

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA

Evaluation of antimicrobial activity of silver nanoparticles

Mariana Coelho Santana, Débora Leandro Rama Gomes, Glauciene Paula de Souza Marcone*

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), *campus* Realengo, RJ.

*Autor para correspondência: glauciene.marcone@ifrj.edu.br

RESUMO

Com o avanço da nanotecnologia um número cada vez maior de produtos contendo nanomateriais (NM) está sendo inserido no mercado. Dentre os NM mais empregados, destaca-se a nanoprata (NPAg), a qual possui ação antimicrobiana e fungicida e é utilizada em produtos como, aspiradores de pó, lavadoras de roupa e produtos têxteis. Devido à sua aplicação cada vez mais rotineira, são necessários estudos que avaliem o seu potencial bactericida. O presente trabalho tem o objetivo de avaliar a atividade bactericida de NPAg em solução sobre os micro-organismos *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*. As NPAg utilizadas foram sintetizadas quimicamente, utilizando AgNO_3 como agente precursor e NaBH_4 como redutor. Para promover a estabilização das suspensões de NPAg utilizou-se álcool polivinílico (PVA) e carboximetilcelulose (CMC). As amostras foram caracterizadas por espectrofotometria UV-Visível. A avaliação da atividade bactericida das soluções de nanoprata foi realizada utilizando testes de inibição de halo (ou difusão em disco). Os resultados mostraram que as amostras de nanoprata sintetizadas (nAg-CMC2 e nAg-PVA2, utilizando ambos os estabilizantes), que apresentaram forma esférica e estáveis (por 120 dias) foram eficazes para todos os micro-organismos testados a uma faixa de concentração de inibição de $2,6 \mu\text{g mL}^{-1}$ a $20,5 \mu\text{g mL}^{-1}$. Contudo, o microrganismo mais sensível às soluções de nanoprata foi o *S. epidermidis* à concentrações de $2,6 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $3,5 \mu\text{g mL}^{-1}$, para as amostras, nAg-CMC2 e nAg-PVA2, respectivamente.

Palavras-chave: nanoprata, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*.

ABSTRACT

With the advancement of nanotechnology, an increasing number of products containing nanomaterials (NM) inserted in the market. Among the NM, we can highlight nanosilver (NPAg), which has antimicrobial and fungicidal properties and is being used in many products such as vacuum cleaners, washing machines and textile item. This study aims to assess the antimicrobial activity of NPAg solution against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. The NPAg solutions were chemically synthesized using a precursor AgNO_3 and NaBH_4 as a reducing agent. In order to promote stabilization polyvinyl alcohol (PVA) and carboxymethylcellulose (CMC) were used. The samples were characterized by Visible UV spectrophotometry and the bactericidal activity t was assessed by the disc diffusion method. The results showed that the nanosilver samples (nAg-CMC2 and nAg-PVA2) that presented spherical forms and were stable for about 120 days, were efficient to inhibit the growth of all bacteria tested at different concentrations (from $2.6 \mu\text{g mL}^{-1}$ to $20.5 \mu\text{g mL}^{-1}$). Interestingly, *S. epidermidis* was the microorganism that showed more sensitivity to nanosilver solutions containing both stabilizers, nAg-CMC2 and nAg-PVA2 ($2.6 \mu\text{g mL}^{-1}$ and $3.5 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectively).

Keywords: nanosilver, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*.

INTRODUÇÃO

Materiais, cujo tamanho de partículas estão na escala de nanômetros, ou seja, que variam entre 1 e 100 nm são chamados de nanomateriais (NM). O estudo de NM ganhou maior importância no final do século XX, levando ao aparecimento e consolidação da nanociência e nanotecnologia (ZARBIN, 2007).

De acordo com o estudo realizado em 2014 pelo Projeto sobre Nanotecnologias Emergentes (PEN - Project on Emerging Nanotechnologies), organizado pelo Centro de Nanotecnologia Sustentável da Virgínia, em conjunto com o Centro Internacional Woodrow Wilson, já são 1628 produtos de consumo que contém algum nanomaterial, o que demonstra um aumento de 24% em relação ao último estudo realizado em 2010 (MARCONE, 2011). Segundo o estudo, do total de produtos desenvolvidos com base na nanotecnologia de materiais inorgânicos, os que utilizam a prata foram os mais produzidos entre os anos de 2006 e 2013, seguidos dos que envolvem carbono e titânio (PEN, 2014). Adicionalmente, segundo o Lux Research, Instituto de Pesquisas Internacional, a nanotecnologia movimentou mais de 1 trilhão de dólares em 2013 e movimentará cerca de 3,1 trilhões de dólares em 2015, o que corresponde a 15% do mercado global.

