



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



HÉVELLIN TALITA SOUSA LINS

**ESTRATÉGIAS PARA O ENFRENTAMENTO DE BACTÉRIAS MULTI-DROGA
RESISTENTES - MDR E EXTENSIVAMENTE MULTI-DROGA RESISTENTE
ORIUNDAS DE AMBIENTES AQUÁTICOS IMPACTADOS E AMBIENTES
CLÍNICOS**

Recife-PE

2023

HÉVELLIN TALITA SOUSA LINS

**ESTRATÉGIAS PARA O ENFRENTAMENTO DE BACTÉRIAS MULTI-DROGA
RESISTENTES- MDR E EXTENSIVAMENTE MULTI-DROGA RESISTENTE
ORIUNDAS DE AMBIENTES AQUÁTICOS IMPACTADOS E AMBIENTES
CLÍNICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências Biológicas. Área de concentração: Meio Ambiente.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Betânia Melo de Oliveira

Coorientadora: Dra. Carina Lucena Mendes - Marques

Recife-PE

2023

Catálogo na Fonte
Bibliotecário: Marcos Antonio Soares da Silva
CRB4/1381

Lins, Hévellin Talita Souza.

Estratégias para o enfrentamento de bactérias multi-droga resistentes - MDR e extensivamente multi-droga resistente, oriundas de ambientes aquáticos impactos e ambientes clínicos. / Hévellin Talita Souza Lins . – 2023.

95 f. : il., fig.; tab.

Orientadora: Maria Betânia Melo de Oliveira.

Coorientadora: Carina Lucena Mendes - Marques.

.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, 2023.

Inclui referências e anexo.

1. Resistência bacteriana. 2. Microrganismos 3. Ambientes impactados. 4. Óleo essencial. 5. Myrciaria tenella. 6. 1,8-cineol. I. Oliveira, Maria Betânia Melo de (Orient.). II. Mende - Marques, Carina Lucena (Coorient.). III. Título

570

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2024-049

HÉVELLIN TALITA SOUSA LINS

**ESTRATÉGIAS PARA O ENFRENTAMENTO DE BACTÉRIAS MULTI-DROGA
RESISTENTES- MDR E EXTENSIVAMENTE MULTI-DROGA RESISTENTE
ORIUNDAS DE AMBIENTES AQUÁTICOS IMPACTADOS E AMBIENTES
CLÍNICOS**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciências Biológicas da Universidade
Federal de Pernambuco, como
requisito parcial para obtenção do
título de mestre em Ciências
Biológicas.

Aprovada
em: 04/12/2023

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Maria Betânia Melo de Oliveira
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof^ª. Dr^ª. Thâmarah de Albuquerque Lima
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof^ª. Dr^ª. Márcia Vanusa da Silva
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof^ª. Dr^ª. Sivoneide Maria da Silva
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof^ª. Dr^ª. Livia Caroline Alexandre de Araújo
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Dedico a meus avós
Gabriel Alves e Josefa Maria,
a meus pais
Maria Inez e José Teixeira
e a toda minha família

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por sua misericórdia e sabedoria a mim concedida.

À minha orientadora Maria Betânia Melo de Oliveira, a co-orientadora, Carina Lucena Mendes Marques, por todos os ensinamentos passados, todo apoio e incentivo, bem como, todo esforço e dedicação para com o desenvolvimento deste trabalho. De modo particular, a Amanda Vieira de Barros, por todo conhecimento compartilhado, todo apoio e dedicação no desenvolvimento deste trabalho.

À minha mãe Maria Inez e meu pai José Teixeira, por todo esforço, carinho e dedicação. Por todo o incentivo e apoio, e por todo amor que dedicaram e dedicam a mim todos os dias. Gostaria de agradecer também a meus avós, Gabriel Alves da Silva e Josefa Maria da Silva, por todo amor que a mim foi dedicado ao longo dos anos em que pudemos conviver juntos. A todos meus familiares e amigos pelo carinho, apoio e pela torcida, para que esse ciclo fosse concluído da maneira mais linda possível.

Sinto-me grata pela oportunidade de desenvolver meu trabalho e por todo o conhecimento que adquiri no Laboratório de Biologia Molecular e Núcleo de Biossegurança e Meio Ambiente (NuBioma). Bem como, pelos companheiros e amigos que tive o prazer de conhecer durante essa jornada, gostaria de agradecer-los, Tainara, Lívia, Sivoneide e todos os outros que acompanharam minha trajetória, pela ajuda e pelos conhecimentos compartilhados.

Aos funcionários do Departamento de Bioquímica, que estão sempre predispostos a nos auxiliar.

À Pós-Graduação de Ciências Biológicas, pelos serviços prestados e aos professores do programa por auxiliar no aprimoramento dos nossos conhecimentos acadêmicos.

Aos meus amigos de vida, em especial a Abigail e Gabriel, por todos os conselhos e palavras de incentivo, bem como por todo amor e dedicação.

A todos que, mesmo não sendo aqui listados, tiveram participação nessa conquista, os meus mais sinceros agradecimentos.

Por fim, agradeço a UFPE e ao Departamento de Bioquímica pelo espaço cedido e aos órgãos de fomento, especialmente a CAPES, pelo apoio financeiro.

*“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito.
Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.*

Marthin Luther King

RESUMO

O desenvolvimento da resistência bacteriana a várias classes de antibióticos torna-se cada vez mais comum, uma vez que em vários ambientes bactérias são expostas a esses medicamentos e seus metabólitos, gerando um grande comprometimento à saúde pública. Nesse contexto, o desenvolvimento de novos fármacos e/ou estratégias antibacterianas tem sido alvo de pesquisas. O objetivo principal deste trabalho foi avaliar alternativas que contribuam para o enfrentamento de patógenos resistentes. Para isso, foram utilizadas duas abordagens: 1. Capítulos de revisão abordando: a atividade antimicrobiana de nanopartículas e lipossomas como carreadores de fármacos e 2. artigo experimental investigando a ação antimicrobiana do óleo essencial de *Myrciaria tenella* (OEMT) e seu composto majoritário, isolados ou em associação com a Ampicilina (AMP). Já para o trabalho experimental, foram selecionados 14 isolados da bacterioteca de microrganismos do Laboratório de Biologia Molecular (BioMol) da UFPE, 12 oriundos de um ambiente aquático impactado e 2 de um ambiente hospitalar. Estes foram previamente identificados quanto sua taxonomia e classificados quanto seu perfil de resistência. A atividade antimicrobiana do OEMT foi verificada, assim como do seu composto majoritário 1,8-cineol em isolados XDR e MDR por meio da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), modulação (MOD) com o antibiótico AMP, curva de crescimento, curva de morte microbiana e testes de toxicidade *in vivo* com larvas de *Tenebrio molitor*. Os resultados revelaram que o OEMT, bem como do 1,8-cineol, quando associado a AMP, inibiram o crescimento de todos os isolados. Os resultados de curva de morte e curva de crescimento demonstraram redução da carga bacteriana apenas para os tratamentos de modulação. Já para os testes *in vivo*, foi possível observar que não houve toxicidade quando utilizadas as menores concentrações dos tratamentos de MOD. O trabalho apresentado corresponde a uma coletânea de alternativas a serem utilizadas e aprimoradas para o combate a Resistência Antimicrobiana (RAM) e a escolha de cada método a ser utilizado dependerá de fatores associados à pesquisa e as condições e experiências dos grupos de pesquisa.

Palavras-chave: Resistência bacteriana; microrganismos; ambientes impactados; óleo essencial; *Myrciaria tenella*; 1,8-cineol.

ABSTRACT

The development of bacterial resistance to various classes of antibiotics is becoming increasingly common, since in various environments bacteria are exposed to these drugs and their metabolites, causing great harm to public health. In this context, the development of new medicines and/or antibacterial strategies has been the target of research. The main objective of this work was to evaluate alternatives that contribute to combating resistant pathogens. For this, two approaches were used: 1. Review chapters addressing: the antimicrobial activity of nanoparticles and liposomes as drug carriers and 2. experimental article investigating the antimicrobial action of *Myrciaria tenella* essential oil (OEMT) and its major compound, isolated or in association with Ampicillin (AMP). For the experimental work, 14 isolates were selected from the microorganism library of the Molecular Biology Laboratory (BioMol) at UFPE, 12 from an impacted aquatic environment and 2 from a hospital environment. These were previously identified according to their taxonomy and classified according to their resistance profile. The antimicrobial activity of OEMT was verified, as well as that of its major compound 1,8-cineole in XDR and MDR isolates by determining the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), modulation (MOD) with the antibiotic AMP, growth curve, of microbial death and in vivo toxicity tests with *Tenebrio molitor* larvae. The results revealed that OEMT, as well as 1,8-cineole, when associated with AMP, inhibited the growth of all isolates. The death curve and growth curve results demonstrated a reduction in bacterial load only for the modulation treatments. As for in vivo tests, it was possible to observe that there was no toxicity when using the lowest concentrations of DOM treatments. The work presented corresponds to a collection of alternatives to be used and improved to combat Antimicrobial Resistance (AMR) and the choice of each method to be used will depend on factors associated with the research and the conditions and experiences of the research groups.

