



FINOVA 2013

Feira de Inovação Tecnológica



Evento	Salão UFRGS 2013: Feira de Inovação Tecnológica UFRGS – FINOVA2013
Ano	2013
Local	Porto Alegre - RS
Título	DESENVOLVIMENTO DE BIOPRODUTOS COMO ESTRATÉGIA ANTIBIOFILME
Autores	JACQUELINE WEIS BONFANTI ALEXANDRE MENEGHELLO FUENTEFRIA IRENE CLEMES KULKAMP GUERREIRO ROSANE MICHELE DUARTE SOARES Nataly Machado Siqueira
Orientador	DIOGO ANDRE PILGER

Introdução: Os fungos leveduriformes apresentam elevada capacidade de formação de estruturas conhecidas como biofilmes que facilitam o processo de adesão e colonização das cepas constituintes sobre o hospedeiro ou material inerte. O desenvolvimento de um bioproduto que tenha capacidade de fixação física em um local com potencial para formação de biofilme e que permita a liberação controlada de antifúngico constitui-se em uma estratégia inovadora. O emprego da nanotecnologia é bastante promissor como estratégia antibiofilme em função de apresentar múltiplas vantagens, entre elas aumentar o desempenho de formulações farmacêuticas, aprimorando aspectos relacionados à estabilidade de fármacos veiculados, potencializando a sua ação e melhorando as características biofarmacêuticas. O maior impacto deste trabalho reside em sua potencialidade para formação de um bioproduto que possa ser empregado em larga escala para promoção da atividade antibiofilme de fungos patogênicos em ambientes hospitalares e ambulatoriais. Considerando a elevada prevalência de infecções fúngicas e a formação de biofilmes especialmente em pacientes imunocomprometidos, o objetivo deste trabalho é avaliar a capacidade de filmes poliméricos associados a sistema de nanopartículas (nanocápsulas) com ou sem antifúngicos comerciais funcionarem como suporte para estratégia antibiofilme. **Materiais e métodos:** após longa revisão da literatura, foram elencados dois tipos distintos de polímeros como candidatos para formação dos filmes poliméricos: pullulan e galactomanana e selecionado, inicialmente, o pullulan. Para auxiliar no processo de polimerização, utilizou-se gelatina (*Bovine Skin Powder*, Sigma). Foram preparados filmes poliméricos nas concentrações de gelatina/pullulan de 70/30 (solução A), 50/50 (solução B) e 30/70 (solução C). Em todas as soluções preparadas foi adicionado 5mL uma solução de nanocápsulas de cetoconazol 0,4mg/mL ou nanocápsulas brancas (sem antifúngico) como controle negativo. Foi realizada a solubilização da gelatina em 10 mL de água destilada sob agitação a 45°C por 30 minutos, seguido de solubilização do pullulan em 15mL de água destilada sob agitação a 80°C por 30 minutos, homogeneização das duas soluções no Ultraturrax. Após, adição da solução contendo as nanocápsulas, com nova homogeneização no Ultraturrax. As soluções finais foram colocadas em placa de petri e secas a 25°C até os filmes se formarem. Os ensaios de estabilidade foram realizados utilizando os filmes poliméricos A, B e C imersos em 20mL de caldo Sabouraud e colocados em estufa a 32°C por 6 dias. Para os ensaios biológicos utilizou-se um isolado clínico da espécie *Candida tropicalis* sensível às nanocápsulas de cetoconazol em teste de disco-difusão comercial (20ug/mL). Para a avaliação qualitativa do crescimento fúngico sobre os filmes poliméricos, foi preparado um inóculo de 10mL na concentração de 10⁶ UFC/mL em salina estéril. Após, 1mL deste inóculo foi borrifado sobre os filmes poliméricos e controle que estavam imersos em 20mL de caldo Sabouraud em frasco estéril e incubadas em estufa a 32°C. A análise do crescimento fúngico foi realizado em triplicata através da visualização do crescimento das colônias sobre os filmes poliméricos por até 6 dias. **Resultados e Discussão:** Através do teste de estabilidade observou-se que o filme polimérico de pullulan na solução A se manteve íntegro durante os 6 dias de incubação, ao contrário dos filmes poliméricos das soluções B e C. Na avaliação qualitativa do crescimento fúngico, observou-se que os filmes poliméricos com a solução contendo nanocápsulas de cetoconazol apresentaram menor crescimento fúngico em relação às matrizes sem a solução contendo nanocápsulas de cetoconazol, o que já pode ser evidenciado a partir do segundo dia de incubação, sugerindo o primeiro indício de que os filmes poliméricos com a solução contendo nanocápsulas de cetoconazol apresentam boa capacidade de impedir o crescimento do fungo. Temos como perspectivas futuras ampliar os resultados já realizados, realizar testes quantitativos para avaliar o crescimento fúngico, testes para evidenciar a morte fúngica por Microscopia Eletrônica de Varredura, ensaios de avaliação da cinética de liberação do antifúngico, além da aplicação deste modelo experimental para outras espécies fúngicas. A presente proposta visa também contribuir para o entendimento da epidemiologia dos fungos leveduriformes, bem como fornecer informações precisas sobre o seu potencial de patogenicidade, fundamental para a atualização dos programas de controle de infecção hospitalar bem como para a infectologia. Destaca-se que a bolsista de iniciação tecnológica se envolveu em todas as etapas do projeto, com exceção da produção das nanocápsulas.