Devido à sua eficácia antibacteriana e antifúngica (MARAMBIO E HOEK, 2010) o uso da nanop prata mostrou-se mais pronunciado em produtos domésticos (filtros de ar condicionado, aspiradores de pó, máquinas de lavar roupa) e médicos, incluindo aparatos dentários e cateteres. Outras aplicações são em filtros de água, detergentes, telefones celulares, produtos têxteis, tintas e cosméticos (BECHTOLD, 2011; LARA *et al.*, 2011; MARAMBIO E HOEK, 2010).

Nanopartículas de prata ou nanop prata (NPAg) são átomos de prata metálica, com tamanho na escala manométrica e que devido ao seu tamanho apresenta características físico-químicas diferentes da prata massiva (NORDBERG *et al.*, 2007; MARCONE, 2011).

Observa-se que ao longo de uma década (2000 a 2011), o número de estudos científicos envolvendo nanop prata, que tratam da sua síntese, ou da sua ação bactericida, antifúngica e antiviral, aumentou exponencialmente. Ou seja, de 247 estudos em 2000, este número passou a 3603 em 2011. Destes estudos realizados, 55% incluem as áreas da pesquisa química, 40,4% ciência do material, 4,6% ciência dos polímeros, 3,0% eletroquímica e 22,1% bioquímica molecular, dentre outros tópicos (TRAN *et al.*, 2013).

A atividade bactericida da nanop prata é dependente do seu tamanho e de sua forma (triangular, esférica, em forma de bastonetes), que podem ser controlados através de diferentes rotas sintéticas, seja por redução química, física ou biológica (FENG *et al.*, 2000). O método mais comum para sintetizar nanopartículas de prata na forma esférica baseia-se na reação de redução de um precursor metálico em solução aquosa na presença de um estabilizante. Tal processo envolve mecanismos de nucleação e crescimento dos cristais de prata na solução coloidal (PAL *et al.*, 2007; TRAN *et al.*, 2013). Esta rota sintética gera uma solução que é constituída por nanop prata, íons prata, o estabilizante aplicado, além de outros produtos que dependem do redutor e do precursor utilizados. A função do agente estabilizante é evitar que as nanopartículas se agreguem, o que pode influenciar no tamanho e na forma das nanopartículas sintetizadas. Desta forma, o uso de estabilizantes evita o processo de aglomeração das NPAg, mantendo essa NPAg em sua forma esférica, o que contribui para a atividade bactericida desejada (KVITEK, *et al.*, 2008).

De acordo com o estudo realizado por Kvittek e colaboradores (2008), a estabilidade dessas dispersões aquosas de NPAg pode ser explicada por dois mecanismos: o primeiro, é baseado na repulsão estérica, que exibe efeito de estabilização com a ajuda de polímeros e surfactantes não iônicos. O balanço entre as forças atrativa e repulsiva é dependente da espessura da camada adsorvida. Para tal propósito os polímeros mais utilizados são polietilenoglicóis (PEG), álcool polivinílico (PVA) e polivinilpirrolidonas (PVP); o segundo mecanismo é baseado na repulsão eletrostática pela adição de surfactantes iônicos, que funcionam como uma proteção eletrostática para as nanopartículas não aderirem uma a outra. Como exemplo, cita-se o dodecil sulfato de sódio (SDS).