Keywords: Bacterial resistance; microorganisms; impacted environments; essential oil; *Myrciaria tenella*; 1,8-cineol.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Mapa da bacia hidrográfica do Rio Capibaribe no estado de Pernambuco	26
Figura 2 -	Mapa da Caatinga	28
Figura 3 -	Mapa representativo da posição geográfica do vale do catimbau.	29
Figura 4 -	Planta <i>Myrciaria tenella</i> e seus frutos.	33
Figura 5 -	Estrutura química do composto 1,8-cineol ou eucaliptol.	35
Figuras Do Capítulo II		
Figura 1-	Mecanismos de ação das nanopartículas de prata.	50
Figura 2-	Bionanofábricas na síntese verde de nanopartículas de prata.	52
Figuras Artigo experimental		
Gráfico 1-	Curvas de Crescimento.	66
Gráfico 2-	Curvas de Morte.	68
Gráfico 3-	Teste de toxicidade dos tratamentos de acordo com a sobrevivência das larvas de <i>T. molitor</i> .	69
Gráfico 4-	Inoculação bacteriana em modelos de <i>T. molitor</i> .	70
Gráfico 5-	Testes de Sobrevivência, Modelo de larvas de <i>T. molitor</i> inoculadas 1 MacFarland e tratadas.	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Isolados bacterianos e perfil de resistência.	59
Tabela 2 -	Perfil químico do OE de <i>Myrciaria tenella</i> (OEMT).	63
Tabela 3 -	Avaliação do efeito modulador do OE de <i>Myrciaria tenella</i> associado ao antibiótico AMP.	65
Tabela 4 -	Valores referente ao efeito modulador do composto majoritário 1,8 cineol, em associação com o antibiótico AMP.	65
Tabela 5 -	Avaliação da toxicidades dos grupos em relação às concentrações do MOD definidas.	69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMP	Ampicilina
CNL	1,8-cineol
OEMT	Óleo Essencial de Myrciaria tenella
OE	Óleo Essencial
RAM	Resistência Antimicrobiana

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	GERAL	16
2.2	ESPECÍFICOS	16
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	17
3.1	INFECÇÕES BACTERIANAS.....	17
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
	CONCLUSÃO	52
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
5	CONCLUSÕES	83
6	SÚMULA CURRICULAR	84
7	REFERÊNCIAS	86
8	ANEXO A	95

1 INTRODUÇÃO

Bactérias são microrganismos unicelulares e estão entre as formas de vida mais primitivas do nosso planeta, encontradas em todos os ambientes, desde o solo, até a água, em condições inóspitas ou propícias ao desenvolvimento e sustentação da vida. Essa sobrevivência só é possível graças à capacidade adaptativa extremamente alta que elas apresentam, por estarem sendo sempre expostas a possíveis agentes estressores e nocivos à sua sobrevivência. Nos últimos anos, a saúde pública mundial vem observando aumentos significativos no número de infecções causadas por bactérias de caráter resistente. O uso indiscriminado de antibióticos é citado como uma das principais causas de resistência microbiana (Oliveira; Pereira; Zamberlim, 2020; De Freitas; Dias; De Oliveira, 2022).

Após a pandemia da COVID-19, esses dados tornaram-se ainda mais evidentes, pois por falta de profilaxia e tratamento diante do vírus, medidas desesperadas foram tomadas, e por falta de informação, muitas pessoas se automedicaram, utilizando medicamentos antibacterianos como tratamento (Ferreira; Junior, 2022). Por consequência, a resistência tornou-se ainda maior, uma vez que entendemos que ela ocorre de várias formas, como por meio de mutações, ou seleção, tornando-se uma resposta celular à utilização de antibióticos, causando mudanças genéticas e promovendo sobrevivência mesmo em ambientes inóspitos (De Araújo Neto *et al*, 2023).

Em relatório divulgado pela OMS em 2023, a RAM foi indicada como uma das 10 maiores ameaças à saúde pública mundial. Enfatiza-se também, que em 2019 cerca de meio milhão de vidas poderiam ter sido poupadas se houvesse medicamentos eficientes contra esses microrganismos (Working, 2023). Por consequência disso, procedimentos hospitalares rotineiros, como cirurgias e transplantes, vêm sendo ameaçados. A falta de antibióticos capazes de tratar infecções sem causar danos à saúde dos pacientes, torna esses procedimentos cada vez mais perigosos, causando um aumento de risco de infecções, elevando o número de morbidade e mortalidade e, conseqüentemente, promovendo prejuízos à saúde pública (Araújo Neto *et al*, 2023).

Porém, os ambientes hospitalares não são os únicos que possuem e disseminam bactérias resistentes. Os aquáticos impactados vêm sendo recentemente

citados como locais que não apenas albergam patógenos, mas também possibilitam o surgimento, aumento e transferência da RAM (Souza *et al*, 2023). Diante disso, a busca por novos métodos de tratamento ou moléculas que possuam características antimicrobianas, tornou-se prioridade em todos os segmentos da Ciência e Tecnologia (Jain *et al*, 2021).

Desde a utilização de nanomateriais com características antimicrobianas, como nanopartículas de prata e ouro (De Sousa *et al*, 2013; Rónavári *et al*, 2021; Jain *et al*, 2021), encapsulamento de fármacos para melhorar a sua biodisponibilidade (Balafauti; Pippa; Pispas, 2022) ou a utilização de compostos naturais, retirados de plantas medicinais, demonstram características antimicrobianas promissoras no combate e tratamento dessas patologias resistentes (Santos *et al*, 2011). Assim, o objetivo deste trabalho foi realizar um estudo para verificar as alternativas atuais descritas na literatura para o enfrentamento e melhoria no tratamento das infecções causadas por bactérias resistentes.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar alternativas que possam contribuir para o enfrentamento da RAM em isolados clínicos e ambientais MDR e XDR.

2.2 ESPECÍFICOS

- Revisar as alternativas metodológicas atuais utilizadas para o enfrentamento da RAM;
- Caracterizar quimicamente óleo essencial de *M. tenella*; e selecionar ou identificar seu ou seus principais componentes majoritários;
- Avaliar a concentração mínima inibitória do óleo essencial de *M. tenella* e do seu composto 1,8-Cineol sobre bactérias patogênicas de origem aquática e hospitalar;
- Realizar testes de sinergismo com o óleo essencial de *M. tenella*, e seu composto majoritário, associados com o antibiótico ampicilina, bem como realizar curvas de crescimento e morte bacteriana, diante dos tratamentos;
- Realizar testes de sobrevivência e toxicidade *in vivo* em modelos de *Tenebrio molitor*.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 INFECÇÕES BACTERIANAS

Algumas bactérias são organismos fundamentais para a microbiota humana. Em sua maioria são consideradas inofensivas, ajudando em processos como digestão, colonizando a microbiota intestinal e agindo em competição com patógenos oportunistas (Deusenbery *et al*, 2021). Estes organismos foram descritos pela primeira vez em 1670, por Anton Van Leeuwenhoek, inventor do microscópio holandês. Porém, apenas com os experimentos de Louis Pasteur, foi possível demonstrar que esses eram responsáveis por processos de fermentação e amplamente distribuídos pelo meio ambiente (Guimarães *et al*, 2010).

Em 1882, o bacteriologista dinamarquês Hans Christian Gram, identificou organismos causadores da pneumonia, por meio de um método de coloração que levaria seu nome, utilizando cristal violeta ou azul de metileno como cor primária (Tripathi; Sapra, 2022). Nesta metodologia, o cristal violeta era retido pela densa parede celular de peptidoglicano de algumas bactérias, que eram classificadas como Gram positivas, dando a esses microrganismos uma coloração violeta azulada. Já os que eram considerados Gram negativos, apresentavam uma camada mais fina de peptidoglicano em sua parede celular, observadas com uma coloração mais avermelhada, por conta do último corante utilizado, a fucsina. (Tripathi; Sapra, 2022; Sizar *et al*, 2023).

Dentre essas bactérias destacam-se dois grandes grupos, o das *Enterobacteriaceae*, dentre eles estão os gêneros *Escherichia*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Yersinia*, *Shigella* e *Salmonella* e o grupo de bacilos não-fermentadores que engloba microrganismos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia pseudomallei*, *Stenotrophomonas*, *Alcaligenes* e *Moraxella*. Os Gram positivos são divididos em cocos (*Staphylococcus*, *Streptococcus*) e bacilos (*Bacillus*, *Clostridia*, *Listeria* e *Corynebacterium*) (Tripathi; Sapra, 2022; Sizar *et al*, 2023).

