



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA

NATHALEE SILVA DO VALLE

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE NANOPARTÍCULAS
METÁLICAS DE *ANACARDIUM OCCIDENTALE L.*

Brasília - DF

2025

NATHALEE SILVA DO VALLE

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE NANOPARTÍCULAS
METÁLICAS DE *ANACARDIUM OCCIDENTALE* L.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Departamento de Farmácia da Faculdade de Ciências
da Saúde, da Universidade de Brasília, como parte
dos requisitos necessários para a obtenção do Grau
de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof^a Dr^a Tanise Vendruscolo Dalmolin

Co-orientadora: Isabel de Souza Andrade Arruda

Brasília-DF

2025

NATHALEE SILVA DO VALLE

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE NANOPARTÍCULAS
METÁLICAS DE *ANACARDIUM OCCIDENTALE* L.

BANCA EXAMINADORA

Tanise Vendruscolo Dalmolin (Universidade de Brasília)

Bruna Fuga Araujo (Universidade de Brasília)

RESUMO

A resistência aos antimicrobianos é um problema vigente há considerável tempo e seus malefícios são crescentes, constantes e frequentes. A corrida contra o tempo para descoberta de novos antimicrobianos está veemente e rastreia todo tipo de fonte cabível que possa ser usada como antimicrobiano. Uma dessas fontes é a flora brasileira, que é eleita a mais diversa do mundo e proporciona infinitas possibilidades através de seus compostos. Desse modo, *Anacardium occidentale* L., popularmente conhecida como cajueiro, é uma planta brasileira amplamente encontrada na região Nordeste do Brasil e apresenta diversas aplicações farmacológicas. Diante disso, o presente estudo avaliou o potencial antimicrobiano de nanopartículas metálicas sintetizadas por via verde utilizando a *A. occidentale* como redutor frente a cepas referência e isolados clínicos multirresistentes. A nanopartícula de prata obteve resultados de CIM promissores dentro do intervalo de 0.49-1.95 μ g/mL frente as cepas de referência *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*, bem como os isolados multirresistentes *K. pneumoniae*, *Serratia* spp. e *Enterobacter* spp. Em comparação com outras nanopartículas de prata sintetizadas por via verde, a nanopartícula de prata deste estudo apresentou resultados superiores em CIM. As demais partículas avaliadas neste estudo não se mantiveram em níveis estáveis para serem consideradas nanopartículas, com exceção do FeNP2. Diante da emergente necessidade de novas alternativas de tratamento de isolados multirresistentes, as nanopartículas de prata sintetizadas a partir de *A. occidentale* demonstram grande potencial.

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana. *Cashew Nut Shell Liquid*. Concentração Inibitória Mínima. Nanopartículas de Prata.

AGRADECIMENTOS

É dito que agradecimentos devem ser feitos em ordem de importância. Então, antes de tudo, gostaria de agradecer a quem cuida de tudo e de todos. Agora podemos começar. Agradecer a casualidade que me trouxe a tal. Gostaria de agradecer a mim, a pessoa mais importante para que o desdobrar de todos estes eventos acontecesse. E que eu não existiria se não fosse pela minha mãe, Rita Maria, que doou sua história para que eu vivesse a minha, que me inspira todos os dias e me injeta forças para nunca desistir, pois ela nunca desistiu. Agradeço ao meu pai por ter cortado minhas asas, pois só assim nasceram novas, brilhantes, grandes e ambiciosas asas que me permitiram voar.

Voar primeiramente a Rondônia, estado qual eu sempre serei grata. Agradeço por todo amparo que meu primeiro lar acadêmico se deu: Instituto Federal de Rondônia, Campus Guajará-Mirim. Um agradecimento especial aos professores André Menezes, Alcides Procópio e Marcos Barros, se hoje estou aqui foi por completa influência e direcionamento dos senhores. Agradeço ao meu paidastro, Sérgio, que sempre me contagiou com seu senso crítico, reflexões e carinho maior que o mundo. Agradeço aos meus amigos Nataly Tobias, Mariana Bouchabki, Rana Ardaia, Anna Beatriz e Nagib Almeida por todos esses anos de força e companheirismo, crescer com vocês é fascinante em todos os aspectos. Em seguida gostaria de agradecer minha irmã, Natasha, por todo dia de ead colocar música alta e quase me enlouquecer, mas ser sua irmã é nunca estar entediada e sempre ter alguém para me identificar nesse mundo.

Brasília me recebeu de braços abertos, cidade berço de muitas primeiras-vezes de uma caipira nortista. Não só de primeiras-vezes, mas berço de amizades lindas, que se tornaram família neste quadradinho. Falando de amizades lindas, gostaria de agradecer, nominalmente, aos meus amigos, fundação da minha alegria e força em Brasília: Lorenzo, João Pedro, Lucas (Kinhas), Lucas, Isabella, Bruna, Amanda, Yann, Guillherme, Silvia, Rebeca, André, Majú, Rafa, Aline, Gabriela, Bruno, Luca, Ana Cláudia, Nina, Luana, Eduarda, Clara, dentre tantos outros.

Para encerrar, gostaria de agradecer à Embrapa CENARGEN e ao professor Dr. Luciano Paulino, por ter colaborado com este trabalho e por todo seu acolhimento. À minha orientadora Tanise Vendruscolo, que me é fonte direta de inspiração. Ser a primeira de sua família a se graduar é único, denso, às vezes solitário, mas é uma conquista cheia de orgulho e novas perspectivas. Ter isso em comum com a senhora me dá forças para continuar. Obrigada por ser uma professora única, contagiatante e uma pesquisadora brilhante. Este trabalho não seria

possível sem sua dedicação imensurável aos seus alunos e eu sempre serei grata de ter feito parte deste grupo seleto.

Obrigada, Universidade de Brasília, por essa jornada e por todas as oportunidades que vieram e virão com ela.

