

Prospecção Científica e Tecnológica de Nanopartículas Poliméricas de PLGA contendo Antimicrobianos para o Combate às Biofilmes

Scientific and Technological Prospecction of PLGA Polymeric Nanoparticles containing Antimicrobial for Control Biofilms Formation

Lívia Maria do Amorim Costa Gaspar¹; Daniela Almeida Droppa¹; Afonso Celso Silva Dórea²; Francine Ferreira Padilha¹; Maria Lucila Hernández-Macedo¹

¹Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial
Universidade Tiradentes – UNIT – Brasil

amorlivia@gmail.com

danieladroppa@gmail.com

lucyherma@gmail.com

francine_padilha@itp.org.br

²Graduando em Biomedicina

Universidade Tiradentes – UNIT- Brasil

afonsosinho@hotmail.com

Resumo

O biofilme bacteriano é uma associação de microrganismos cujos produtos extracelulares estão aderidos a superfícies bióticas ou abióticas, e geralmente relacionados a infecções crônicas e multirresistência a antibióticos. O tratamento convencional com antibióticos não elimina o biofilme, assim, diversas estratégias vêm sendo estudadas, entre elas a utilização de nanopartículas poliméricas de PLGA (ácido poli láctico-co-glicólico) que tem se mostrado promissoras para a liberação eficaz de fármacos. Nanopartículas, PLGA e biofilmes foram as palavras-chave utilizadas na busca de artigos e patentes utilizando as bases de dados Science direct, WIPO, INPI e EPO. Os resultados da busca nas bases de dados permitiram encontrar 265 registros de patentes e 217 artigos científicos nos últimos 11 anos. A realização da prospecção científica e tecnológica é uma ferramenta indispensável para a cadeia produtiva do conhecimento, sendo necessária para um melhor direcionamento da pesquisa.

Palavras-chave: nanopartículas; PLGA; biofilme; prospecção.

Abstract

Bacterial biofilms are a complex microorganisms association attached to biotic or abiotic surfaces, usually related to chronic infections and multidrug resistance. The conventional treatment with antibiotics does not eradicate the biofilm infections, so various strategies such as the use of polymeric nanoparticles PLGA (lactic-co-glycolic acid poly) showing promise against multidrug-

resistant bacterial biofilm infections. Nanoparticles, PLGA and biofilms were the keywords used in the search for articles and patents using the databases Science Direct, WIPO, INPI and EPO. The searches of the databases resulted in 265 records of patents and 217 scientific articles in the last 11 years. The scientific and technological forecasting is an indispensable tool to chain of knowledge and necessary for better support and guidance in scientific research.

Key-words: nanoparticles; PLGA; biofilm; forecasting.

1. Introdução

As infecções causadas por micro-organismos multirresistentes representam um dos grandes desafios da saúde pública mundial, pois ocasionam elevadas taxas de morbi-mortalidade, aumentam o tempo de internação do paciente e conseqüentemente, os gastos do sistema de saúde (OMS, 2014; BRASIL, 2013).

A multirresistência microbiana é resultado principalmente do uso indiscriminado de antibióticos, que leva ao desenvolvimento de novos mecanismos de resistência, juntamente com capacidade de formação de biofilme dos microrganismos (TOMAS et al., 2016; ABED & COUVREUR, 2014). Entre os patógenos bacterianos responsáveis por infecções humanas comunitárias e/ou hospitalares associados à formação de biofilmes estão *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) e *Pseudomonas aeruginosa* (TORTORA, FUNKE & CASE, 2017; OMS, 2014; GOMES et al., 2014, FRICKS-LIMA et al., 2011; IKONOMIDIS et al., 2009).