Porém, apesar do papel importante que exercem para a saúde humana, nos últimos anos bactérias vêm se tornando cada vez mais perigosas, principalmente por suas capacidades adaptativas que garantem sua sobrevivência em situações de estresse, gerando resistência a várias classes de antimicrobianos. Historicamente, a

descoberta dos antibióticos foi uma das mais importantes do século 20, possibilitando uma melhor performance clínica no tratamento de infecções e, conseqüentemente, tornando mais seguros vários procedimentos clínicos modernos como cirurgias, transplantes de órgãos e tratamentos de câncer (Hutchings *et al*, 2019; Balasegaram; Piddock, 2020).

Contudo, com a utilização inadequada desses medicamentos ao longo dos anos, os casos de resistência aos antimicrobianos rapidamente se tornou uma realidade no nosso cotidiano. Como consequência, observa-se uma crise que se instala silenciosamente pelo mundo, onde infecções que antes eram tratáveis, atualmente vêm sendo devastadoras (Hutchings *et al*, 2019; Balasegaram; Piddock, 2020).

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 25% das mortes que ocorrem no mundo são decorrentes de infecções (Basso *et al*, 2016). As doenças infecciosas podem ser transmitidas por vírus, fungos, bactérias, prions e etc. Esses agentes geram dano tecidual e sistêmico, podem ser transmissíveis e desencadeiam uma resposta imunológica adaptativa no hospedeiro (Costa *et al*, 2020). Toda infecção dá-se após o agente infeccioso passar pelos processos de adesão, invasão e evasão do sistema imunológico do hospedeiro, colonizando a região tecidual, posteriormente, causando dano tecidual e sistemático. Se nenhuma forma de proteção for encontrada, a infecção pode causar a morte do hospedeiro (Da Costa; Junior, 2017).

Doenças causadas por infecções de bactérias resistentes caracterizam condições médicas difíceis ou quase impossíveis de serem tratadas (Arzanliou *et al*, 2017). Apenas em 2019, cerca de 4,95 milhões de mortes foram associadas a infecções bacterianas resistentes (Murray *et al*, 2022). Esses organismos conseguem desenvolver várias estratégias de evasão e sobrevivência, que as protegem da morte celular em decorrência dos antibióticos. Dentre esses mecanismos podemos citar a bomba de efluxo que tem o objetivo de retirar o antibiótico da célula e enzimas específicas que podem degradar ou causar a inativação do fármaco, além de desenvolverem funções primordiais que impedem a ligação dos antibióticos em seus sítios ativos (Mayorga-Ramos *et al*, 2023).

3.2 RESISTÊNCIA MICROBIANA A ANTIBIÓTICOS

Antimicrobianos representam uma classe de medicamentos que abrangem os antibacterianos, antifúngicos, antibióticos, antivirais e antiparasitários. Ao longo dos anos, o significativo aumento da resistência medicamentosa adquirida por vários microrganismos traz muita preocupação para as entidades de saúde pública no Brasil e no mundo (Morrison; Zembower, 2020). Segundo a OMS, a resistência bacteriana aos antibióticos tem crescido exponencialmente, representando perigo para a saúde pública mundial, elevando o risco de falha no tratamento de infecções recorrentes e aumentando as taxas de morbidade e mortalidade, resultando em custos elevados à saúde (Huermer *et al*, 2020).

A resistência ocorre quando as bactérias começam a se adaptar e mudar no ambiente, desenvolvendo mecanismos de defesa que as permite sobreviver em situações de estresse. Com isso, as bactérias tornam-se mais infecciosas, difíceis de tratar e aumentam o risco de propagação de doenças. Algumas situações acabam contribuindo para o surgimento de novos isolados bacterianos resistentes, como o consumo inadequado de antibióticos, a falta de informação da população diante das infecções bacterianas, a utilização excessiva de antibióticos na agropecuária, além da contaminação ambiental causada com o despejo inadequado de medicamentos e resíduos hospitalares no solo e na água (Silva *et al*, 2020).

O Centro de Controle de Doenças dos Estados Unidos (CDC, 2019) publicou que em 2013, cerca de 2 milhões de pessoas adquiriram infecções causadas por bactérias Multidroga-resistentes (MDR) e Extensivamente droga-resistentes (XDR), que ocorrem por meio da seleção de bactérias mais fortes e com potencial maior de sobreviver a ação dos fármaco (Troncoso, 2020).

Muitos desses medicamentos são produzidos por organismos vivos. Diante disto, acredita-se que a exposição de bactérias a estes compostos ocorra há milhares de anos (Morrison; Zembower, 2020; Christaki *et al*, 2020). Dentre as várias teorias que tentam explicar como organismos vivos, como actinomicetos, produzem materiais consumidos atualmente como antibióticos é que essas substâncias químicas possuem várias funções como defesa, predação, ou até mesmo, moléculas sinalizadoras para interação com hospedeiros eucariotos, a exemplo das plantas e insetos (Hutichings *et al*, 2019).

Alguns genes de resistência estão presentes nas bactérias há milhares de anos. Em 1940, ano em que a penicilina começou a ser utilizada, alguns estudos apontam que isolados de *Staphylococcus* já apresentavam resistência ao antibiótico.

Pesquisas também observaram que isoladas de *Serratia spp*, *Enterobacter*, *Klebsiella sp.* e *Yersinia*, retiradas de águas glaciais, com mais de 2.000 anos, já carregavam genes de resistência à ampicilina em seu DNA. Assim como outros DNA's bacterianos retirados de sedimentos de pergelissolo, com mais de 30.000 anos possuíam genes de resistência à vancomicina (Morrison; Zembower, 2020; Christaki *et al*, 2020).

A introdução de elementos genéticos móveis, tais como: transposons, plasmídeos e integrons, geram a predominância de cepas patogênicas multidroga resistentes (Ibrahim, 2021). Além de bombas de efluxo que podem expulsar mais de um antibiótico (Nikaido, 2009). Com isso, as formas de resistência demonstradas pelas bactérias podem ser intrínseca, adaptativa e adquirida. A intrínseca é ocasionada pelas características particulares da bactéria (Christaki *et al*, 2020).

Já a adquirida é caracterizada quando uma bactéria previamente sensível adquire mecanismos de resistência por meio de mutações ou transferência horizontal, podendo ocorrer por meio de três mecanismos: transformação, onde o DNA ativo presente no meio é absorvido pelo citoplasma da bactéria; conjugação, citado como o possível meio de transmissão horizontal mais importante, onde ocorre a transmissão unidirecional do DNA livre, através de contato físico por meio de um "pilo sexual"; e por fim a transdução, onde ocorre a transmissão de informação genética do doador para o receptor por meio de um bacteriófago (Daubin; Szollosi, 2016; Christaki *et al*, 2020).

Assim, os ambientes aquáticos são citados como de suma importância para a disseminação de contaminantes farmacêuticos que contribuem com o aumento da resistência aos medicamentos por animais, humanos e microrganismos. Estudos destacam que houve um aumento mundial significativo no consumo diário de antibióticos, de 9,8 Dose Diária Definida (DDD), por 1.000 pessoas por dia, para 14,3 DDD por 1.000 pessoas por dia, entre os anos 2000 e 2018 (Ogunlaja *et al*, 2022).

Como consequência, os medicamentos tornam-se ineficazes e as infecções mais persistentes. Os antibióticos representam uma das ferramentas mais importantes utilizadas no combate às infecções que comprometem a qualidade de vida e sobrevivência dos seres humanos. De modo geral, eles atuam contendo o crescimento bacteriano ou até mesmo erradicando-o, por meio de mecanismos bactericidas e bacteriostáticos. Existem no mundo hoje, em média, 20 classes de antimicrobianos diferentes, tornando clara a diversidade existente de medicamentos

disponíveis e seus vários mecanismos de ação (Muhlberg *et al*, 2020).

3.3 AMBIENTES QUE POSSIBILITAM O SURGIMENTO DE BACTÉRIAS RESISTENTES

3.3.1 AMBIENTE HOSPITALAR

Os hospitais são considerados ambientes que potencializam o surgimento e a disseminação de resistência bacteriana. De acordo com a Portaria nº2.616/1998 do Ministério da Saúde (MS), são consideradas infecções nosocomiais “aquelas adquiridas após a admissão do paciente no ambiente hospitalar, ocorrendo durante sua internação ou alta” (Dutra *et al*, 2023). Estas infecções levam a óbito em média cem mil pacientes a cada ano, e apenas no Brasil, segundo dados da OMS, as infecções hospitalares atingem 14% dos pacientes internados (Silva *et al*, 2023).