A caracterização das amostras de NPAg em solução quanto à sua forma é uma etapa importante, pois seu efeito bactericida é dependente da presença de NPAg em forma de bastões, esféricas, triangulares, dentre outras (PAL *et al.*, 2007). Além disso, a caracterização quanto à forma é importante para definir a estabilidade das amostras de NPAg em relação ao grau de aglomeração das nanopartículas (MARCONE, 2011). A priori, a nanopartícula de menor tamanho tem uma maior área superficial para interação, tendo maior poder bactericida. (FENG *et al.*, 2000; TRAN *et al.*, 2013). Desta forma, a propriedade bactericida das NPAg depende da sua estabilidade, do seu estado de aglomeração, tamanho e forma, uma vez que estes interferem na sua interação com a bactéria (PAL *et al.*, 2007; SHRIVASTAVA *et al.*, 2007). WIJNHOVEN *et al.* (2009) demonstraram que para bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, a atividade antibacteriana de nanopartículas de prata foi dependente do tamanho. Como as nanopartículas de menor tamanho têm alta área de superfície, são mais eficazes em menores concentrações. Em especial, as nanopartículas esféricas atacam diretamente a superfície da membrana celular bacteriana e conseguem se instalar dentro da bactéria.

Constatou-se que de forma geral, a nanopartícula vem se mostrando mais eficiente que os íons de prata (AgNO_3) quando aplicada contra patógenos, especialmente os multirresistentes a antibióticos (LARA *et al.*, 2011). Neste sentido, estudos que avaliem a atividade bactericida das NPAg sobre micro-organismos multirresistentes a antibióticos são promissores, pois são a base para novas pesquisas em relação aos referidos patógenos com o intuito de diminuir os índices de morbimortalidade em unidades hospitalares (POLLINI *et al.*, 2011). Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo, avaliar a atividade bactericida de amostras de nanopartícula em solução, sintetizadas por redução química, utilizando os micro-organismos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Síntese das amostras de NPAg em solução

A rota sintética utilizada para obtenção das amostras de NPAg baseou-se no trabalho de MARCONE (2011) e SOLOMON *et al.* (2007), onde a síntese se dá pela redução de nitrato de prata (AgNO_3 - Sigma-Aldrich) pelo borohidreto de sódio (NaBH_4 - VETEC, Química Fina, Sigma Aldrich) na presença de um dos estabilizantes, PVA (Sigma-Aldrich) ou CMC (Sigma-Aldrich). Todas as soluções foram preparadas utilizando-se água ultra pura e as pesagens foram realizadas em balança analítica modelo AY 220 Shimadzu. As amostras obtidas, denominadas, nAg-CMC2 e nAg-PVA2 foram armazenadas em frasco âmbar, sob refrigeração para evitar decomposição.

Caracterização das amostras de NPAg quanto à forma

As soluções de nanop prata sintetizadas foram caracterizadas por espectrofotometria de absorção molecular UV-Visível. Esta técnica é muito utilizada nas análises das nanopartículas metálicas (HEBEISH *et al.*, 2013) e permite a observação do fenômeno de ressonância dos plasmon de absorção de nanopartículas metálicas. Foi utilizado um espectrofotômetro Genesys 10S UV-VIS Thermo Scientific e as leituras foram realizadas na faixa de comprimento de onda de 200 a 600 nm. Utilizou-se como branco as soluções aquosas contendo os estabilizantes aplicados na síntese, nas mesmas concentrações de síntese.

Avaliação do potencial bactericida das amostras de NPAg sintetizadas

Foi utilizado o método de disco-difusão em ágar (ou teste de inibição de halo ou difusão em disco), que consiste em um método qualitativo onde os discos de papel-filtro são impregnados com o antimicrobiano desejado e depositados em placa de ágar Müller-Hinton, previamente semeada com suspensão bacteriana equivalente a 0,5 de MacFarland (aproximadamente 108 UFC/mL). Foram testadas as seguintes espécies bacterianas: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228). Após incubação por 18 a 24 h a 37°C, foi realizada a leitura do halo de inibição.

O preparo dos discos foi realizado pela impregnação com 10 µL das amostras de NPAg sintetizadas ou do padrão positivo (solução de AgNO₃ a 5,0 x 10⁻³ mol x L⁻¹). Vale destacar que foram feitas diluições seriadas das amostras brutas de NPAg e da solução de AgNO₃, com o objetivo de verificar a concentração inibitória mínima

A avaliação dos halos de inibição foi realizada de acordo com POLLINI *et al.* (2011), em que a formação de halos com diâmetros iguais ou superiores a 1 mm é considerada boa para efeitos de inibição bacteriana decorridos da ação da nanop prata. Deste modo, foi estabelecida e adotada uma tabela de avaliação do diâmetro dos halos formados nos testes de susceptibilidade (Tabela 1).