O biofilme bacteriano é uma associação de microrganismos e seus produtos extracelulares, que se encontram aderido a superfícies bióticas e abióticas (NAFEE et al., 2013; AZEVEDO & CERCA, 2012). Essa estrutura protege a bactéria contra a ação de fármacos, é altamente hidratada, contem canais que servem para a difusão interna de nutrientes, metabólitos e oxigênio (KAPLAN, 2010; DONLAN, 2002). Essas características fornecem vantagens às células que compõem o biofilme (sésseis) por estarem inseridas em uma matriz extracelular, enquanto as planctônicas, embora móveis e com maior disponibilidade de nutrientes, são mais susceptíveis aos efeitos dos antibióticos e das respostas imunológicas (AZEVEDO & CERCA, 2012; OLSON et al, 2002).

Assim, infecções causadas por bactérias produtoras de biofilme, dificilmente são controladas, já que os agentes antimicrobianos não conseguem penetrar e eliminar o biofilme, agindo apenas nas células planctônicas, prejudicando o tratamento eficiente da infecção (TRENTIN et al., 2013). Desta forma, é imprescindível o desenvolvimento de novas tecnologias para o tratamento de infecções causadas por biofilmes bacterianos.

Como estratégia de combate a biofilmes bacterianos estudos apontam o desenvolvimento de nanocarreadores e/ ou nanofármacos para o tratamento de infecções causadas por diferentes microrganismos (MUNOZ-BONILLA & FERNÁNDEZ-GARCÍA 2012; VAN DE VEN, et al.,

2012; PELGRIFT & FRIEDMAN, 2013; VENKATESH et al., 2015; ZABIHI et al., 2015). Entre os nanocarreadores, as nanopartículas poliméricas (NPs) apresentam alta versatilidade no carregamento de compostos terapêuticos com características físico-químicas diferentes, propiciando a sua eficaz liberação no local de ação, além de melhorar a solubilidade desses compostos em água e favorecer o potencial antimicrobiano (SILVA et al., 2014).

Na síntese de NPs, os polímeros utilizados podem ser classificados em sintéticos (ácido poli (lático) (PLA), ácido poli (lático-*co*-glicólico) (PLGA), poli (ϵ -caprolactona) (PCL) ou naturais (albumina e quitosana), sendo os polímeros sintéticos, como o PLGA, os mais utilizados devido a sua degradabilidade e compatibilidade em meio biológico, além de apresentar alto grau de pureza (MORA-HUERTAS, FESSI, ELAISSARI, 2010). O PLGA atua como transportador coloidal formado a partir de polímeros, destaca-se pela não imunogenicidade ou toxicidade, além de apresentar biocompatibilidade e biodegradabilidade (DIMER et al, 2013), e se comporta como um sistema de liberação sustentada de fármacos (GAO et al, 2011).

NPs de PLGA tem despertado interesse pela capacidade de diminuir a indução de resistência a antibióticos. Uma vez que o tratamento contra infecções pode demandar longos períodos, a eliminação do agente infeccioso só será efetiva se este for exposto o tempo suficiente ao antibiótico. Nesse aspecto, a liberação controlada solucionaria o problema comum da interrupção voluntária do tratamento (MASAK et al, 2014; GAO et al, 2011).

As informações disponíveis sobre a utilização de NPs de PLGA contendo antimicrobianos permitem estudos de prospecção científica- tecnológica e, constituem uma boa ferramenta para a realização de pesquisas que contribuem para o desenvolvimento de novas tecnologias (MACHADO et al., 2014). Diante do exposto, o presente estudo tem o intuito de realizar uma prospecção científica e tecnológica sobre NPs de PLGA contendo antimicrobianos para o combate a biofilmes de agentes patogênicos.

2. Metodologia

Este estudo foi realizado com base a artigos científicos publicados na plataforma online da *ScienceDirect*. Patentes depositadas nas seguintes bases de dados: EPO (European Patent Office), WIPO (World Intellectual Property Organization) e INPI (Instituto Nacional de Propriedade Industrial) também foram investigadas. Na análise no banco de dados do INPI palavras na língua portuguesa foram utilizadas. Para o levantamento de informação nas bases de dados de artigos científicos e patentes foi utilizado o período entre 2005 a 2016, usando as palavras-chave e o operador booleano “and” no campo de busca destinado ao resumo (Tabela 1). Em relação à busca

por patentes foram observados alguns descritivos como: pedidos e ano de depósito por base, países e a classificação Internacional de Patentes (IPC).