O surgimento de infecções causadas por microrganismos resistentes e multirresistentes é comum em ambientes hospitalares, principalmente pelo fato de que existe uma ampla variedade de microrganismos presentes nestes locais como bactérias, fungos, vírus e protozoários. Ademais, as condições clínicas de vulnerabilidade dos pacientes, que frequentemente são submetidos a procedimentos invasivos, enfraquecem seu sistema imunológico e os tornam mais suscetíveis a infecções oportunistas. Diante dessas condições, a prescrição de antibióticos de amplo espectro pelos profissionais de saúde é muito comum, levando a promoção de resistência bacteriana. Ademais, os antibióticos estão entre os fármacos mais prescritos e consumidos de forma errada e abusiva no mundo, por vezes, sendo consumidos mais que o necessário, além de dosagens inadequadas por tempo de uso prolongado, proporcionando o surgimento de novos isolados resistentes (Lima *et al*, 2022; Ferreira *et al*, 2023).

A OMS também destaca que, se mantido o cenário atual, o número de mortes causadas por infecções provenientes de bactérias resistentes a antibióticos pode chegar a 10 milhões, a cada ano, até 2050. A disseminação e o grave problema do uso desordenado de antibióticos faz com que as bactérias, que não possuíam potencial patogênico, desenvolvam mecanismos de defesa que reduzam o poder de agentes antibacterianos, resultando no surgimento da resistência (Lima *et al*, 2022).

A dispersão desses microrganismos facilita sua multiplicação e contribui, assim, com o aumento de infecções. A dispersão desses agentes, pode ocorrer por meio de duas vias: endógenas ou exógenas. As endógenas ocorrem por meio da própria microbiota corporal do paciente e a via exógena se dá pelo transporte bacteriano promovido por vetores externos, como: mãos mal higienizadas, secreções, fluidos, materiais contaminados ou através de insetos como formigas e baratas (Da Silva *et al*, 2020).

Ademais, o uso regular de Equipamentos de Proteção Individual (EPI's) e a higiene das mãos durante o tratamento de doentes podem reduzir significativamente a propagação de microrganismos resistentes. Além disso, a prática de técnicas assépticas, especialmente quando se trata de organismos multirresistentes, também pode proporcionar diminuição da propagação desses agentes (Rêgo; Santana; Passos, 2023). Apesar do ambiente hospitalar ser o principal local para o surgimento e disseminação de patógenos, ele não é o único. A literatura vem demonstrando que ambientes aquáticos impactados também vem contribuindo com o surgimento e a dispersão de bactérias resistentes (Araújo *et al*, 2018; Souza *et al*, 2023).

3.3.2 AMBIENTE AQUÁTICO IMPACTADO

A água é considerada um recurso natural indispensável para a sobrevivência de todos os seres vivos, desde os microscópicos ou macroscópicos. O planeta terra é recoberto, em sua grande maioria, por água, porém 97,5% dessa água é salgada imprópria para o consumo humano, restando apenas 2,5% de água doce. Desse mínima percentagem de água doce, apenas 0,3 % está concentrada em mananciais, 30% no subsolo e 70% nas geleiras. A edificação das sociedades modernas e economicamente prósperas está intimamente ligada aos reservatórios de água, bem como a seus ciclos, que garantem a possibilidade do cultivo de alimentos, animais, rotas de comércio, produção de energia, produção industrial, entre outros (Augusto, 2012; De Souza, 2014; Coletti, 2022).

O desenvolvimento humano e a qualidade de vida das civilizações está intimamente relacionado com a quantidade e qualidade da água disponível para o consumo (Andrade, 2019). Diante disto, o processo de ocupação urbana gera grandes impactos no meio ambiente, que ocorre principalmente por conta da falta de

recursos necessários para a melhoria da qualidade de vida. O deslocamento de pessoas força a expansão de áreas urbanas, sobretudo, em decorrência da falta de infraestrutura para acomodar todos de forma adequada. Isso causa uma apropriação incansável dos recursos naturais oferecidos, que com o tempo torna-se escassos (Do Rêgo *et al*, 2021).

Sabe-se também que as ações humanas, tais como: mineração, indústrias próximas às áreas de canais, falta de saneamento básico e infraestrutura, entre outros, refletem na contaminação de rios e corpos d'água. Essas práticas comprometem a qualidade da água disponível para o consumo, provocando impactos negativos no meio ambiente. Essa contaminação é ainda maior em áreas urbanas e periurbanas, onde é constantemente observado um grande aporte de efluentes domésticos, químicos e hospitalares (Mora *et al*, 2021).

Dados indicam que o aumento dessas atividades continuam impactando o meio ambiente de forma persistente, caracterizando uma contaminação crônica. Uma vez no ambiente, os poluentes continuam contaminando por longos períodos de tempo. Materiais como hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (carvão, gasolina, petróleo e etc), pesticidas e metais continuam por anos no ambiente (Pinto *et al*, 2022).

Outros agentes contaminantes encontrados em águas subterrâneas, superficiais, marinhas, potável, engarrafadas, residuais, de precipitação, entre outros, foram: cosméticos, produtos de higiene pessoal, herbicidas, surfactantes, produtos químicos para uso doméstico, substâncias psicotrópicas, genes de resistência a antibióticos, desreguladores endócrinos. Dessa forma, destacando o comprometimento crescente e a disponibilização precária de água potável, para o consumo seguro da população (Bourhane *et al*, 2022; Pinto *et al*, 2022).

Como consequência, a água contaminada torna-se um veículo para o transporte de agentes infecciosos, dentre eles estão os coliformes fecais, bactérias, fungos, etc. O Centro de Prevenção e Controle de doenças (CDC) destacou que em 2015, cerca de 780 milhões de pessoas no mundo não possuíam acesso à água potável ou saneamento básico. A falta de tratamento dos resíduos despejados no meio ambiente, podem levar ao surgimento de novos surtos de infecções causando, anualmente, a morte de cerca de 1,6 milhões de pessoas em todo o mundo (Yamaguchi, 2013; Rios *et al*, 2017; Da Purificação *et al*, 2017).

Diante disto, as doenças de veiculação hídrica são descritas como qualquer

comprometimento da saúde humana, deficiência ou distúrbio, causados pelas condições de qualidade da água consumida, onde seu grau de incidência torna-se dependente de fatores climáticos, geográficos e sanitários. Em 2016, cerca de 33,4 milhões de brasileiros não tinham acesso à água tratada em suas residências, aumentando o consumo de água contaminada para a realização de suas necessidades e tarefas diárias (Vasco-Dos-Santos *et al*, 2020).

Portanto, várias doenças podem ser transmitidas por meio do consumo de água contaminada, dentre elas podemos citar doenças transmitidas por vírus como: hepatite E e A, rotavírus e enterovírus. Também podemos citar doença acometidas por espécies bacterianas, que se fazem presente em ambientes aquáticos impactados como: *Salmonella* spp., *Shigella* sp, *Vibrios* spp., *Escherichia coli*, *Campilobacter* e etc (Vasco-Dos-Santos *et al*, 2020; Barta, 2021). Diante da vinculação hídrica de doenças infecciosas, os corpos d'água, que sofrem com as ações antropogênicas ao longo do seu percurso, são responsáveis por levar consigo resíduos poluentes, que refletem a utilização das áreas de solo circunvizinhas (Dellamatrice; Monteiro, 2014).

Os compostos farmacêuticos presentes nos medicamentos, podem ser sintéticos ou naturais. Atualmente, já são produzidos e comercializados mais de 20.000 medicamentos, o que contribui para o uso indiscriminado e exagerado dos mesmos, tendo como consequência uma elevada taxa de contaminação ambiental, sendo possível já ser encontrada em corpos d'água, e até água potável após a realização de seu tratamento (Pinto *et al*, 2022).

Os componentes residuais de antibióticos podem proporcionar riscos à saúde humana, como alergias, toxicidade, além de resistência. Nos ambientes aquáticos esses medicamentos podem ser responsáveis por inibir ou aniquilar a atividade metabólica de vários organismos, como plantas e bactérias, além de ser absorvidos por plantas, animais e microorganismos presentes nos ecossistemas aquáticos. A resistência é a consequência mais notável da poluição emergente que os antibióticos causam ao meio ambiente, a maior preocupação é a resistência microbiana. Pois, essa contaminação crônica pode levar a resistência bacteriana até mesmo em quantidades muito pequenas de medicamento, e os novos genes de resistência podem ser disseminados entre seus ancestrais (Binh *et al*, 2018; Chen *et al*, 2020).

Levando isto em consideração, o meio ambiente, e principalmente os ambientes aquáticos, têm um grande papel na disseminação de genes de

resistência. Por conta disso, o Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA), classificou a resistência antimicrobiana ambiental, como uma das seis principais questões emergentes e preocupação mundial (Anyanwu *et al*, 2020). Apesar de serem decompostos e diluídos nos ambientes aquáticos, os antibióticos ainda têm efeitos metabólicos em bactérias, como moléculas de sinalização (Suzuki *et al*, 2015).