*Será que você sabe que, no fundo, eu tenho medo
De correr sozinha e nunca alcançar?*

*Eu me encho de esperança, de algo novo que
aconteça
Quem despertará a rosa estará lá pro que
aconteça? [...]*

*Quando eu alçar o voo mais bonito da minha vida
Quem me chamará de amor, de querida?
Que vai me esperar em casa, polir a joia rara
Ser o pseudofruto, a pele do caju*

- Caju, Liniker.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
1.1 Resistência Antimicrobiana	9
1.2 Castanha de Caju	10
1.3 Nanocompostos	11
2. MATERIAIS E MÉTODOS	13
2.1 Síntese dos nanocompostos	13
2.2 Caracterização e avaliação da estabilidade das nanopartículas	13
2.3 Isolados bacterianos	13
2.4 Avaliação da atividade antimicrobiana por microdiluição em caldo	14
3. RESULTADOS	17
3.1 Caracterização e avaliação da estabilidade dos nanocompostos	17
3.2 Ensaios de avaliação da atividade antimicrobiana	17
4. DISCUSSÃO	18
5. CONCLUSÃO	22
6. REFERÊNCIAS	23

1. INTRODUÇÃO

1.1 Resistência Antimicrobiana

Uma das maiores problemáticas do mundo moderno no que refere a saúde é a resistência antimicrobiana. O mundo viveu uma grande evolução com a descoberta da penicilina em 1928, em que doenças infecciosas previamente mortais passaram a ser facilmente tratadas e manejadas. A penicilina foi apenas a pioneira que abriu as portas para diversas descobertas de antimicrobianos, no entanto, com o tempo duas variáveis se combinaram: a diminuição de descobertas de novos antimicrobianos e o uso abusivo e pouco consciente dos antimicrobianos. A combinação dessas variáveis foi responsável pelo aumento da seleção de cepas resistentes, que afeta esferas distintas além da saúde, sendo um fardo social e econômico. Em uma ótica global, a catástrofe é tanta que, em 2019, 1,27 milhões de pessoas vieram a óbito por infecções por microrganismos resistentes aos antimicrobianos (IHME, 2019).

Por ano, estima-se que mais de 35 mil mortes na Europa são causadas por patógenos resistentes aos antimicrobianos, sendo que o impacto da resistência antimicrobiana é comparado ao impacto combinado de doenças infecciosas como HIV, influenza e tuberculose (ECDC, 2022). Já no Brasil, o impacto negativo não é diferente: em 2019, 137900 mortes foram em decorrência de resistência antimicrobiana (IHME, 2019).

Em 2024 a Organização Mundial de Saúde (OMS) atualizou a lista de bactérias com importância para a saúde pública para orientar a pesquisa, o desenvolvimento e as estratégias para prevenir e controlar a resistência antimicrobiana. Dentre as bactérias do grupo crítico estão listadas *Acinetobacter baumannii* resistente aos carbapenêmicos, espécies da ordem Enterobacterales resistentes às cefalosporinas de 3^a geração e resistentes aos carbapenêmicos e *Mycobacterium tuberculosis* resistente à rifampicina (WHO, 2024).

Algumas espécies são mais preocupantes e de maior incidência de mortalidade no Brasil e merecem atenção: *Staphylococcus aureus* (27300 mortes em 2019), *Escherichia coli* (25200 mortes em 2019), *Klebsiella pneumoniae* (19300 mortes em 2019), *Streptococcus pneumoniae* (15400 mortes em 2019) e *Pseudomonas aeruginosa* (12200 mortes em 2019) (IHME, 2019).

Diversos mecanismos são utilizados pelos microrganismos para conferir resistência aos antimicrobianos. As bactérias podem apresentar resistência intrínseca (atualmente denominada como fenótipo esperado resistente) ou resistência adquirida a determinadas classes de antimicrobianos. Fenótipo esperado resistente é determinado por características funcionais e estruturais inerentes e que inviabilizam a atividade de determinados antimicrobianos (ABUSHAEHEN et al., 2020). Já a resistência adquirida se baseia na seleção natural e

adaptação das cepas a partir da alteração da permeabilidade da membrana celular bacteriana, bombas de efluxo, alterações no local alvo dos antimicrobianos, genes que codificam enzimas que degradam os antimicrobianos, dentre outros (BARAN et al., 2023; TENOVER et al., 2006).

A disseminação de genes de resistência pode ocorrer através da transformação, transdução e conjugação. Na transformação o DNA livre é absorvido por outras células bacterianas que incorporam esse fragmento em seu DNA próprio. Na transdução, porções do material genético da bactéria se infiltram no bacteriófago, que incorpora as regiões determinantes de resistência da bactéria e repassa essas regiões determinantes para outras bactérias. Na conjugação há a transferência horizontal dos genes entre duas bactérias em que o conteúdo genético transferido é chamado de plasmídeo e contém regiões determinantes de resistência (ABUSHAEEN et al., 2020).

1.2 Castanha de Caju

Diversas matrizes podem ser fontes de substâncias com potencial terapêutico, sendo que as plantas foram um dos primeiros recursos a serem utilizados com prospecções medicinais (DAVIS et al., 2024). Grande parte da origem de drogas modernas se dá pelo descobrimento de compostos naturais. Apesar disso, dentre as mais de 400 mil espécies vegetais existentes, apenas 10% foram estudadas quanto às suas atividades terapêuticas e biológicas (ROMANO et al., 2021). Não obstante, 300 drogas provenientes de plantas estão na Lista-Modelo de Medicamentos Essenciais da OMS, que sugere medicamentos para auxiliar os países no desenvolvimento de sua própria relação de medicamentos essenciais, levando em consideração o contexto e prioridades da nação (WHO, 2023).

Anacardium occidentale L., popularmente conhecida como cajueiro, é uma árvore tropical brasileira, de até 15 metros, que faz parte da família Anacardiaceae. O pseudofruto, denominado caju, e o fruto verdadeiro, denominado castanha de caju, possuem diversos atributos interessantes como a riqueza nutricional, apresentando cinco vezes mais vitamina C que o suco de laranja e dez vezes mais que o suco de abacaxi (GUTIERREZ-PAZ et al., 2024). Além disso, *A. occidentale* apresenta produtos de aplicação industrial em resinas e plásticos, compostos com potencial medicinal, e aplicações farmacológicas como potencial antioxidante, antigenotóxico, antimutagênico, antimicrobiano, anti-inflamatório e larvicida (ARACELLI et al., 2016).