Tabela 1 – Palavras-chave utilizadas para pesquisa nas bases de dados

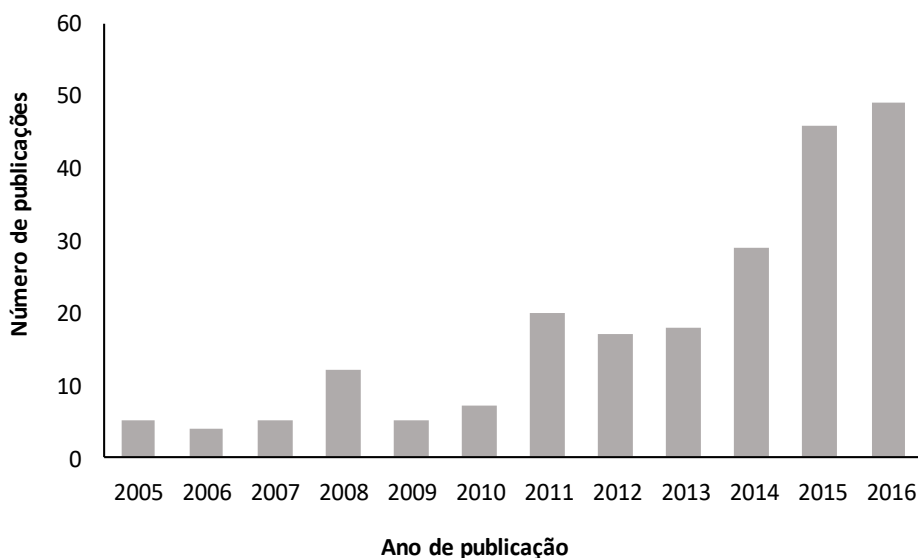
Base de dados	Palavras-chave
<i>ScienceDirect</i>	
INPI	
WIPO	Nanoparticles, PLGA, biofilm
EPO	

Fonte: Autoria própria (2017)

3. Resultados e discussão

As publicações científicas encontradas durante o período de 11 anos na base de dados *ScienceDirect*, utilizando as palavras-chave “nanoparticles and PLGA and biofilm” foram 217 (Figura1). A avaliação das publicações mostrou um incremento constante, principalmente a partir de 2011, comprovando a importância do tema abordado neste estudo.

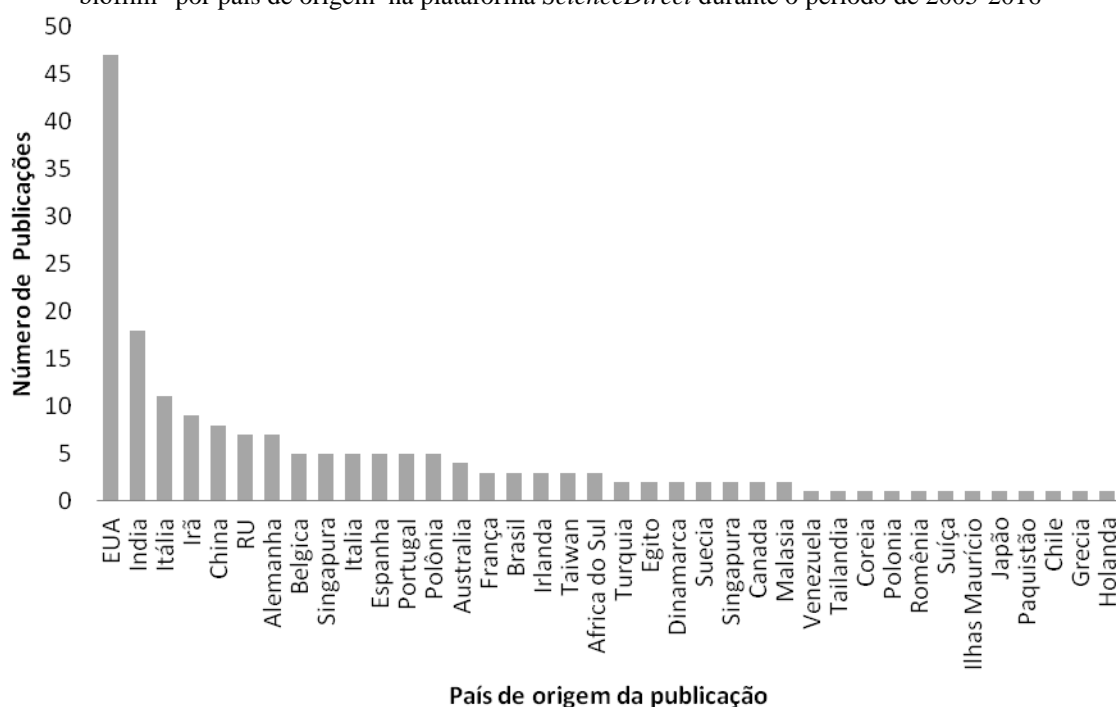
Figura 1 – Resultados encontrados para a busca de artigos pelos termos “nanoparticles and PLGA and biofilm” na plataforma *ScienceDirect* durante o período de 2005-2016