Ademias, estudos indicam que nenhum ambiente aquático encontra-se livre da contaminação, independente de sua fonte ou época de amostragem. Por conta de toda a contaminação presente nos rios urbanos, o rio Capibaribe, um dos rios mais importantes do estado de Pernambuco encontra-se nas mesmas condições de contaminação, destacando a existência de uma tensão na saúde pública sobre os malefícios que o consumo ou contato com as suas águas podem trazer aos seres humanos. Dentre os vários agentes preocupantes de contaminação hídrica presentes nesse ambiente aquático, existe uma crescente preocupação, em relação à contaminação medicamentosa dessas águas (Pinto *et al*, 2022).

3.3.2.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DO RIO CAPIBARIBE

O Rio Capibaribe, localizado na região nordeste do Brasil, possui 250 km de extensão, desde a sua nascente, na serra do Jacarará, até sua foz, no oceano atlântico. Este rio abrange cerca de 43 municípios, apresentando uma bacia hidrográfica de aproximadamente 7.600 km², sendo uma das principais bacias hidrográficas do estado de Pernambuco. Encontra-se na cidade do Recife pela convergência entre o Rio Capibaribe, Beberibe, Tejipió, Jordão e Pina (Xavier *et al*, 2019).

E apesar da sua grande importância, o Rio Capibaribe (Figura 1) segue em uma sequência constante e incessante de contaminação, desde o lançamento de esgoto doméstico, hospitalar, laboratorial, e industrial. Ocorre também uma desordem ambiental neste ecossistema, por meio das ocupações ribeirinhas que tomam suas margens, aterros, desmatamento da mata ciliar, até o despejo do conhecido vinhoto, resíduo poluente das indústrias açucareiras (Silva, 2019).

contaminantes, não apenas poluentes aquáticos, mas também bióticos, sobretudo bactérias resistentes. Assim, trabalhos subsequentes são necessários para investigar os mecanismos de ação presentes nesses organismos e alternativas terapêuticas eficazes para conter, diminuir ou eliminar possíveis infecções causadas por estes agentes patogênicos.

3.4 ALTERNATIVAS PARA O ENFRENTAMENTO DA RAM

Na busca por novas alternativas de tratamento, o olhar de muitos pesquisadores e da indústria farmacêutica volta-se para outras alternativas além dos antibióticos, como por exemplo a utilização da nanotecnologia que vem recebendo grande destaque nos últimos anos. Visando expandir os conhecimentos a respeito desta temática, a presente dissertação realizou estudos de revisão bibliográfica e experimentais. O tópico 5, mais precisamente os subtópicos 5.1 e 5.2 correspondem a dois capítulos de revisão que abordam alternativas atuais para o enfrentamento da RAM, são eles: 5.1 Síntese verde de nanopartículas de prata e seu potencial antimicrobiano - uma revisão; e 5.2 Lipossomas como carreadores de fármacos. Ademais, os óleos essenciais (OE) como alternativa para o enfrentamento da RAM foi investigado por meio de estudos experimentais o que pode ser comprovado no subtópico 5.3

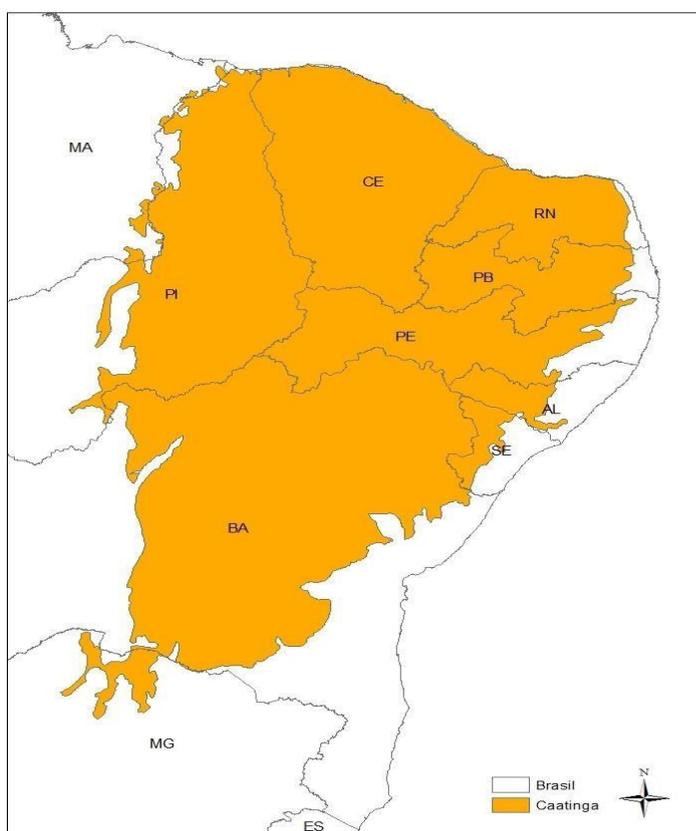
Sendo assim, esta revisão abordará apenas o tópico referente aos OE já que as demais alternativas serão contempladas nos capítulos de revisão.

3.4.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Na tentativa de encontrar alternativas para o tratamento das infecções bacterianas, o estudo da medicina tradicional é cada vez mais presente como base para o desenvolvimento de novos fármacos. Por várias gerações, práticas tradicionais utilizam de plantas medicinais, bem como seus óleos, extratos e compostos no tratamento de doenças. Nesse sentido, o domínio Caatinga é responsável por abarcar muitas espécies de plantas com características medicinais em seu território, tornou-se alvo de inúmeros estudos com esta abordagem (Emilliano; Balliano, 2019).

A Caatinga (figura 2) é descrita como um domínio fitogeográfico unicamente brasileiro, sendo encontrada em 10% do nosso território, cerca de 800.000 km², compreendendo os estados do Ceará, Rio Grande do Norte, o Oeste de Alagoas, Sergipe, região norte e central da Bahia, Paraíba, Pernambuco, e Minas Gerais. Seu nome é originária do Tupi-Guarani, significando “Floresta Branca” (Leal, 2003; De Moura *et al*, 2019). Apresenta clima semiárido, com estações secas predominantes de 5 a 9 meses ao ano, com média de precipitação anual de 250 a 1.200 mm e chuvas irregulares (De Lima Araújo *et al*, 2007).

Figura 2. Mapa da Caatinga.



Fonte: SNIF Florestal (2021).

Diante das características climáticas e geográficas, a Caatinga é descrita como floresta tropical estacional, apresentando uma vegetação diversificada. Seu ecossistema é constituído por plantas, em sua maioria, aromáticas e medicinais, sendo esta região historicamente negligenciada, pois acreditavam que se tratava de

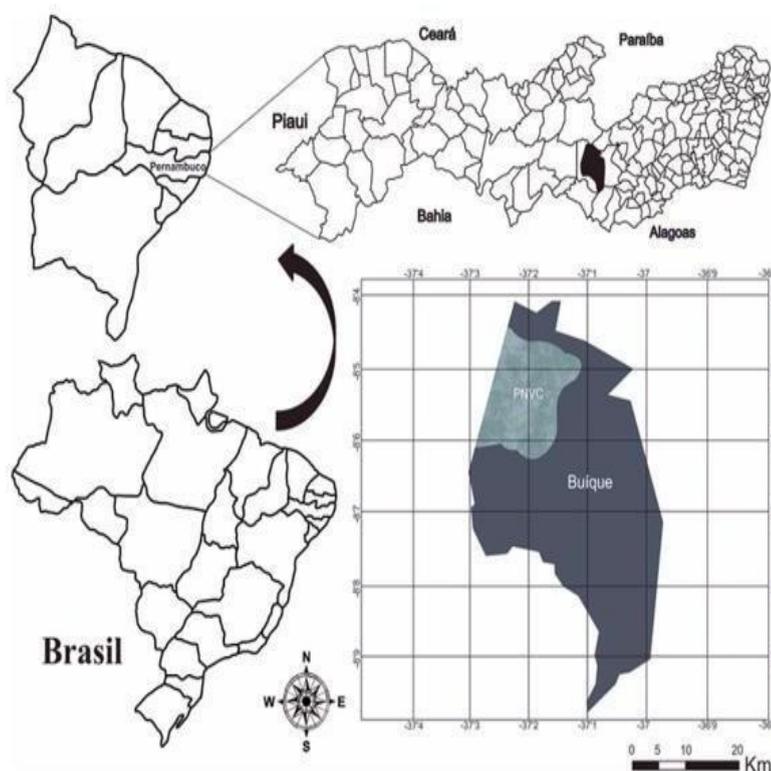
um local pouco endêmico e pobre. Porém, estudos realizados nos últimos anos vêm demonstrando que a Caatinga corresponde a uma região heterogênea com inúmeros potenciais biotecnológicos (De Albuquerque *et al*, 2012 ;De Sá-Filho *et al*, 2021; Souza *et al*, 2022).