Além disso, a casca do cajueiro e suas folhas podem ser usadas na medicina tradicional para tratar diarreias, dermatites, dores de cabeça e doenças infecciosas (LIZCANO et al., 2010), por apresentar em sua estrutura taninos e saponinas (AYEPOLA et al., 2009). Depois da

castanha de caju, o insumo vegetal mais consumido do cajueiro é o Líquido da Castanha de Caju (LCC) ou *Cashew Nut Shell Liquid* (CNSL), o qual é um líquido rico em compostos fenólicos como ácido anacárdico, cardanol e cardol (TREVISAN et al., 2006), além de flavonoides como a apigenina, canferol e a quercetina, que podem apresentar um papel considerável no processo de redução dos compostos metálicos para síntese de nanopartículas metálicas (DEPLANCHE et al., 2010; SHAH et al., 2015). Além dos aspectos citados acima, CNSL apresentou atividade antibacteriana contra *S. aureus*, *E. coli*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium* sp., *Aspergillus fumigatus*, e *Aspergillus niger* (KANNAN et al., 2009), atividades antioxidantes, ação inibitória de enzimas hiperglicêmicas como a α -amilase, podendo ser um grande aliado em doenças como diabetes (BARROS et al., 2020).

1.3 Nanocompostos

A nanotecnologia é um ramo emergente e que tem o potencial de revolucionar diversos campos como a biologia, química, biotecnologia, indústria farmacêutica, indústria alimentícia, dentre outros. A multidisciplinaridade de áreas que compõem a nanotecnologia abre um leque imenso de possibilidades. O conceito “nanométrico” foi introduzido em 1925 pelo cientista Richard Zsigmondy, ganhador do Nobel de Química, por ser o pioneiro na elucidação de partículas coloidais nanométricas de ouro. A nanotecnologia é compreendida por abranger o conhecimento de matérias na escala nano e dimensões ultrafinas com alta precisão (CHARI et al., 2022).

Tal qual o ouro, outros metais, como o Cobre, Ferro e Zinco podem apresentar características nanométricas a partir de sínteses, que podem ser feitas através de dois mecanismos: *Top-down* e *Bottom-Up*. *Top-down* é uma abordagem criada pelo professor da Universidade de Tóquio, Dr. Norio Taniguchi (SEN GUPTA et al., 2019) e consiste no uso de métodos físicos e químicos para transformar matérias brutas (precursores) até alcançar materiais de escala atômica, e consequentemente, nanopartículas (SRIVASTAVA et al., 2022).

Dez anos depois, a abordagem *Bottom-up* foi introduzida e se popularizou por apresentar efluentes menos tóxicos e danosos ao meio-ambiente do que a abordagem *Top-down*, sendo possível seguir os princípios de química verde a partir das sínteses feitas através desse sistema (VIJAYARAM et al., 2023). Esta abordagem consiste nos preceitos de síntese a partir de partículas mais simples, utilizando de ferramentas químicas e biológicas para atingir este objetivo. Dentro desta lógica, está a síntese verde, que utiliza diversas matrizes para produção de nanopartículas, as quais podem ser a partir de bactérias, plantas, fungos, dentre outros (SINGH et al., 2018).

Nanopartículas formadas a partir da síntese verde são interessantes por serem acessíveis financeiramente, seguras e inofensivas ambientalmente. No que tange à síntese de nanopartículas, moléculas inorgânicas tendem a apresentar atividades catalíticas, magnéticas e eletrônicas. Dentre as sínteses de nanopartículas inorgânicas, encontram-se as nanopartículas metálicas. Essas nanopartículas são consideradas estruturas flexíveis pela possibilidade de controlar sua composição, tamanho, formato, estrutura e propriedades ópticas. Além disso, as nanopartículas metálicas podem ser biocompatíveis, inertes e não-tóxicas, sendo estas características interessantes para aplicabilidade farmacêutica (SHNOUDEH et al., 2019).

Diante do problema pungente de resistência aos antimicrobianos, novos recursos vêm sendo explorados para encontrar novos compostos com atividade antimicrobiana. Nanopartículas são conhecidas pelo seu desempenho como carreadores de fármacos (VIMALA et al., 2014), ação antioxidante e, também, ação antimicrobiana (MITTAL et al., 2012). A ação antimicrobiana de nanopartículas depende de diversos fatores, como o precursor e agente redutor utilizado.

Sobre a ação de metais como antimicrobianos, é sabido que a prata possui grande potencial antimicrobiano (ALEXANDER, 2009), como por exemplo a sulfadiazina de prata. Contudo, no contexto atual, principalmente hospitalar, não é mais um protagonista como antimicrobiano, sendo necessário a busca por novas alternativas. É relatado que o uso de nanopartículas de prata possui atividade antimicrobiana dado a produção de espécies reativas de oxigênio que podem danificar e inativar genes, proteínas e outros elementos essenciais para a funcionalidade celular, além da interação com as cargas negativas da membrana celular das bactérias, dentre outros mecanismos (SLAVIN et al., 2017).

Outro exemplo é o zinco, que além de participar ativamente do sistema imune, também é capaz de interromper replicações virais (JALAL et al., 2021), aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio, dentre outros mecanismos. Já o ferro é essencial para o metabolismo bacteriano, porém altas concentrações podem levar a danos intracelulares como no material genético e proteico bacteiano (YE et al., 2020)

Diante disso, o presente estudo avaliou o potencial antimicrobiano de nanopartículas metálicas de *A. occidentale* frente a cepas referência e isolados clínicos multirresistentes.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Síntese dos nanocompostos

As nanopartículas metálicas foram sintetizadas a partir de protocolos e acessos confidenciais da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) Recursos Genéticos e Biotecnologia. Para síntese das nanopartículas foram utilizados metais Ferro (Fe), Zinco (Zn) e Prata (Ag) e CNSL como fator redutor dos metais. Os nanocompostos foram denominados nanopartículas de prata (AgNP), nanopartículas de ferro (FeNP1 e FeNP2) e nanopartículas de zinco (ZnONP). Nanocompostos de ferro foram sintetizados de duas plantas diferentes, por isso tiveram duas denominações.

2.2 Caracterização e avaliação da estabilidade das nanopartículas

Nanopartículas tendem a se agregarem conforme variações de armazenamento, tempo e outros fatores. A avaliação do tamanho médio das partículas, sua dispersividade e agregação foi realizada através da técnica de *Dynamic Light Scattering* (DLS) no instrumento Zetasizer (Malvern Panalytical) para o parâmetro de tamanho médio. Os dados obtidos foram comparados com os dados da caracterização primária realizada em 2022 na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Foram considerados nanopartículas as sínteses que apresentaram tamanho adequado dentro do intervalo de 1-1000 nm (MISHRA; MILITKY, 2019).