Tabela 1. Diferentes graduações de atividade bacteriana. Tabela adaptada de POLLINI *et al.*, 2011.

Zona de inibição no disco	Aspecto visual	Resultado de inibição
Presença (> 1 mm)		Bom
Presença (< 1 mm)		Consideravelmente bom
Ausência de crescimento bacteriano		Suficiente
Limite de crescimento bacteriano		Limite
Amostra parcialmente habitada por bactérias (50%)		Insuficiente
Amostra totalmente habitada por bactérias		Insuficiente

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Síntese e caracterização das amostras de NPAg em solução

De acordo com o procedimento adotado para sintetizar nanop prata, foram obtidas as amostras de NPAg intituladas: nAg-PVA1, nAg-PVA2, nAg-PVA3, nAgCMC1 e nAgCMC2, onde CMC e PVA, correspondem aos estabilizantes carboximetilcelulose e álcool polivinílico, respectivamente. No que se refere ao aspecto visual das amostras obtidas, os resultados estão de acordo com os trabalhos realizados por SOLOMON *et al.* (2007) e MARCONE (2011). A diferença de coloração das amostras, desde amarelada até amarronzada, sugere que as apresentam diferentes níveis de aglomeração (Figura 1).

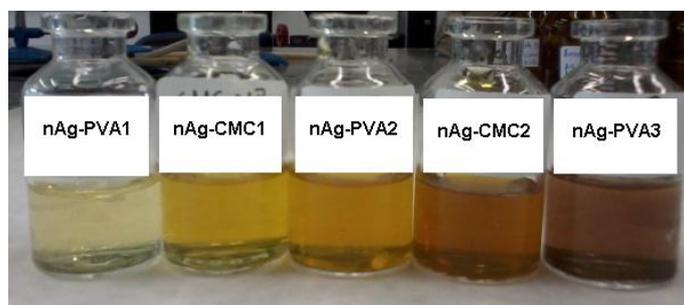


Figura 1. Amostras de NPAg sintetizadas com diferentes graus de concentração e aglomeração.

Isto ocorre pois no processo de síntese, a razão entre o precursor, e o estabilizante, CMC ou PVA, variou. Como resultado, foram obtidas amostras com diferentes concentrações teóricas de nanop prata, como indicado na Tabela 2. As concentrações de nanopartículas de prata obtidas ao final da síntese variaram entre 4,0 mg L⁻¹ e 83,0 mg L⁻¹.

Tabela 2. Concentração teórica de nanopartículas de prata nas amostras de NPAg sintetizadas.

Amostra de NPAg	Concentração (mol L ⁻¹)	Concentração (µg mL ⁻¹)
nAg-PVA1	0,02 x 10 ⁻³	4,0
nAg-PVA2	0,16 x 10 ⁻³	28,0
nAg-PVA3	0,49x 10 ⁻³	83,0
nAg-CMC1	0,18 x 10 ⁻³	30,0
nAg-CMC2	0,50 x 10 ⁻³	83,0

De acordo com o espectro de absorção plasmon das amostras de NPAg sintetizadas (Figura 2), é possível observar uma banda de absorção em torno de 400 nm para todas as amostras, o que evidencia a formação da prata nanométrica em forma esférica (NOGUEZ, 2007; SOLOMON *et al.*, 2007).