Além disso, algumas plantas desenvolveram capacidades adaptativas que ajudam na sua sobrevivência como, por exemplo, o tamanho reduzido de suas folhas, algumas apresentam-se sem folhagem, outras possuem folhas decíduas que caem durante a época de seca, com o intuito de diminuir a evapotranspiração e entre outros; todas com o intuito de continuarem a crescer e aumentar suas populações. Diante de um ambiente onde as chuvas são fornecidas de forma desigual, a baixa umidade relativa do ar torna a sobrevivência uma batalha diária (Meiado *et al*, 2012). Assim, estas são descritas, como plantas sazonais, que podem apresentar aspectos diferentes, nas épocas secas e frias do ano (Da Silva; Cruz, 2018).

3.4.2 PARQUE NACIONAL DO VALE DO CATIMBAU

O Parque Nacional do Vale do Catimbau (figura 3) está localizado na zona das Caatingas, subzona do agreste, e corresponde a uma área de conservação ambiental, pois apresenta espécies raras e endêmicas de plantas nativas da região. Encontra-se a cerca de 285 km da capital Pernambucana, Recife. Possui área de 62.300 ha, na região do semiárido de Pernambuco. Toda sua área está incluída na microrregião do sertão de Moxotó, nas cidades de Buíque, Ibimirim, Inajá e Tupanatinga. Sua vegetação é composta por uma floresta úmida, vegetação rupestre, arbustiva perenifólia, e solo areno quartzoso profundo, com serras areníticas (Santos *et al*, 2013).

Figura 3. Mapa representativo da posição geográfica do vale do catimbau.



Fonte: Serafim Filho et al (2021)

É considerada uma área de preservação ambiental por contar com biodiversidade biológica e por contar com espécies de plantas raras e endêmicas (Ferreira; Fabricante; Siqueira-filho, 2015). Dentre os objetivos de criação do parque, o principal foi de preservar seus ecossistemas naturais, garantindo a possibilidade de realização de pesquisas científicas, também visando o desenvolvimento de atividades de educação ambiental e turismo ecológico. Além disso, este parque é o segundo maior sítio arqueológico do Brasil (De Melo Rocha; De Oliveira, 2022).

O solo dessa região é considerado pobre, porém, sua fauna e flora são consideradas exóticas. Possui altitude de cerca de 800 a 1000 m, com o clima predominantemente semiárido, precipitação média anual entre 650 a 1.110 mm, com os períodos de setembro a janeiro, como os chuvosos. Além de apresentar vegetação composta por arbustos, árvores perenifólias, subarbusciva, apresenta ainda, espécies presentes em outros biomas como, por exemplo, cerrado, restinga e etc (Magalhães *et al*, 2019).

Dentre as várias espécies presentes na Caatinga, as Myrtaceae são citadas como uma das famílias representativas em número de espécies (De Sousa Macedo

et al, 2019). A família abrange 130 gêneros e 4000 espécies, no Brasil representa cerca de 23 gêneros e 1000 espécies. São caracterizadas como árvores ou arbustos lenhosos com folhas de coloração sempre verde, com estípulas pequenas e pontos translúcidos (Santos, 2020).

Na medicina popular local, onde várias comunidades rurais estão inseridas em áreas de vegetação da Caatinga, muitas plantas são utilizadas para diversos fins terapêuticos. A cultura popular de tratar enfermidades a partir de folhas, frutos, entre outros, remetem aos primórdios da civilização humana, onde o conhecimento das capacidades medicinais da vegetação era repassado culturalmente de pai para filho. Existem indícios da utilização de plantas medicinais desde antes de Cristo, inicialmente na tentativa de usá-las como alimento, posteriormente, como medicamento e até mesmo, para identificar quais poderiam apresentar potencial perigo para o consumo humano (Silveira *et al*, 2013; Dos Reis *et al*, 2023).

As plantas medicinais apresentam capacidades terapêuticas, que proporcionam mitigação, prevenção ou cura de doenças. Podem ser usadas *in natura*, frescas, retiradas da natureza no momento do uso, ou secas, conservadas, para uso posterior, ambas as formas são amplamente difundidas. Podem ser utilizadas como ingrediente majoritário para infusões, com chás, ou maceradas para aplicação local (De Sá-Filho *et al*, 2021).

Além disso, sabe-se que sua utilização vem desde os primórdios da humanidade, sendo utilizadas como bases medicinais para rituais religiosos de cura. Diante disso, tendo em vista a revalorização do conhecimento empírico tradicional das plantas medicinais, são realizadas pesquisas com etnobotânica, que nada mais é, do que o estudo que torna capaz compreender as relações entre os seres humanos e as plantas, e a forma como as plantas são utilizadas para atividades diversas (Sganzerla *et al*, 2022).

Desta forma, a ciência busca sempre progredir e adquirir novos conhecimentos, considerando o conhecimento popular, as formas de manuseio, utilização e aplicação de artigos de origem vegetal. Levando em consideração as relações, crenças e conhecimentos sobre plantas medicinais em várias culturas. Diversos estudos sobre as propriedades medicinais de plantas nativas foram surgindo, e revelando cada vez mais novas propriedades, características e benefícios que elas atribuíam à saúde humana (Roos *et al*, 2019; Da Silva Neto *et al*, 2021; Camargo *et al*, 2022; De Souza *et al*, 2022).

Ademais, dados indicam que cerca de 80% da população mundial utiliza plantas medicinais para alívio de alguma sintomatologia e desses 80% apenas 30% foi por indicação médica (Mesquita *et al*, 2017). Levando isto em consideração, os óleos essenciais (OE) tornaram-se alvos para pesquisas científicas, a respeito de suas características benéficas à saúde humana. Eles são descritos como substâncias voláteis, extraídas de várias partes diferentes de plantas aromáticas, como: caule, folhas, raízes e frutos. São provenientes do metabolismo secundário das plantas, e geralmente são compostos por monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides, substâncias que conferem características organolépticas para o vegetal, tais como: cor, brilho, odor e etc (Ribeiro *et al*, 2018).

Naturalmente eles são produzidos com o intuito de proteger as plantas de ataques de insetos e microrganismos, seus potenciais predadores, mas também tem o objetivo de atrair animais polinizadores que possam disseminar suas sementes e pólen pelo ambiente. Os OE enquadram-se como aromatizantes naturais, assim como os extratos e são encontrados em células vegetais secretoras, epidérmicas, cavidades, canais e também em tricomas glandulares, que encontram-se presentes em todos os órgãos das plantas (De Almeida *et al*, 2020).

Historicamente existem relatos de hieróglifos egípcios e manuscritos chineses antigos, cerca de 1.000 A.C, onde a utilização de OE já era descrita para realização de rituais de cura de enfermidades. Além disso, essas substâncias são popularmente conhecidas por suas fragrâncias, capacidades antioxidantes e antimicrobianas, sendo assim, utilizados amplamente na indústria farmacêutica, na produção de cosméticos, perfumes, entre outros (Busato *et al*, 2014).

Atualmente, sabe-se que a composição química dos OE se dá por meio de sua genética. No entanto, estudos descrevem que outros fatores como interações de planta-planta, planta-microrganismos, planta-meio ambiente, além de alterações como clima, solo, uso de agrotóxicos, irrigação, técnicas de extração, ou variações geográficas do solo, podem influenciar na composição química desses óleos (Ribeiro *et al*, 2018).

3.4.3 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA *Myrciaria tenella*

A planta *Myrciaria tenella* (DC) O. Berg, “Cambuí” ou “Murta-do-campo”, como é comumente conhecida, é uma planta da família Myrtaceae do gênero *Myrciaria*.

Os membros pertencentes a esta família têm distribuição global, sendo encontrados em países como Brasil, Bolívia, Paraguai, Argentina, América Central e sul da Flórida. No Brasil, é comum encontrar representantes de *M. tenella* nos estados do Pará, Bahia, Maranhão, Pernambuco, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina, encontradas em vários biomas, entre eles estão a Floresta Amazônica, Pampa, Cerrado, Mata Atlântica e Caatinga (Borges *et al*, 2014).

A *M. Tenella* (figura 4), é um arbusto com pequenas folhas lanceoladas, gerando frutos globosos com cor que varia de tons mais claro de laranja a roxa escura, com cerca de 9mm de diâmetro e pode chegar a 6m de altura. Tem sido citada como de grande importância social, cultural, ambiental e econômica, pois é substancial para a população tradicional que trabalha no cultivo, processamento de seus frutos, gerando produtos alimentícios, bebidas e remédios (Ribeiro, 2019; De Carvalho Martins *et al*, 2021; Campos *et al*, 2023; Flora e Funga do Brasil, 2023).

Figura 4. Planta *Myrciaria tenella* e seus frutos.



Fonte: Adaptado de Santana *et al* (2016).

As plantas desta família possuem grande potencial tecnológico, seus frutos

são considerados muito saborosos, possuindo um alto rendimento de polpa, sendo muito importantes na indústria alimentícia, sendo consumidos em formato de compotas, vinhos, licores, sumo. *M. tenella* é rica em agentes antioxidantes, possuindo características medicinais marcantes e muitas espécies desse gênero possuem, além de atividade antioxidante em sua composição química, agentes anti-inflamatórios, antimicrobianos, hipoglicemia, hipolipidêmicas, antifúngica, antiproliferativa, gastroprotetora (Borges *et al*, 2014), atividade antidiarreica e vermífuga (Apel *et al*, 2010).