Fonte: Autoria própria (2017)

Foi levantado também a nacionalidade de origem das publicações encontradas na plataforma (Figura 2). É possível constatar que o Estados Unidos foi o país que mais publicou produções científicas a respeito do tema no intervalo analisado, com franca diferença numérica em relação aos demais. Seguiu-se em segundo lugar a Índia, que também se destaca como nação com forte produção acadêmica, seguida pela Itália, representando a Europa, e os países asiáticos Iran e China (Figura 2).

Figura 2 – Distribuição dos resultados encontrados para a busca de artigos pelos termos “nanoparticles and PLGA and biofilm” por país de origem na plataforma *ScienceDirect* durante o período de 2005-2016



Fonte: Autoria própria (2017)

Do total de artigos publicados entre 2005 e 2016, 86 publicações tratam da utilização de nanopartículas de PLGA para a prevenção e / ou tratamento de infecções bacterianas, incluindo aquelas causadas por agentes patogênicos produtores de biofilme.

Os estudos analisados na pesquisa comprovam que NPs de PLGA associadas a compostos antimicrobianos representam uma boa alternativa para o combate a biofilmes de agente patogênicos (BAELO et al., 2015; WU et al., 2014; DIMER et al, 2013), devido as suas propriedades como diâmetro reduzido, direcionamento sítio-específico, biocompatibilidade e biodegradabilidade, conferindo a essas estruturas uma elevada potencialidade para a veiculação de compostos ativos (ZOU et al., 2014; MATHEW et al., 2012).

Com relação aos resultados obtidos para busca de patentes nas três bases de dados (WIPO, EPO e INPI), utilizando as palavras-chave anteriormente mencionadas, foram encontrados resultados de patentes apenas nas bases de dados WIPO, com 265 patentes, e INPI com apenas 2. Nenhuma patente foi encontrada na base de dado EPO quando utilizada as palavras-chave “nanoparticles, PLGA, biofilm”.

Ao correlacionar o número de artigos encontrados com o número de patentes observou-se um acréscimo ao decorrer do tempo, principalmente após 2010, com números semelhantes, porém a maioria das patentes não se refere de forma específica para o desenvolvimento de NP's de PLGA contendo compostos antimicrobianos para o combate de biofilmes de bactérias patogênicas, mas

sim para utilização de polímeros em insumos médico-hospitalares. Esse resultado indica que apesar do alto número de artigos, ainda existe uma carência de patentes nesta área.

A busca na base de dados do INPI revelou apenas duas patentes depositadas no Brasil (Tabela 2), apesar de existirem grupos de pesquisa em nanobiotecnologia no país, o que retrata a deficiência em levar os resultados da pesquisa para o mercado.