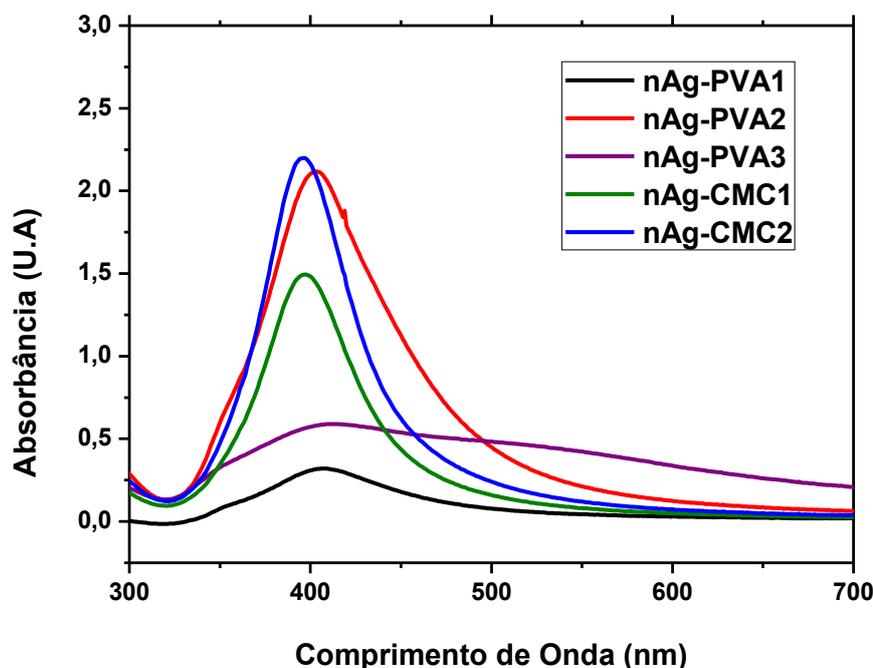


Figura 2. Espectros das amostras de NPAg sintetizadas.

Nota-se que a intensidade dos picos em torno de 400nm foram maiores para as amostras nAg-PVA2, nAg-CMC1 e nAg-CMC2, revelando uma maior formação de nanopartículas de prata em relação às demais amostras. Apesar destas amostras apresentarem concentrações de nanoprata teórica (Tabela 1), variando na faixa de 28 a 82 $\mu\text{g mL}^{-1}$, ocorre a formação de NPAg esféricas, sem tendência à aglomeração para ambas, pois a relação entre a concentração de AgNO_3 e estabilizante utilizada na síntese é similar. Já a amostra nAg-PVA1 apresenta uma pequena quantidade de nanoprata esférica, vista a mínima absorção em torno de 400 nm, o que corresponde à concentração teórica de NPAg de 4,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, presente na amostra. Por outro lado, a amostra nAg-PVA3, cuja concentração teórica de NPAg é em torno de 82 $\mu\text{g mL}^{-1}$, não apresenta quantidade considerável de nanoprata esférica, uma vez que a banda de absorção plasmon em torno de 400 nm é pouco definida e aparece um ombro a partir de aproximadamente 450 nm, o que sugere forte tendência à aglomeração.

Assim, comparando-se os dados do espectro da Figura 2 com as imagens das soluções sintetizadas (Figura 1), observa-se que uma solução com maior concentração de NPAg, não necessita obrigatoriamente, ter uma coloração mais escura. Assim, a solução denominada nAg-CMC1, apesar de apresentar coloração amarelada, possui maior quantidade de NPAg que a solução denominada nAg-PVA3, que possui coloração amarronzada.

Baseado nos resultados de tamanho das nanopartículas de prata de forma esférica, obtidos por MARCONE (2011), cuja rota sintética e espectros absorção UV-Vis foram similares aos do presente trabalho, pode-se afirmar que as amostras de NPAg sintetizadas, nAg-PVA2, nAg-CMC1 e nAg-CMC2, possuem nanopartícula de forma esférica, com tamanho médio na faixa de 8-16 nm.

Além da concentração de AgNO_3 utilizada para sintetizar nanopartículas de prata, o estabilizante também desempenha uma função importante na estabilidade das amostras obtidas. Neste sentido, estudos realizados por MARCONE (2011) indicaram que ao utilizar CMC e PVA como estabilizantes, as amostras após 20 meses de sua síntese, apresentavam-se estáveis, com deslocamento mínimo do comprimento de onda, onde a absorção era máxima das bandas espectrais. Isso indicou a pouca tendência à aglomeração dessas amostras. Com o intuito de avaliar a estabilidade das amostras de NPAg uma nova análise espectrofotométrica foi realizada, decorridos 120 dias da síntese das amostras nAg-PVA1, nAg-PVA2, nAg-PVA3, nAgCMC1 e nAgCMC2.

Como observado na Figura 3, as amostras sintetizadas, apesar da tendência à aglomeração da amostra nAg-PVA3, mantiveram-se estáveis após 120 dias após sua síntese, visto que não houve deslocamento visível das bandas de absorção e a diferença de intensidade dos picos de absorção foi mínima.