Essa espécie apresenta atividade antitumoral, antiinflamatória e antimicrobiana, por conta dos flavonóides, esteróides, triterpenos, compostos fenólicos, saponinas presente no seu extrato (Ribeiro *et al*, 2019). Ela tem sido estudada majoritariamente para a caracterização do OE extraído de suas folhas, onde estudos recentes avaliaram as propriedades do seu extrato etanólico e demonstraram que ele possui flavonóides com atividade antioxidante e antiproliferativa (Maczka *et al*, 2021; De Carvalho Martins *et al*, 2021).

Ademais, o OE de *M. tenella*, pode apresentar componentes químicos como β -pineno, α -pineno, E-cariofileno, entre outros (Gonçalves *et al*, 2021). Dentre eles o 1,8-cineol também apresenta-se como composto presente no OE das espécies de Myrtaceae (Pereira; Zoghb; Bastos, 2010).

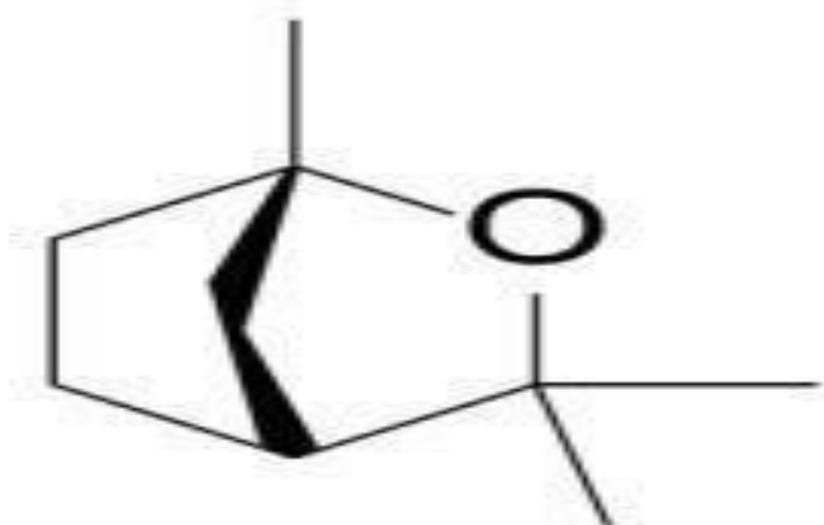
3.4.4 CARACTERÍSTICAS GERAIS DO 1,8-CINEOL

As plantas são a fonte mais promissora para a descoberta de novos medicamentos, pois produzem vários metabólitos secundários que possuem, composto em seus extratos, que demonstram funções primordiais, atuando como moléculas importantes no desenvolvimento farmacêutico. A maior classe de metabólitos secundários é dos terpenos, onde possui cinco unidades de isoprenos de carbono, ligados entre si de diversas formas, formados por hidrocarbonetos simples. Já os terpenóides apresentam um grupo metil oxidado ou movido para diferentes direções, e o número de unidades de carbono determinam se os terpenóides são: hemiterpenos, monoterpenos, diterpenos, sesquiterpenos, e triterpenos.

O 1,8-cineol (figura 5), ou eucaliptol como é conhecido, é um monoterpeno

bicíclico, presente em OE de diversas espécies de plantas como eucalipto e alecrim, sendo uma molécula lipofílica. Este terpenóide é bem conhecido principalmente por sua atividade biológica bem estabelecida, onde ele funciona como antioxidante, antiviral, broncodilatador, antiinflamatório e antimicrobiano. Além de ser popular no tratamento de doenças como sinusite, asma, e doença pulmonar obstrutiva crônica (Seol; Kam, 2016; Juergens; Worth; Juergens, 2020 Moo *et al*, 2021; Cai *et al*, 2021).

Figura 5. Estrutura química do composto 1,8-cineol ou eucaliptol.



Fonte: adaptado (Moo *et al*, 2021).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dessa dissertação estão apresentados na forma de artigo.

4.2 CAPÍTULO DE LIVRO 1

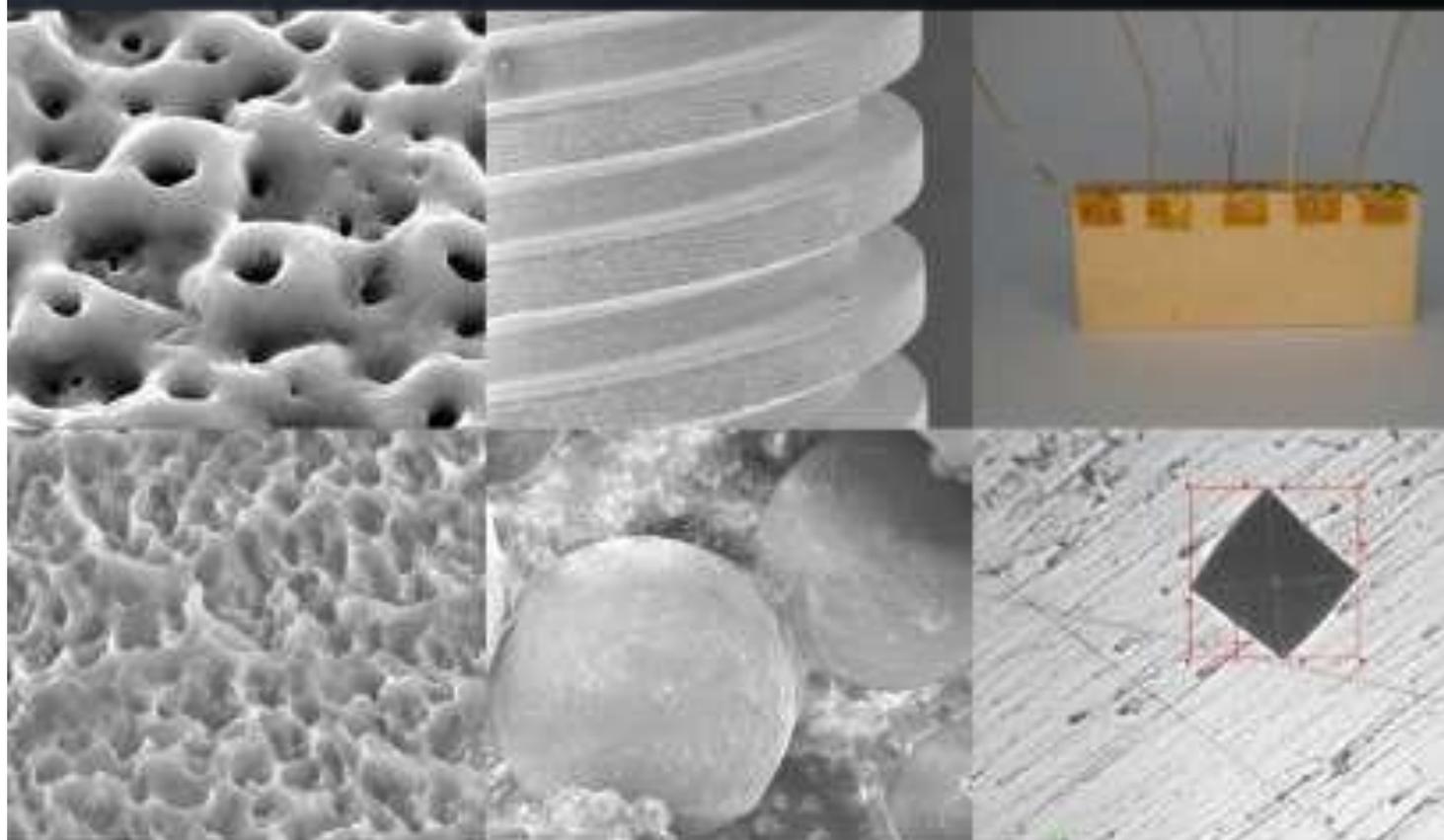
Parte dos resultados dessa dissertação foi publicado no capítulo de livro “LIPOSSOMAS COMO CARREADORES DE FÁRMACOS”, publicado no periódico *Biomateriais: Propriedades e aplicações*, volume 1, capítulo 35 ou p. 361-366, 2023, link para acesso:
<https://even3.blob.core.windows.net/filesstreaming/260813/PropriedadeseAplicaes-BIOMAT22.pdf>

BIOMATERIAIS

Propriedades e Aplicações

1ª Edição

CARLOS NELSON ELIAS • ANA KARINE ROCHA DE ANDRADE NATTRODT
ROBERTO HIRSCH MONTEIRO • BRUNO MARTINS DE SOUZA



35 LIPOSSOMAS COMO CARREADORES DE FÁRMACOS

Hévellin Talita Sousa Lins¹, UFPE², ORCID 0000-0001-5431-9525;

Tainara Fernandes Dantas, UFPE², ORCID 0000-0001-9623-5135;

Rafael Artur de Queiroz Cavalcanti de Sá, UFPE², ORCID 0000-0002-0313-1482;

Carina Lucena Mendes Marques, CETENE³, ORCID 0000-0002-3111-7063;

Maria Betânia Melo de Oliveira, UFPE², ORCID 0000-0001-5188-3243.