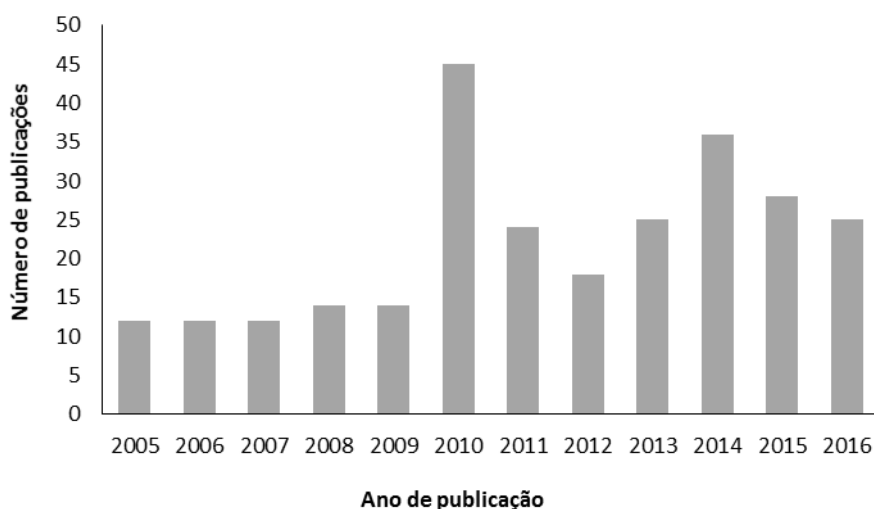
Tabela 2 – Patentes existentes no Brasil com as palavras-chave utilizadas

Processo	Depósito	Título
BR 11 2015 011294 3	15/11/2013	NANOPARTÍCULAS COM POLÍMERO BIODEGRADÁVEL E BIOCOMPATÍVEL PLGA CARREGADAS COM O FÁRMACO DE USO HUMANO PENTOXIFILINA
PI 0810899-4	11/04/2008	FORMULAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PLGA ATIVADAS CARREGADAS COM AGENTE ATIVO PARA SUBSTÂNCIAS NANO-TERAPÊUTICAS ANTICÂNCER DIRECIONAIS.

Fonte: Autoria própria (2017)

Conforme descrito anteriormente, a base de dados com maior número de patentes foi a WIPO (265). Ao analisar o número de patentes por ano, verificou-se que em 2010 houve um maior número de depósitos (45/265), seguido dos anos de 2014 (36/265) e 2015 (28/265) (Figura 3).

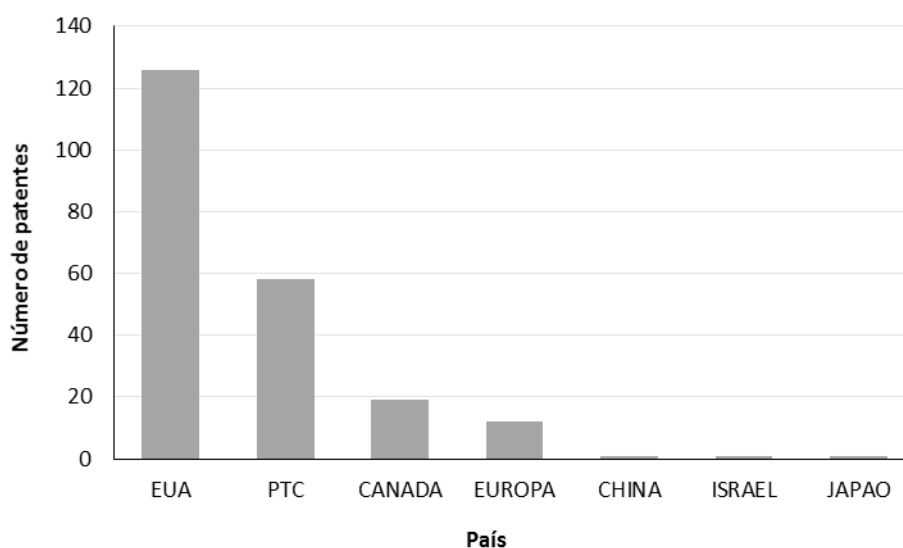
Figura 3 – Resultados encontrados para a busca pelos termos “nanoparticles and PLGA and biofilm” na base de patentes WIPO, durante o período de 2005 a 2016