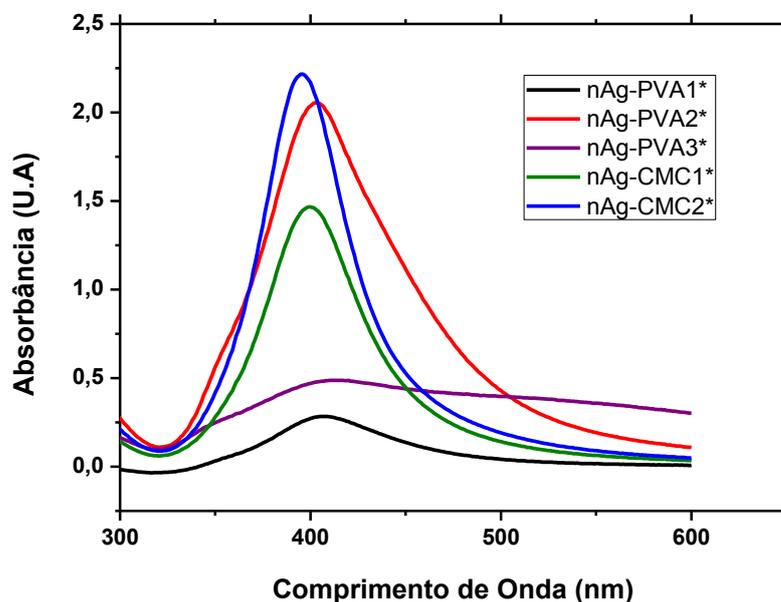


Figura 3: Espectro das amostras de NPAg após 120 dias da síntese ter sido realizada.

Avaliação do potencial bactericida das amostras de NPAg sintetizadas

Para a avaliação da atividade bactericida de NPAg foram escolhidas as amostras nAg-PVA2 e nAg-CMC2, uma vez que apresentaram nanoprata estáveis e sem tendência à aglomeração. A Figura 4 ilustra os halos de inibição formados pelas amostras *S. epidermidis*, *S. aureus* e *E. coli* após diluição seriada da solução de nAg (2, 4, 8, 16 e 32 vezes).

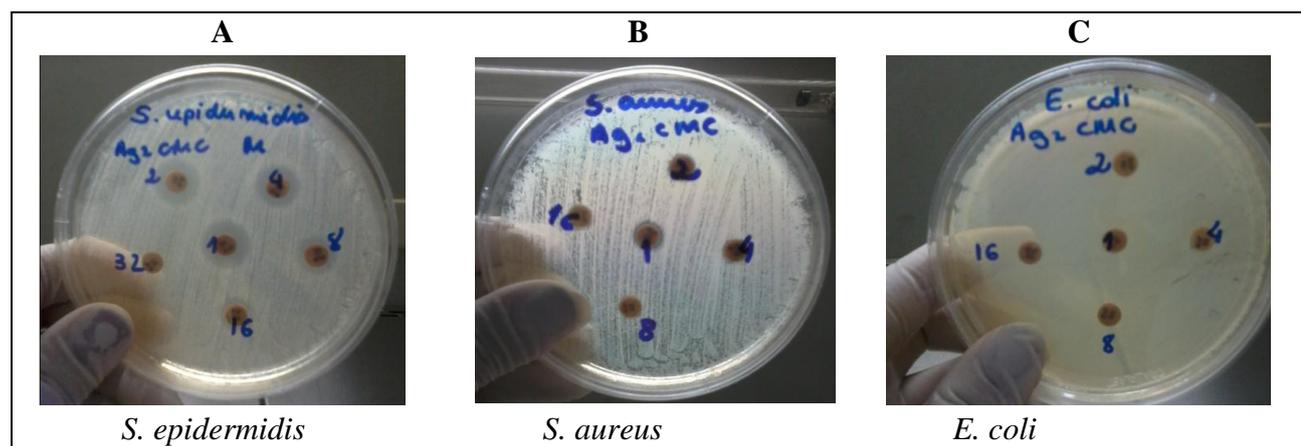


Figura 4. Testes de susceptibilidade para os micro-organismos *S. epidermidis* (A), *S. aureus* (B) *E. coli* (C) frente à amostra nAg-CMC2, nas diluições de 2, 4, 8, 16 e 32 vezes. Os resultados das medidas dos diâmetros dos halos de inibição formados são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4: Medida dos halos de inibição formados a partir do teste de susceptibilidade.

