. **Curr Microbiol.** 2006 Dec;53(6):491-5. doi: 10.1007/s00284-006-0193-4. Epub 2006 Oct 26. PMID: 17072670.
- GE, J.; WANG, F.; XU, Z.; SHEN, X.; GAO, C.; WANG, D.; HU, G.; GU, J.; TANG, T.; WEI, J. Influences of niobium pentoxide on roughness, hydrophilicity, surface energy and protein absorption, and cellular responses to PEEK based composites for orthopedic applications. **J Mater Chem B.** 2020 Apr 1;8(13):2618-2626. doi: 10.1039/c9tb02456e. PMID: 32129420.
- HAMMAMI, I.; GAVINHO, S. R.; PÁDUA, A. S.; LANÇA, M. C.; BORGES, J. P.; SILVA, J. C.; SÁ-NOGUEIRA, I.; JAKKA, S. K.; GRAÇA, M. P. F. Investigação extensiva sobre o efeito da inserção de nióbio nas propriedades físicas e biológicas do vidro bioativo 45S5 para implantes dentários. **Int. J. Mol. Sci.** 2023, 24, 5244. <https://doi.org/10.3390/ijms24065244>.
- HUEMER, M.; MAIRPADY, S. S.; BRUGGER, S. D.; ZINKERNAGEL A. S. Antibiotic resistance and persistence-Implications for human health and treatment perspectives. **EMBO Rep.** Dec 3;21(12):e51034. doi: 10.15252/embr.202051034. 2020. PMID: 33400359; PMCID: PMC7726816
- JING, Y e BASSLER, L. B. Sobrevivendo como uma comunidade: tolerância e persistência a antibióticos em biofilme bacteriano. **Cell Host & Microbe**, Volume 26, Edição 1, 15 – 21, 2019.
- KUEHL, R.; BRUNETTO, P.S.; WOISCHNIG, A. K.; VARISCO, M.; RAJACIC, Z.; VOSBECK, J.; TERRACCIANO, L.; FROMM, K. M.; KHANNA, N. Preventing Implant-Associated Infections by Silver Coating. **Antimicrob Agents Chemother.** 2016 Mar 25;60(4):2467-75. doi: 10.1128/AAC.02934-15. PMID: 26883700; PMCID: PMC4808148.
- LEITUNE, C. B.; COLLARES, F. M.; TAKIMI, A.; DE LIMA, G. B.; PETZHOLD, C. L.; BERGMANN, C, P.; SAMUEL, S. M. W. Niobium pentoxide as a novel filler for dental adhesive resin, **Journal of Dentistry**, Volume 41, Issue 2, 2013, Pages 106-113, ISSN 0300-5712, <https://doi.org/10.1016/j.ident.2012.04.022>.
- MAKABENTA, JMV; PARK, J.; LI, C.-H.; CHATTOPADHYAY, AN; NABAWY, A.; LANDIS, RF; GUPTA, A.; SCHMIDT-MALAN, S.; PATEL, R.; ROTELLO, VM Nanopartículas poliméricas ativas contra biofilmes bacterianos de duas espécies. **Molecules** 2021, 26, 4958. <https://doi.org/10.3390/molecules26164958>
- MORETO, J. A.; GELAMO, R. V.; DA SILVA, M. V.; STEFFEN, T. T.; DE OLIVEIRA, C. J. F.; BURANELLO P. A.; PINTO, M. R. New insights of Nb₂O₅-based coatings on the 316L SS surfaces: enhanced biological responses. **J Mater Sci Mater Med.** 2021 Mar 6;32(3):25. doi: 10.1007/s10856-021-06498-7. PMID: 33675445; PMCID: PMC7936936.

OLIVEIRA, L.; PEREIRA, M.; PACHELI HEITMAN, A.; FILHO, J.; OLIVEIRA, C.; ZIOLEK, M. Nióbio: O Foco na Aplicação Catalítica na Conversão de Biomassa e Derivados de Biomassa. **Moléculas**, 28, 1527. 2023 <https://doi.org/10.3390/molecules28041527>

PULINGAM, T.; PARUMASIVAM, T.; GAZZALI, A. M.; SULAIMAN, A. M.; CHEE, J. Y.; LAKSHMANAN, M.; CHIN, C. F.; SUDESH K. Antimicrobial resistance: Prevalence, economic burden, mechanisms of resistance and strategies to overcome. **Eur J Pharm Sci.** Mar 1;170:106103.2022. doi: 10.1016/j.ejps.2021.106103. Epub 2021 Dec 20. PMID: 34936936.

RAJAN, S. T.; DAS, M.; AROCKIARAJAN, A. Biocompatibility and corrosion evaluation of niobium oxide coated AZ31B alloy for biodegradable implants. **Colloids Surf B Biointerfaces.** 2022 Apr;212:112342. doi: 10.1016/j.colsurfb.2022.112342. Epub 2022 Jan 19. PMID: 35085937

SENOCAK, T. G., EZIRMIK, K. V., AYSIN, F., OZEK, N. S., CENGIZ, S. Niobium-oxynitride coatings for biomedical applications: Its antibacterial effects and in-vitro cytotoxicity, **Materials Science and Engineering: C**, Volume 120, 2021, 111662, ISSN 0928-4931, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111662>

SINGER, A. C.; KIRCHHELLE, C.; ADAM, C.; ROBERTS, P. (Inter)nationalising the antibiotic research and development pipeline, **The Lancet Infectious Diseases**, Volume 20, Issue 2, Pages e54-e62, 2020, ISSN 1473-3099, [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(19\)30552-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(19)30552-3)

VASCONCELOS, L. S. S., PAVANELLO, L.; ZAGHI, M. D. P.; KURY, M.; MATOS, I.C. R.; COGO-MÜLLER, K.; FLOREZ, F. L. E.; M. CAVALLI. Mechanical and antibacterial properties of an experimental flowable composite containing Nb2O5 and NF_TiO2 nanoparticles. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials.** Volume 143, 2023, 105919, ISSN 1751-6161, <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2023.105919>.