Fonte: Autoria própria (2017)

Entre os 265 resultados para a busca pelos termos “nanoparticles and PLGA and biofilm” na base de dados da WIPO, os EUA apresentou maior número de patentes depositadas (158/265) seguido pelo Tratado de Cooperação em Matéria de Patentes (PCT) (68/265) e Canadá (19/265) (Figura 4). Esse cenário exalta o domínio das pesquisas tecnológicas pelos países desenvolvidos.

Figura 4 – Resultados encontrados para a busca pelos termos “nanoparticles and PLGA and biofilm” na base de patentes WIPO, quanto aos países depositantes

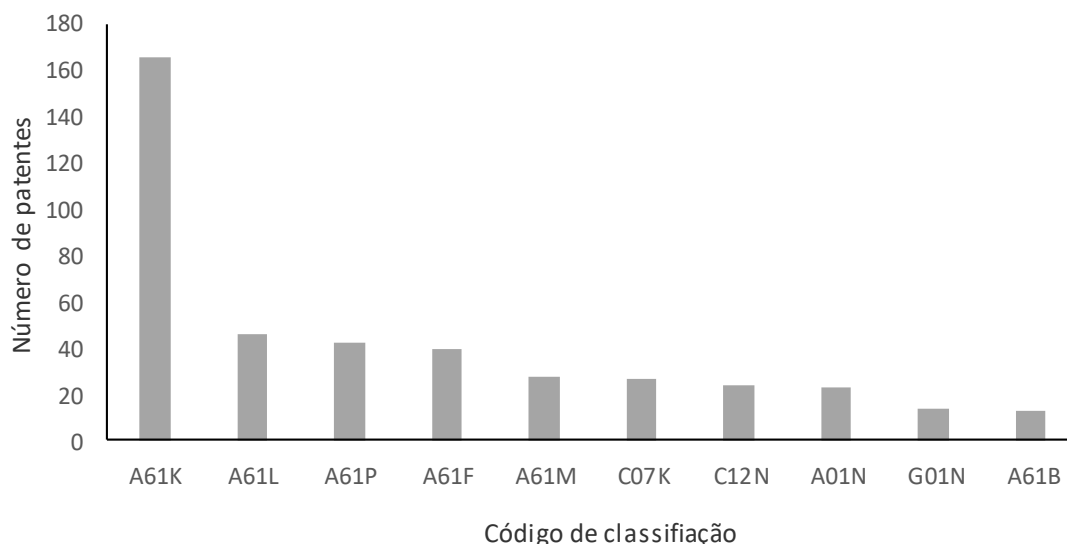


Fonte: Autoria própria (2017)

É possível perceber clara correlação entre o número de produção científica pelos Estados Unidos e o sucesso na geração de patentes americanas, possivelmente devido não só a um forte conhecimento a respeito do assunto, como domínio da tecnologia o que permite um avanço nos estudos. Por sua vez o Tratado de Cooperação em Matéria de Patentes (PCT) permite uma cooperação entre países industrializados e países em desenvolvimento, compreendendo entre seus signatários a Índia e o Irã, países com número significativo de artigos. Este último passou a fazer parte da cooperação em 2013, que coincide com o período de maior crescimento em números de publicações deste país, com 8 artigos publicados a partir de 2014.