Amostra	Diluição seriada	Concentração NPAg teórica* ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	MEDIDA DOS HALOS DE INIBIÇÃO (mm)		
			<i>S. epidermidis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
nAg-CMC2	2	41,0	5	2	1
	4	20,5	4	1	1
	8	10,3	4	1	0
	16	5,1	2	0	0
	32	2,6	1	0	0
nAg-PVA2	2	14,0	5	1	1
	4	7,0	4	1	1
	8	3,5	3	1	1
	16	1,8	0	0	0
	32	0,9	0	0	0

*Concentração de NPAg teórica corresponde à quantidade teórica de nanoprata presente nas amostras nAg-CMC2 e nAg-PVA2, submetidas à diluição seriada da amostra de 2, 4, 8, 16 e 32 vezes. Quantidades contidas no volume de 10 μL utilizado para a impregnação dos discos.

Os resultados evidenciam a eficácia da nanop prata como agente bactericida em diversas concentrações de NP Ag para os micro-organismos testados, visto que para a maioria das diluições foram observados halos de inibição maiores ou iguais a 1 mm. Os valores tomados como referência para essa afirmação, foram obtidos do estudo realizado por POLLINI *et al.* (2011), mencionado anteriormente.

De acordo com a Tabela 4, a amostra nAg-PVA2 inibiu o crescimento bacteriano para as todas as bactérias testadas a uma concentração de $3,5 \mu\text{g mL}^{-1}$, uma vez que apresentou halo de inibição de 1 mm para *E. coli* e *S. aureus*, ao passo que para *S. epidermidis*, o halo de inibição foi de 3 mm.

Por outro lado, a amostra nAg-CMC2 apresentou maiores concentrações de inibição para *E. coli* e *S. aureus*, sendo respectivamente, $20,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $10,3 \mu\text{g mL}^{-1}$ para halos de inibição de 1 mm. Contudo, estes resultados estão de acordo com àqueles encontrados na literatura para os mesmos micro-organismos, uma vez que, estudos realizados por KVITEK *et al.* (2008) apontaram que a mínima concentração inibitória (MIC) variou entre $1,69$ e $13,5 \mu\text{g mL}^{-1}$. Além disto, Pal e colaboradores (2007), em seus estudos determinaram que as concentrações entre 50 e $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ de NP Ag garantiram 100% da inibição do crescimento bacteriano para a bactéria *E. coli*.

A bactéria *S. epidermidis*, destaca-se como o microorganismo mais sensível, para ambas as amostras testadas, sendo para a amostra nAg-CMC2 a concentração mínima de inibição foi de $2,6 \mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto que para a amostra nAg-PVA2 foi de $3,5 \mu\text{g mL}^{-1}$. Observa-se que ao aumentar a concentração das amostras testadas (nAg-PVA2 e nAg-CMC2), ocorre também o aumento do diâmetro do halo de inibição (1 a 5 mm).

Quanto ao padrão positivo (discos impregnados com AgNO_3), para todos os testes, foram observados halos de inibição com diâmetros que variaram entre 5 e 7 mm, mostrando que a prata iônica é bactericida para os micro-organismos testados a uma concentração teórica de $0,42 \mu\text{g mL}^{-1}$.

CONCLUSÕES

Baseado nos resultados obtidos acerca da avaliação da atividade bactericida das amostras de nanop prata sintetizadas conclui-se que nanopartículas esféricas de prata, independentemente do tipo de estabilizante aplicado (CMC ou PVA), inibiram o crescimento dos organismos *S. aureus*, *E. coli* e *S. epidermidis* a baixas concentrações. Desta forma, este trabalho serve como subsídio para pesquisas voltadas para a aplicação de nanop prata em diversas áreas, tais como, na desinfecção ambiental e na área hospitalar.

AGRADECIMENTOS

Ao IFRJ e à FAPERJ pela infraestrutura e pelo apoio financeiro concedido ao projeto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BECHTOLD, M.; **Síntese e caracterização de nanopartículas de prata e aplicação como agente biocida em tinta poliuretânica hidrossolúvel**. Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC): Florianópolis. 2011. Dissertação de mestrado em Engenharia Química Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/95121/294457.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> Acesso em: 19 jun. 2015.