2.3 Isolados bacterianos

Para os testes de atividade antimicrobiana foram utilizadas as seguintes cepas de referência *American Type Culture Collection* (ATCC): *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 e *S. aureus* ATCC 29213. Além disso, foram utilizados isolados clínicos multirresistentes (presença da enzima carbapenemase KPC) provenientes do Laboratório de Pesquisa em Resistência Bacteriana do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (LABRESIS-HCPA) (Tabela 1).

Tabela 1: Isolados clínicos multirresistentes utilizados no estudo.

Isolados Clínicos	Resistência testada
<i>Enterobacter</i> spp. (92P)	Resistente ao meropenem (KPC positivo) e polimixina B
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (12P)	Resistente ao meropenem (KPC positivo) e polimixina B
<i>Serratia</i> spp. (54P)	Resistente ao meropenem (KPC positivo) e à polimixina B

*Fenótipo esperado resistente.

2.4 Avaliação da atividade antimicrobiana por microdiluição em caldo

A microdiluição em caldo foi a técnica utilizada para avaliação da atividade antimicrobiana dos nanocompostos em placas de 96 poços juntamente com 5×10^5 UFC/mL de inóculo bacteriano de interesse em cada poço. A técnica é baseada na diluição seriada dos compostos de interesse (125 a 0,12µg/mL): AgNP, FeNP1, FeNP2 e ZnONP.

Todos os nanocompostos foram diluídos em água destilada na concentração de 250µg/mL. Inicialmente foram adicionados 50µL do meio Mueller Hinton Cátion Ajustado (MHCA) nas linhas 2-11. 100µL de um dos nanocompostos foram adicionados nos 4 primeiros poços da linha 1 (1H, 1G, 1F, 1E) e 100µL de outro nanocomposto foram adicionados nos outros 4 poços da linha 1 (1D, 1C, 1B, 1A).

Com auxílio da pipeta multicanal automática foi realizada a diluição seriada (50µL) da linha 1 até a linha 11, descartando o volume da última linha (11). Os inóculos bacterianos foram padronizados para a escala 0,5 de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) e diluídos 1:100. Em seguida foram adicionados 50µL do inóculo bacteriano de interesse nos poços das colunas H, G, F, D, C, B das linhas 1 a 11. Nos poços das colunas E e A foram adicionados 50µL de MHCA e esses poços foram considerados como controle de cor (CC) com a finalidade de evitar que a precipitação de colônias/compostos fosse erroneamente observada como crescimento microbiano.

Na linha 12 adicionou-se 100µL de MHCA para o controle negativo (CN) nos 4 primeiros poços e 50µL de MHCA e 50µL de inóculo bacteriano para o controle positivo (CP) nos 4 poços restantes (Figura 1).

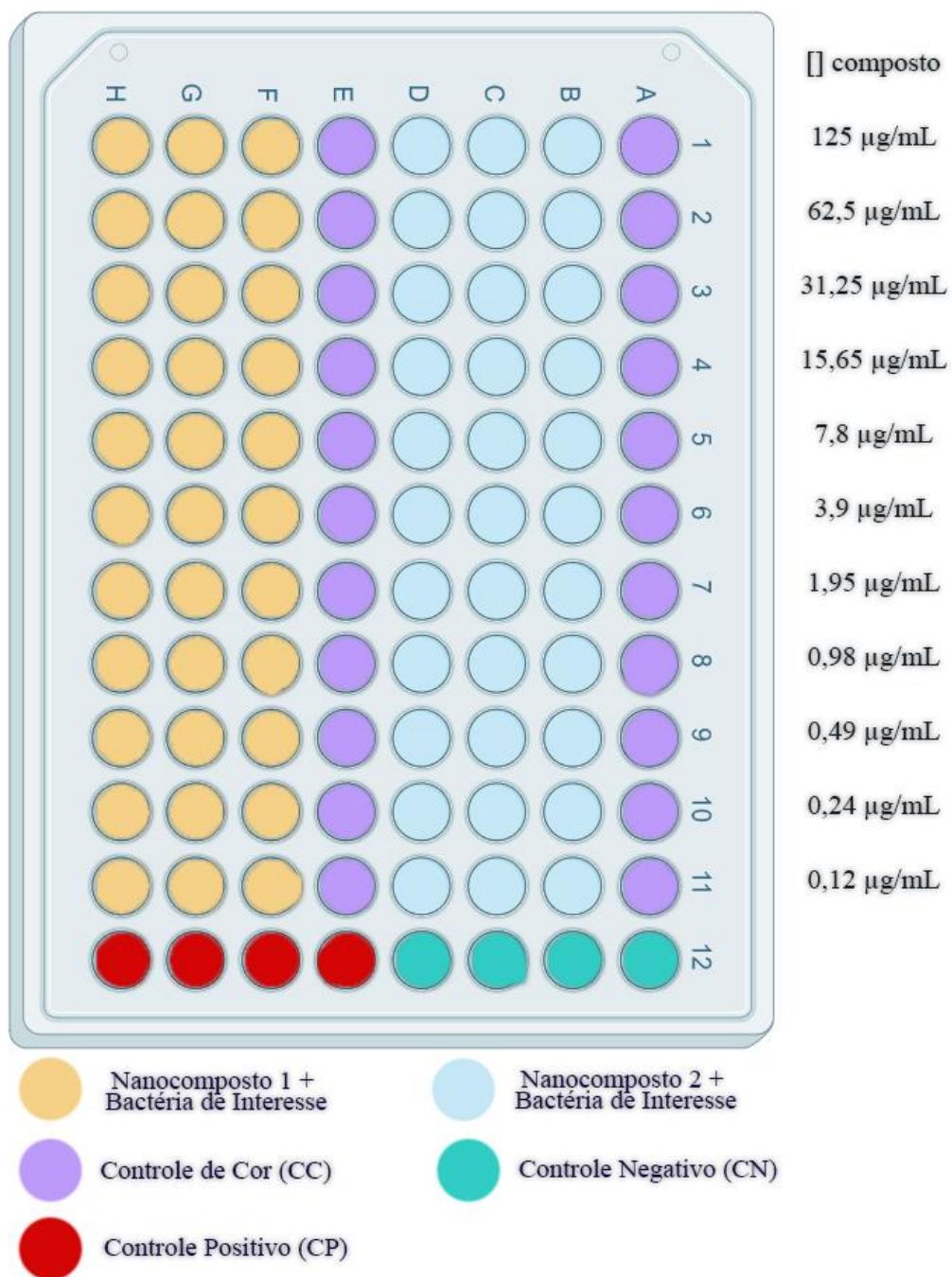


Figura 1: Configuração da placa de 96 poços para avaliação da atividade antimicrobiana por microdiluição em caldo.