Na análise entre as 265 patentes da base de dados do WIPO foram observadas a distribuição dos 10 códigos de classificação internacional (IPC) (Figura 5). O código “A” (necessidades humanas) foi o mais acentuado, contendo 6 classificações referentes a classe “61” (ciência médica ou veterinária e higiene). O código A61K que trata de preparações para finalidades médicas, odontológicas ou higiênicas foi a que prevaleceu na maioria das patentes depositadas (166/265). Esses dados encontrados corroboram com o número de publicações científicas envolvendo NPs de PLGA na área farmacêutica.

Figura 5 – Número de patentes encontradas na base de dados WIPO, de acordo com a IPC no período entre 2005 e 2016



Fonte: Autoria própria (2017)

4. Conclusão

A partir da análise das patentes depositadas no WIPO e INPI pode-se concluir que existe uma tendência ao crescimento de depósitos ao decorrer dos anos, em relação ao uso do PLGA. Em análise dos países depositantes notou-se uma maior concentração naqueles mais desenvolvidos tecnologicamente, sendo dominado pelos Estados Unidos. Cabe ressaltar que o Brasil aparece como detentor de apenas 2 patentes desta tecnologia. Observando o número de artigos publicados relacionados ao PLGA e biofilme, nos últimos 11 anos, observa-se um crescimento exponencial. Estudos de prospecção científica e tecnológica são uma ferramenta indispensável para a cadeia produtiva do conhecimento, sendo importantes para o direcionamento de trabalhos científicos, apontando os caminhos para serem desvendados e a viabilidade da tecnologia na indústria.

Referências

ABED, N., & COUVREUR, P. Nanocarriers for antibiotics: A promising solution to treat intracellular bacterial infections. *International journal of antimicrobial agentes*. 2014; 43(6): 485-496

AZEVEDO, N.F; CERCA, N. Biofilmes: na saúde, no ambiente, na indústria. *Pubindústria*: 2012.

BAELO A, LEVATO R, JULIÁN E, CRESPO A, ASTOLA J, GAVALDÀ J, ENGEL E, MATEOS-TIMONEDA MA, TORRENTS E. Disassembling bacterial extracellular matrix with DNase-coated nanoparticles to enhance antibiotic delivery in biofilm infections. *J Control Release*. 2015; 10(209):150-158.

DIMER, FA.; FRIEDRICH, RB.; BECK, RCR.; GUTERRES, SS.; POHLMANN, AR. Impact of nanotechnology on public health: production of medicines. *Quím. Nova*. 2013; 36(10): 1520-1526..

DONLAN RM. Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis*. 2002; 8:881–890

FRICKS-LIMA, J.; HENDRICKSON, C.M.; ALLGAIER, M.; ZHUO, H.; WIENER-KRONISH, J.P.; LYNCH, S.V.; YANG, K. Differences in biofilm formation and antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from airways of mechanically ventilated patients and cystic fibrosis patients. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2011; 37 (4): 309-15.

GAO, P.; NIE, X.; ZOU, M.; et al. Recent advances in materials for extended-release antibiotic delivery system. *J Antibiot*. 2011; 64: 625–634.

GOMES, A.C.; CARVALHO, P.O.; LIMA, E.T.A.; GOMES, E.T.; VALENÇA, M.P.; CAVALCANTI, A.T.A. Caracterização das infecções relacionadas à assistência à saúde em unidade de terapia intensiva. *Journal of Nursing UFPE on line*. 2014. 8(6):1577-85.

IKONOMIDIS, A.; VASDEKI, A.; KRISTO, I.; MANIATIS, A.N.; TSAKRIS, A.; MALIZOS, K.N.; POURNARAS, S. Association of biofilm formation and methicillin-resistance with accessory gene regulator (*agr*) loci in Greek *Staphylococcus aureus* clones. *Microbial Pathogenesis*. 2009; 47: 341–4.

KAPLAN, J.B. Biofilm dispersal: mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses. *Journal of Dental Research*. 2010; 89: 205–218.

MASAK, Jan; ČEJKOVÁ, Alena; SCHREIBEROVÁ, Olga; ŘEZANK, Tomáš. *Pseudomonas* biofilms: possibilities of their control. *FEMS Microbiology Ecology*. 2014; 89 (1): 1-14.