FENG, Q.L.; WU, J.; CHEN, G.Q.; CUI, F.Z.; KIM, T.N.; KIM, J.O. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Journal of Biomedical Materials Research**, 15; 52 (4), 662-668, 2000.

- HEBEISH, A.; EL-RAFIE, M.H.; EL-SHEIKH, M.A.; EL-NAGGAR, M.E. Nanostructural Features of Silver Nanoparticles Powder Synthesized through Concurrent Formation of the Nanosized Particles of Both Starch and Silver. **Journal of Nanotechnology**, Egito, 2013. Disponível em: < <http://dx.doi.org/101155/2013/201057> > Acesso em: 15 maio. 2014.
- KONEMAN, E.; WINN, W.; JANDA, W.; PROCOP, G.; SCHRECKENBERGER, P.; WOODS, G.; **Diagnóstico Microbiológico – Texto e Atlas Colorido**. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. p. 963-985.
- KVITEK, L.; PANACEK, A., SOUKUPOVA, J., KOLAR, M., VECEROVÁ, R., PRUCEK, R., HOLECOVÁ, M., ZBORIL, R.; Effect of Surfactants and Polymers on Stability and Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles (NPs). **Journal of Physical Chemistry**, 112(22), 5825-5834, 2008.
- LARA, H.H.; TREVIÑO, E.N.G.; TURRENT, L.I.; SLNGH, D.K. Silver nanoparticles are broad-spectrum bactericidal and virucidal compounds. **Journal of Nanobiotechnology**, 9(30), 2011.
- MARAMBIO, C.J.; HOEK, E.M.V.; A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. **Journal of Nanoparticle Research**, 12, 1531-155, 2010.
- MARCONI, G.P. **Avaliação da ecotoxicidade de nanopartículas de dióxido de titânio e prata**. UNICAMP: Campinas. 2011. 208 p. Tese de Doutorado em Química.
- NOGUEZ, C. Surface plasmons on metal nanoparticles: the Influence of shape and physical environment. **Journal of Physical Chemistry C**, 11, 3806-3819, 2007.
- NORDBERG, G.F.; NORDBERG, B.A.F.M.; FRIBERG, L. **Handbook on the toxicology of metals**. 3rd.ed. San Diego: Elsevier, 2007.
- PAL, S.; TAK, Y.K.; SONG, J.M.; Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? **Applied and Environmental Microbiology**, 1712-1720, 2007.
- PEN - **Project on Emerging Nanotechnologies**. Disponível em: < <http://www.nanotechproject.org> > Acesso em 1 set. 2014.
- POLLINI, M.; PALADINI, F.; CATALANO, M.; TAURINO, A.; LICCIULLI, A.; MAFFEZZOLI, A.; SANNINO, A.; MATER, J.; Antibacterial coatings on hemodialysis catheters by photochemical deposition of silver nanoparticles. **Journal of Materials Science in Medicine**, 22, 2005-2012, 2011.
- SHRIVASTAVA, S.; BERA, T.; ROY, A.; SINGH, G.; RAMACHANDRARAO, P.; DASH, D. Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. **Nanotechnology**, 18, 225103, 2007.
- SOLOMON, S.D.; BAHADORY, M.; JEYARAJASINGAM, A.V.; RUTKOWSKY, S.A.; BORITZ, C. Synthesis and study of silver nanoparticles. **Journal of Chemical Education**, 84, 322-325. 2007.
- TRAN, Q.H.; NGUYEN, V.Q.; LE, A.T.; Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives. **Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology**. 4, 1-20, 2013.
- WIJNHOFEN, S.W.P.; PEIJNENBURG, W.J.G.M.; HERBERTS, C.A.; HAGENS, WI; OOMEN, A.G.; HEUGENS, E.H.W.; ROSZEK, B.; BISSCHOPS, J.; GOSENS, I.; MEENT, D.V.; DEKKERS, S.; JONG, W.H.; ZIJVERDEN, M.V.; SIPS, A.J.A. M.; GEERTSMA, R.E., Nano-silver: a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. **Nanotoxicology**, 3(2), 109-138, 2009.
- ZARBIN, A.J.G. Química de (nano)materiais. **Química Nova**, 30(6), 1469-1479, 2007.