Para as cepas ATCC foram realizadas placas de controle de qualidade utilizando os antimicrobianos ampicilina (256 $\mu\text{g/mL}$) e polimixina B (128 $\mu\text{g/mL}$) para *E. coli* ATCC 25922; ampicilina (256 $\mu\text{g/mL}$) para *S. aureus* ATCC 29213; e polimixina B (128 $\mu\text{g/mL}$) para *P. aeruginosa* ATCC27853. Os resultados foram comparados com os pontos de corte do BrCAST (BRCAST, 2024).

As placas foram incubadas entre 16-18 horas e $35\pm1^{\circ}\text{C}$. Em caso de dificuldade de leitura foi utilizado o corante resazurina 0,1% (10 μL), onde o corante permaneceu na coloração roxa quando ocorreu ausência de crescimento bacteriano e coloração rosa quando houve crescimento bacteriano. Os resultados foram analisados e determinada a Concentração Inibitória Mínima (CIM), a qual é definida como a menor concentração do composto testado que inibiu o crescimento bacteriano. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

3. RESULTADOS

3.1 Caracterização e avaliação da estabilidade dos nanocompostos

Apenas os nanocompostos AgNP e FeNP2 permaneceram estáveis e mantiveram seu tamanho médio dentro do intervalo adequado para uma nanopartícula. AgNP possui tamanho entre 100-150nm e FeNP possuir tamanho entre 350-400nm. As demais partículas apresentaram características micrométricas, entre 1,5 µm e 3 µm.

3.2 Ensaios de avaliação da atividade antimicrobiana

Apesar de apenas 2 nanocompostos estarem na escala nanométrica, foram avaliadas a atividade antimicrobiana de todos os 4 compostos. Apenas AgNP apresentou atividade antimicrobiana frente aos isolados testados. Os resultados de valor de CIM encontram-se descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Resultados de Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos nanocompostos frente a cepas de referência e isolados clínicos multirresistentes.

Microrganismo	CIM dos nanocompostos			
	ZnONP (>1000nm)	FeNP1 (>1000nm)	FeNP2 (350-400nm)	AgNP (100-150nm)
<i>E. coli</i> ATCC 25922	≥125µg/mL	≥125µg/mL	≥125µg/mL	0,49µg/mL
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	≥125µg/mL	≥125µg/mL	≥125µg/mL	1,95µg/mL
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	≥125µg/mL	≥125µg/mL	≥125µg/mL	0,98µg/mL
<i>Serratia</i> spp. (54P)	≥125µg/mL	≥125µg/mL	≥125µg/mL	0,98µg/mL
<i>Enterobacter</i> spp. (92P)	≥125µg/mL	≥125µg/mL	≥125µg/mL	0,49µg/mL
<i>K. pneumoniae</i> (12P)	≥125µg/mL	≥125µg/mL	≥125µg/mL	0,98µg/mL

4. DISCUSSÃO

Diversos fatores podem justificar o potencial antimicrobiano de nanopartículas. A primeira barreira que precisa ser ultrapassada para ação de potencial antimicrobiano é a membrana celular bacteriana. Um dos primeiros mecanismos da nanopartícula de conferir toxicidade a microrganismos é a adsorção à membrana celular, causando despolarização, mudando as cargas que outrora eram negativas, causando maior permeabilidade e desfragmentação da membrana celular (PELLETIER et al., 2010). Com a desfragmentação da membrana celular causada pela adsorção das nanopartículas, os antimicrobianos possuem acesso mais facilitado às células, potencializando seu efeito (MU et al., 2016). Estudo associando antimicrobianos (penicilina G, vancomicina, amoxicilina, eritromicina e clindamicina) às nanopartículas para tratamento *in vitro* de *E. coli* e *S. aureus* demonstrou aumento na atividade antibacteriana e potencial efeito sinérgico (SHAHVERDI et al., 2007).

Em nosso estudo apenas a AgNP apresentou atividade antimicrobiana frente aos isolados testados. A CIM de AgNP frente a *S. aureus* ($\geq 1,95\mu\text{g/mL}$) foi ligeiramente maior quando comparada com isolados Gram-negativos. Bactérias Gram-positivas possuem uma espessa camada de peptidoglicano, que pode agir como proteção frente a compostos com atividade antimicrobiana em comparação com bactérias Gram-negativas. Além disso, bactérias Gram-negativas apresentam em sua estrutura uma cobertura de moléculas de lipopolissacarídeos com cargas altamente negativas que possuem a capacidade de maior interação e afinidade com os íons de carga positiva liberados pelas nanopartículas, resultando em um aumento do influxo desses íons, que levam a danos intracelulares nestas bactérias (SLAVIN et al., 2017). Esse fator pode ter sido determinante para o resultado satisfatório da AgNP em bactérias Gram-negativas.

O diferencial das nanopartículas, em comparação com seu precursor, é a proporção de volume/superfície, já que sua característica nanométrica possibilita maior superfície de contato com os patógenos (SLAVIN et al., 2017). Nanopartículas de tamanho menor conferem maior atividade antibacteriana, uma vez que são capazes de produzir espécies reativas de oxigênio que ao entrarem em contato com as cargas negativas da membrana celular, podem danificar e inativar genes, proteínas e outros elementos essenciais para a funcionalidade celular (MARTINEZ-GUTIERREZ et al., 2010).

Espécies reativas de oxigênio podem romper a membrana celular pela peroxidação de lipídeos, inibindo crescimento celular (JAHNKE et al., 2016; MADL et al., 2014). Bactérias Gram-positivas não são terminantemente afetadas como as Gram-negativas por conta da

espessa camada de peptidoglicano. É importante ressaltar que nem todas as espécies reativas de oxigênio obtém sucesso em penetrar a membrana celular. Espécies reativas de oxigênio como OH (hidroxila) possuem cargas negativas, sendo um empecilho para penetração na membrana celular. A espécie reativa de oxigênio que surte maiores efeitos na penetração da membrana é o H₂O₂ (PADMAVATHY et al., 2008; WANG et al., 2020).