MATHEW A, FUKUDA T, NAGAOKA Y, HASUMURA T, MORIMOTO H, YOSHIDA Y, MAEKAWA T, VENUGOPAL K, KUMAR S. Curcumin Loaded-PLGA Nanoparticles Conjugated with Tet-1 Peptide for Potential Use in Alzheimer's Disease.. *PLoS One*. 2012; 7(3).

MORA-HUERTAS, C.E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 2010; 385(1-2):113-42.

MUÑOZ-BONILLA, A.; FERNÁNDEZ-GARCÍA, M. Polymeric materials with antimicrobial activity. *Progress in Polymer Science*. 2012; 37: 281– 339.

NAFEE, N. Hypericin nanoparticles thereof for improved in vitro and in vivo antimicrobial photodynamic therapy and wound healing. *International Journal of Pharmaceutics*. 2013; 454 (1): 249–258.

OLSON, M.E.; CERI, H.; MORCK, D.W.; BURET, A.G.; READ, R.R. Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 2002; 66(2): 86-92.

OMS - Organização Mundial de Saúde. Antimicrobial resistance: global report on surveillance, 2014. Disponível em:

<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112647/1/WHO_HSE_PED_AIP_2014.2_eng.pdf>.

Acesso em 05 de junho de 2015

PELGRIFT, R.Y.; FRIEDMAN, A.J. Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2013: 65; 1803–15

SILVA, I.S.M.; SANTOS, R.F.E.P.; MELO, T.V.C.; SILVA A.J.C.; SARMENTO, P.A.; LÚCIO, I.M.L.; CAMPESSATO, E.A.; PADILHA, F.F.; CONSERVA, L.M.; BASTOS, M.L.A. In vitro biological potential of Guanxuma-of-Horn [*Sebastiania corniculata* (Vahl) Mull. Arg.] in infection control. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2014, 6(4):663-669

TORTORA, G; FUNKE, BR; CASE, CL. Microbiologia. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

- THOMAS, N; THORN, C; RICHTER, K; THIERRY, B; PRESTIDGE, C. Efficacy of Poly-Lactic-Co-Glycolic Acid Micro- and Nanoparticles of Ciprofloxacin Against Bacterial Biofilms. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2016; 105(10):3115-22.
- TRENTIN, D. S.; GIORDANI, R. B.; MACEDO, A. J. Biofilmes bacterianos patogênicos: aspectos gerais, importância clínica e estratégias de combate *Revista Liberato*. 2013;14(22):113-238
- VAN DE VEN, H.; PAULUSSEN, C.; FEIJENS, P. B.; MATHEEUSSEN, A.; ROMBAUT, P.; KAYAERT, P.; et al. PLGA nanoparticles and nanosuspensions with amphotericin B: Potent in vitro and in vivo alternatives to Fungizone and AmBisome. *Journal of Controlled Release*, v.161, p. 795-803, 2012.
- VENKATESH, DN, BASKARAN, M., KARRI, VVSR, MANNEMALA, SS, RADHAKRISHNA, K., & GOTI, S. Fabrication and in vivo evaluation of Nelfinavir loaded PLGA nanoparticles for enhancing oral bioavailability and therapeutic effect. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2015; 1.
- WU JY, LI CW, TSAI CH, CHOU CW, CHEN DR, WANG GJ. Synthesis of antibacterial TiO₂/PLGA composite biofilms. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2014; 10: 1097–1107.
- ZABIHI, F., YANG, M., LENG, Y., & ZHAO, Y. PLGA–HPMC nanoparticles prepared by a modified supercritical anti-solvent technique for the controlled release of insulin. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2015; 99: 15-22.
- ZOU P, STERN ST, SUN D. PLGA/liposome hybrid nanoparticles for short-chain ceramide delivery. *Pharmaceutical research*. 2014;31(3):684-693.

Recebido em: 15/06/2020

Aprovado em: 15/07/2020