Quando se compara as nanopartículas de prata e a prata em seu estado bruto, as nanopartículas produzem mais espécies reativas de oxigênio (CHOI et al., 2008). Em microrganismos como *P. aeruginosa* há o aumento de expressão de proteínas antioxidantes, como tiol-específico e alquil hidroperóxido redutase, uma resposta direta ao estresse oxidativo que a AgNP induz na célula (SONI et al., 2014).

Em um nível de fisiologia celular, a prata possui a capacidade de interagir com grupos tiol, que participam diretamente de vias metabólicas importantes, síntese de enzimas e enovelamento de proteínas (LIU et al., 2006; SONI et al., 2014). As interações entre as nanopartículas e as proteínas acontecem nas porções tiol da manose-fosfato isomerase, que leva a interrupção da síntese da membrana celular e consequentemente a morte celular (Mukha et al., 2013). Ademais, nanopartículas de prata podem inibir a respiração celular bloqueando a ação de β-citocromo e α2-citocromo da mitocôndria (BRAGG et al., 1974) e induzirem aumento da expressão de citocromo C, que é o iniciador principal de apoptose intrínseca (LIU et al., 2023). Nanopartículas de prata também causam danos ao material genético dos microrganismos, se ligando ao DNA pela afinidade da prata com o fosfato do DNA (MORONES et al., 2005). Células de *E. coli* tratadas com prata apresentaram redução das proteínas atuantes na subunidade 30 dos ribossomos, afetando diretamente a produção de energia (ATP) ao reduzir a expressão de enzimas como a succinil-CoA sintetase (YAMANAKA et al., 2005). Este também é um fator que justifica o efeito antimicrobiano da AgNP.

Um número diminuto de trabalhos foi encontrado utilizando CNSL para síntese de nanopartículas. Shete e colaboradores (2023) utilizaram a técnica de ágar-difusão para determinar a atividade antimicrobiana de nanopartículas de prata sintetizadas a partir do CNSL (100mg/mL) frente a cepas de *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*, obtendo zonas de inibição de 9 mm, 11 mm e 14 mm, respectivamente (SHETE et al., 2023).

Outros produtos provenientes da *A. occidentale* são usados tanto como redutores, como estabilizantes de nanomateriais, como os polímeros do exsudato do caule da *A. occidentale*, que agem como estabilizantes por reduzirem processos agregadores (ARARUNA et al., 2013). Araújo e colaboradores (2020) testaram a atividade antimicrobiana de nanopartículas de prata

(3-10 nm) associada a *Cashew Gum* (CG)/goma de caju em cepas de *E. coli* (inibição de 64,7%) e *S. aureus* (inibição de 43,1%) (ARAUJO et al., 2020).

O uso do CNSL e do extrato hidroalcoólico da castanha do caju (CNSE) são mais comumente testadas isolados quanto ao seu potencial antimicrobiano. Utilizando CNSE, Sinsinwar e colaboradores (2020) encontraram CIM de 7,81 μ g/ml para *S. aureus* sensível à meticilina e 15,62 μ g/ml para *S. aureus* resistente à meticilina (SINSINWAR et al., 2020). Abbas e colaboradores (2024) fizeram extrações do CNSE com diversos solventes e concluíram que os extratos usando acetato de etila, metanol, hexano e diclorometano apresentaram melhor atividade antimicrobiana (ABBAS et al., 2024). Um estudo de síntese de nanopartículas metálicas explorando outros extratos podem, potencialmente, gerar NPs com efeito antimicrobiano mais satisfatório.

Diversas vias podem ser usadas para obtenção de nanopartículas metálicas, as duas principais são a via verde e a via química. Na síntese verde, são comumente utilizados extratos vegetais como agentes redutores, enquanto na síntese química, são utilizadas substâncias químicas como citrato trissódico (MITTAL et al., 2013). Na síntese de nanopartículas de prata utilizando a via química, Radzig e colaboradores (2013) obtiveram nanopartículas de prata dez vezes menores que as obtidas neste estudo (síntese verde), porém o resultado de CIM foi semelhante para *E. coli*, mesmo que de diferentes linhagens (RADZIG et al., 2013). Esse resultado entra em divergência com o princípio de proporcionalidade em que quanto menor a nanopartícula maior o efeito antibacteriano. Logo, há a hipótese de que o CNSL, agente redutor utilizado em nosso estudo, corrobora para o efeito antimicrobiano.

Na síntese de nanopartículas por via verde, utilizando outras plantas, Lima e colaboradores (2021) utilizaram óleo de plantas da espécie da família Arecaceae e obtiveram nanopartículas de tamanho semelhante às deste estudo e resultados de CIM entre 2,5-5,5 μ g/mL para *E. coli* e 21,25 μ g/mL para *S. aureus*, acima do encontrado em nosso estudo utilizando *A. occidentale* (LIMA et al., 2021). Nogueira e colaboradores (2019) identificaram que quando houve o uso do caju na síntese de NPs, a CIM para *E. coli* diminuiu pela metade do que em comparação a AgNPs sem caju, bem como nitrato de prata (AgNO_3) em seu estado bruto (NOGUEIRA et al., 2019).

Para encontrar as razões para este resultado é necessário ensaios comparativos entre a ação antimicrobiana isolada do CNSL e da prata. Esses comparativos poderiam elucidar o real diferencial do CNSL na atividade antimicrobiana e sua influência associada a nanopartículas. No presente estudo não foi possível realizar tais ensaios comparativos pelas limitações quanto a pouca disponibilidade de quantidade dos compostos estudados e também, quanto aos dados

sensíveis de propriedade da Embrapa - CENARGEN quanto a metodologia de síntese das nanopartículas.

Quanto às nanopartículas de Ferro sintetizadas neste estudo, FeNP2 apresentou características nanométricas, porém não houve atividade antimicrobiana. Uma possível explicação para tal é que o ferro é um elemento importante do metabolismo e fisiologia dos microrganismos, sendo necessário uma alta concentração de ferro para levar a um estresse celular e causar o efeito antimicrobiano (YE et al., 2020). Logo, a concentração de ferro nos ensaios de CIM pode não ter sido alta o suficiente para inibir o crescimento microbiano.

5. CONCLUSÃO

Diante da emergente necessidade de novas alternativas de tratamento de isolados multirresistentes, as nanopartículas de prata sintetizadas a partir de *A. occidentale* demonstram grande potencial.

Promissoras CIMs para nanopartículas de prata foram encontradas neste estudo (intervalo de 0.49-1.95 µg/mL) frente as cepas referências sensíveis *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*, bem como para isolados multirresistente de *K. pneumoniae*, *Serratia* spp. e *Enterobacter* spp. Os demais compostos não apresentaram atividade antimicrobiana e tampouco se mantiveram estáveis para serem considerados nanopartículas, com exceção do FeNP2.

Novos estudos acerca do real diferencial das nanopartículas de *A. occidentale* frente a outras estratégias e fontes antimicrobianas utilizando nanopartículas são necessárias.

6. REFERÊNCIAS

- ABBAS, J.; NOVITA ARIANI; WUYE RIA ANDAYANIE. Antibacterial Activity from The Cashew Nut Shell Extracts. E3S Web of Conferences, v. 503, p. 07007–07007, 1 jan. 2024.
- ABUSHAEHEN, M. A. et al. Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance. Disease-a-Month, v. 66, n. 6, 1 jun. 2020.
- ALEXANDER, J. W. History of the Medical Use of Silver. Surgical Infections, v. 10, n. 3, p. 289–292, jun. 2009.
- ARACELLI, D. S. L. et al. Pharmacological properties of cashew (*Anacardium occidentale*). African Journal of Biotechnology, v. 15, n. 35, p. 1855–1863, 31 ago. 2016.
- ARARUNA, F. B.; QUELEMES, P. V.; DE FARIA, B. E. F.; KUCKELHAUS, S. A. S.; MARANGONI, V. S.; ZUCOLOTTO, V.; DA SILVA, D. A.; JÚNIOR, J. R. S.; LEITE, J. R. S. A.; EIRAS, C. Green synthesis and characterization of silver nanoparticles reduced and stabilized by cashew tree gum. Advanced Science, Engineering and Medicine, v. 5, p. 1–4, 2013. DOI: 10.1166/asem.2013.1366.
- ARAÚJO, C. et al. Cashew-gum-based silver nanoparticles and palygorskite as green nanocomposites for antibacterial applications. Materials Science and Engineering: C. v. 115, n. 1, 2020. DOI: 10.1016/j.msec.2020.110927
- AYEPOLA, O.; ISHOLA, R. Evaluation of antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* (Linn.). Advances in Medical and Dental Sciences, v. 3, p. 1-3, 2009.
- BARAN, A.; KWIATKOWSKA, A.; POTOCKI, L. Antibiotics and bacterial resistance—a short story of an endless arms race. International Journal of Molecular Sciences, v. 24, n. 6, p. 5777, 17 mar. 2023. DOI: 10.3390/ijms24065777.
- BARROS, Romy Gleyse Chagas et al. In vitro gastrointestinal digestion and probiotics fermentation impact on bioaccessibility of phenolics compounds and antioxidant capacity of some native and exotic fruit residues with potential antidiabetic effects. Food Research International, v. 136, p. 109614, 2020.
- BRAGG, P. D.; RAINNIE, D. J. The effect of silver ions on the respiratory chain of *Escherichia coli*. Canadian Journal of Microbiology, v. 20, p. 883–889, 1974.
- BRAZILIAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING (BrCAST). Breakpoints tables for interpretation of MICs and zone diameters. 2024. Disponível em: <https://brcast.org.br/documentos/documentos-3/>. Acesso em: 10 fev. 2025.
- CHARI, C. S. et al. Nanoscale engineering of gold particles in 18th century Böttger lusters and glazes. Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 119, n. 18, 21 abr. 2022.
- CHOI, O.; HU, Z. Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria. Environmental Science & Technology, v. 42, p. 4583–4588, 2008.

DAVIS, C. C.; CHOISY, P. Medicinal plants meet modern biodiversity science. *Current Biology*, v. 34, n. 4, p. R158–R173, 1 fev. 2024.

DEPLANCHE, K. et al. Involvement of hydrogenases in the formation of highly catalytic Pd(0) nanoparticles by bioreduction of Pd(II) using *Escherichia coli* mutant strains. v. 156, n. 9, p. 2630–2640, 1 set. 2010.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. 35 000 annual deaths from antimicrobial resistance in the EU/EEA. Disponível em: <<https://www.ecdc.europa.eu/en/news-events/eaad-2022-launch>>.

GUTIÉRREZ-PAZ, C. et al. The Cashew Pseudofruit (*Anacardium occidentale*): Composition, Processing Effects on Bioactive Compounds and Potential Benefits for Human Health. *Foods*, v. 13, n. 15, p. 2357–2357, 26 jul. 2024.

INSTITUTE FOR HEALTH METRICS AND EVALUATION. The burden of antimicrobial resistance (AMR) in Brazil. IHME, 2019. Disponível em: <https://www.healthdata.org/antimicrobial-resistance>. Acesso em: 13 fev. 2025.

JAHNKE, J. P. et al. Conjugated gold nanoparticles as a tool for probing the bacterial cell envelope: The case of *Shewanella oneidensis* MR-1. *Biointerphases*, v. 11, n. 1, p. 011003, ago. 2016.

JALAL, Z.; BAKOUR, M.; LYOUSSE, B. Medicinal plants and zinc: impact on COVID-19 pandemic. *The Scientific World Journal*, v. 2021, p. 9632034, 23 set. 2021. DOI: 10.1155/2021/9632034.

KANNAN, R.; SAMIAPPAN, S.; VELRAMAR, B.; NACHIMUTHU, R. Elementary chemical profiling and antifungal properties of cashew (*Anacardium occidentale* L.) nuts. *Botany Research International*, v. 2, 2009.

LIMA, A. K. O. et al. Green synthesis: characterization and biological activity of silver nanoparticles using aqueous extracts of plants from the *Arecaceae* family. *Acta Scientiarum - Technology*, v. 43, 2021.

LIU, N. et al. Effect of MW and concentration of chitosan on antibacterial activity of *Escherichia coli*. *Carbohydrate Polymers*, v. 64, p. 60–65, 2006.

LIU, W. et al. Cytochrome c - silver nanoparticle interactions: Spectroscopy, thermodynamic and enzymatic activity studies. *Chemico-Biological Interactions*, v. 382, p. 110647, 25 jul. 2023.

LIZCANO, L. J.; BAKKALI, F.; RUIZ-SANZ, M. B.; RUIZ-SANZ, J. I. Antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Colombian Amazonian plants with medicinal use. *Food Chemistry*, v. 119, p. 1566-1570, 2010.

MADL, A. K. et al. Nanoparticles, Lung Injury, and the Role of Oxidant Stress. *Annual Review of Physiology*, v. 76, n. 1, p. 447–465, 10 fev. 2014.

- MARTINEZ-GUTIERREZ, F. et al. Synthesis, characterization, and evaluation of antimicrobial and cytotoxic effect of silver and titanium nanoparticles. *Nanomedicine*, v. 6, p. 681–688, 2010.
- MISHRA, R.; MILITKY, J. Nature, nanoscience, and textile structures. *Nanotechnology in Textiles*, p. 1–34, 2019.
- MITTAL, A. K.; KALER, A.; BANERJEE, U. C. Free radical scavenging and antioxidant activity of silver nanoparticles synthesized from flower extract of *Rhododendron dauricum*. *Nano Biomedicine and Engineering*, v. 4, p. 118–124, 2012.
- MITTAL, A. K.; CHISTI, Y.; BANERJEE, U. C. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology Advances*, v. 31, p. 346–356, 2013.
- MORONES, J. R. et al. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, v. 16, p. 2346, 2005.
- MU, H. et al. Potent Antibacterial Nanoparticles against Biofilm and Intracellular Bacteria. *Scientific Reports*, v. 6, 5 jan. 2016.
- MUKHA, I. P. et al. Antimicrobial activity of stable silver nanoparticles of a certain size. *Applied Biochemistry and Microbiology*, v. 49, p. 199–206, 2013.
- NOGUEIRA, S. S. et al. Silver nanoparticle stabilized by hydrolyzed collagen and natural polymers: Synthesis, characterization and antibacterial-antifungal evaluation. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 135, p. 808–814, 15 ago. 2019.
- PADMAVATHY, N.; VIJAYARAGHAVAN, R. Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles—an antimicrobial study. *Science and Technology of Advanced Materials*, v. 9, p. 35004, 2008.
- PELLETIER, D. A. et al. Effects of engineered cerium oxide nanoparticles on bacterial growth and viability. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 76, p. 7981–7989, 2010.
- RADZIG, M. A. et al. Antibacterial effects of silver nanoparticles on gram-negative bacteria: influence on the growth and biofilms formation, mechanisms of action. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 102, p. 300-306, 1 fev. 2013. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2012.07.039.
- ROMANO, B.; LUCARIELLO, G.; CAPASSO, R. Topical Collection “Pharmacology of Medicinal Plants”. *Biomolecules*, v. 11, n. 1, p. 101, 14 jan. 2021.
- SINSINWAR, S.; VADIVEL, V. ROS Mediated Cytotoxicity Exhibited by Cashewnut Shell Extract Coated AgNPs Against *Staphylococcus aureus* Isolated from Milk. *Journal of Cluster Science*, v. 32, n. 2, p. 531–547, 14 maio de 2020.
- SHAHVERDI, A. R. et al. Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, v. 3, n. 2, p. 168–171, jun. 2007.

SHAH, M. et al. Green Synthesis of Metallic Nanoparticles via Biological Entities. *Materials*, v. 8, n. 11, p. 7278–7308, 29 out. 2015.

SHETE, Prajakta B.; SHINDE, Ajay K.; GUPTA, Arati P.; MASURKAR, Snehal A.; PATHADE, Girish R. Synthesis of silver nanoparticles using cashew nutshell and mango peels extracts and their antibacterial activity. *Bulletin of Environmental Pharmacology and Life Sciences*, Special Issue [2], p. 46-50, 2023.

SHNOUDEH, A. et al. Chapter 15 - Synthesis, Characterization, and Applications of Metal Nanoparticles. *Biomaterials and Bionanotechnology*, v. 1, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814427-5.00015-9>

SINGH, J. et al. “Green” synthesis of metals and their oxide nanoparticles: applications for environmental remediation. *Journal of Nanobiotechnology*, v. 16, n. 1, p. 1–24, 2018. DOI: 10.1186/s12951-018-0408-4.

SLAVIN, Y. N. et al. Metal nanoparticles: Understanding the mechanisms behind antibacterial activity. *Journal of Nanobiotechnology*, 3 out. 2017.

SONI, D. et al. Stress response of *Pseudomonas* species to silver nanoparticles at the molecular level. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 33, p. 2126–2132, 2014.

SRIVASTAVA, S. et al. Green nanotechnology: an overview. *Green Nanoparticles: The Future of Nanobiotechnology*, p. 1–13, 2022.

SUN, M.; SEN GUPTA, A. Vascular Nanomedicine: Current Status, Opportunities, and Challenges. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 14 jun. 2019.

TENOVER, F. C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *American Journal of Infection Control*, v. 34, n. 5, p. S3–S10, jun. 2006

TREVISAN, M. T. S. et al. Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. *Food and Chemical Toxicology*, v. 44, p. 188-197, 2006.

VIMALA, K. et al. Green synthesized doxorubicin loaded zinc oxide nanoparticles regulates the Bax and Bcl-2 expression in breast and colon carcinoma. *Process Biochemistry*, v. 49, p. 160–172, 2014.

WANG, C. Y. et al. Advances in Antimicrobial Organic and Inorganic Nanocompounds in Biomedicine. *Advanced Therapeutics*, 1 ago. 2020.

VIJAYARAM, S. et al. Applications of Green Synthesized Metal Nanoparticles — a Review. *Biological Trace Element Research*, 13 abr. 2023.

YAMANAKA, M.; HARA, K.; KUDO, J. Bactericidal actions of a silver ion solution on *Escherichia coli*, studied by energy-filtering transmission electron microscopy and proteomic analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 71, p. 7589–7593, 2005.

YE, Q. et al. Iron and zinc ions, potent weapons against multidrug-resistant bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 104, n. 12, p. 5213–5227, 18 abr. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Bacterial Priority Pathogens List, 2024: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. Geneva: World Health Organization; 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). World Health Organization Model List of Essential Medicines – 23rd List, 2023. In: The selection and use of essential medicines 2023: Executive summary of the report of the 24th WHO Expert Committee on the Selection and Use of Essential Medicines, 24 – 28 April 2023. Geneva: World Health Organization; 2023 (WHO/MHP/HPS/EML/2023.02).