ISBN: 978-85-5722-791-0

DOI: 10.29327/BIOMAT22.598399

Como citar

LINS, H. T. S.; DANTAS, T. F.; de SÁ R. A. de Q. C.; MARQUES, C. L. M.; de OLIVEIRA, M. B. M. LIPOSSOMAS COMO CARREADORES DE FÁRMACOS. *In: ELIAS, C. N.; NATTRODT, A. K. de A.; MONTEIRO, R. H.; de SOUZA, B. M. (Ed.). Propriedades e Aplicações dos Biomateriais. [S.l.]: EVEN3, Recife - PE, Brasil. 2023. p. 360-365.*

Tópicos

35.1	Introdução	362
35.2	Materiais e métodos	363
35.3	Resultados	363
35.4	Discussão	363
35.5	Conclusões	365
	Referências	365

RESUMO

A nanobiotecnologia vem evoluindo nos últimos anos e, cada vez mais, observa-se sua utilização em diversas áreas. Na Farmacologia, seu uso dá-se como nanocarreadores no transporte de vacinas, fármacos, genes, enzimas e proteínas, além da fabricação de cosméticos. Várias bioestruturas podem ser utilizadas como nanocarreadores, dentre elas: as nanopartículas lipídicas sólidas, os dendrímeros, as mistelas e os lipossomas. Dentre os biomateriais utilizados para encapsular fármacos, temos os lipossomas, que são vesículas formadas

¹ Email: hevellin.lins@ufpe.br

² Universidade Federal de Pernambuco

³ Centro de Tecnologia Estratégicas do Nordeste

por uma ou mais bicamadas fosfolipídicas, orientadas concentricamente em volta de um compartimento aquoso, permitindo que substâncias hidrofílicas e/ou lipofílicas sejam carregadas. Este trabalho corresponde a uma revisão literária do tipo qualitativa. Para isso, foram realizadas buscas em bases de dados científicos como *PubMed* e *Science Direct*. Os critérios de inclusão foram artigos publicados de 2007 a 2021 na língua inglesa e portuguesa, utilizando os seguintes descritores: *Nanocarriers*, *Liposomes*, *Drug delivery*. Foram analisados 10 artigos que incluíam a temática. Os resultados revelaram que os nanocarreadores são nanoestruturas desenvolvidas com o intuito de proporcionar uma entrega mais eficiente de drogas em seus sítios ativos, permitindo que seja realizada uma interação biomolecular eficaz e mais direcionada, diminuindo efeitos colaterais causados durante tratamentos. Os lipossomas são nanocarreadores formados por uma ou mais bicamada fosfolipídica concêntrica, com um compartimento aquoso no centro, permitindo o transporte de fármacos hidrofílicos e/ou lipofílicos, onde os hidrofílicos ficam encapsulados no compartimento aquoso e os lipofílicos encontram-se inseridos ou adsorvidos na membrana. A inclusão de fármacos na nanoestrutura das vesículas melhora a solubilização de seus compostos ativos em solução e protege contra sua degradação química e biológica. Desta forma os lipossomas conseguem melhorar o desempenho das drogas encapsuladas, reduzem seus efeitos colaterais e toxicidade e aumentam, assim, a sua liberação de forma controlada *in vitro* e *in vivo*. A evolução das pesquisas científicas no ramo da nanobiotecnologia contribuíram para o surgimento e aprimoramento de nanocarreadores de fármacos, dentre estes os lipossomas correspondem a um alternativa que vem sendo aprimorada para aumentar sua estabilidade e melhorar sua interação com fluidos corporais, tornando-os mais eficientes e utilizáveis na liberação controlada de drogas.

Palavras-chave: Nanocarriers, Nanoparticles, Drug delivery.

35.1 Introdução

A Nanobiotecnologia vem contribuindo com vários avanços nas áreas de tecnologia nos últimos anos, estando envolvida em várias áreas distintas da ciência e tecnologia, e principalmente na medicina [3]. Dentre esses avanços, um dos mais importantes e muito empregados, é a utilização de nanocarreadores, que exercem a função de carregar e entregar fármacos, tornando sua administração mais eficiente, além de servirem como ferramenta de diagnóstico [7].

Esses nanomateriais são avaliados quanto à sua segurança, eficiência, toxicidade, biodisponibilidade, estabilidade, capacidade de evasão do sistema imune e direcionamento de localização específico. Existem vários tipos de nanocarreadores, dentre eles podem ser citados as micelas, hidrogéis, nanopartículas magnéticas, dendrímeros, nanopartículas lipídicas sólidas e os lipossomas [15]. Os lipossomas são moléculas de transporte muito conhecidas na nanobiotecnologia. Eles apresentam facilidade de fabricação que possibilita controlar seu tamanho, possuem revestimento furtivo que permite uma maior duração na corrente sanguínea, sendo normalmente formados por derivados naturais de fosfolípidos que reproduzem as propriedades das membranas biológicas [9].

Lipossomas podem apresentar tamanhos que variam entre 100 a 500 nm, chegando até alguns micrômetros, fabricados por meio da automontagem de fosfolípidos e formados por um grupo de cabeça de fosfato polar e caudas lipídicas hidrofóbicas. Diante disso, a síntese dos lipossomas ocorre quando eles são expostos a um ambiente aquoso onde as caudas hidrofóbicas se auto-orientam, resultando em uma formação esférica, disposta de um meio aquoso interno [2]. Diante da composição molecular das vesículas dos lipossomas

eles tornam-se mecanismos de entrega de fármaco de liberação controlada promissora, principalmente por conseguirem encapsular moléculas hidrofílicas e hidrofóbicas, já sendo utilizados no carreamento de drogas antineoplásicas, antimicrobianas, antiparasitárias, hormonais, proteicas e ácidos nucleico [11].

35.2 Materiais e métodos

Foi realizada uma revisão da literatura, de abordagem qualitativa, a qual busca fornecer sínteses da produção científica anteriormente publicadas sobre o tema abordado, permitindo a descrição e geração de novos conhecimentos, pautados nos resultados encontrados. A pesquisa foi elaborada através de algumas etapas, sendo a primeira, a formulação do problema (temática a ser estudada), seguida da coleta de dados, análise, interpretação e apresentação dos resultados. Levando em consideração o objetivo do estudo, a coleta de dados foi realizada através de buscas executadas em duas bases de dados, *PubMed* e *Science Direct*. Foram utilizadas para a busca os seguintes descritores *Nanocarriers*, *Nanoparticles*, *Drug delivery*, unidas pelo boleano *and* no momento das buscas.

Foram incluídos estudos publicados entre os anos de 2007-2021, língua inglesa e portuguesa, que abordassem a temática. Foram excluídos os estudos que não se enquadrassem na temática escolhida, nos idiomas citados e que não estivessem dentro do período de tempo estipulado. Além disso, foram excluídos os estudos que fossem contrários aos critérios de inclusão como também os que foram duplicados; estudos que não estivessem completos; e estudos que não apresentavam viável descrição metodológica. Em seguida, os artigos selecionados foram lidos por inteiro, sendo incluídos os artigos científicos que abordaram o tema tratado no presente estudo. Os processos relacionados às buscas nas bases de dados foram exibidos em formato de fluxograma na seção resultados.

35.3 Resultados

As buscas nas bases de dados resultaram em 234 estudos (Figura 35.1), e após as etapas de seleção dos estudos, foram incluídos 10 artigos que abordaram a importância dos lipossomas como carreadores de fármacos.

35.4 Discussão

Os lipossomas são vesículas que podem ser unilamelares ou multilamelares, dependendo da forma como são produzidas. Essas vesículas possuem uma bicamada de fosfolípidos com um compartimento aquoso no centro, são capazes de carregar moléculas lipofílicas e hidrofílicas. Também podem ser revestidos de moléculas poliméricas que contribuem para a estabilidade, maior período de meia-vida no sangue com uma liberação mais sustentada de fármaco [7]. Essas nanoestruturas são moléculas que possuem uma versatilidade estrutural muito grande (tamanho, composição, carga de superfície, fluidez de membrana e etc), e devido a isso, tornaram-se potentes carreadores para vários tipos de terapias, acrescentando maior eficácia e diminuindo toxicidade [4]. Além disto a liberação de um fármaco pelos lipossomas depende de alguns fatores biológicos como, pH, gradiente osmótico e ambiente circulante ao redor. Destaca-se, também, que um tempo maior na

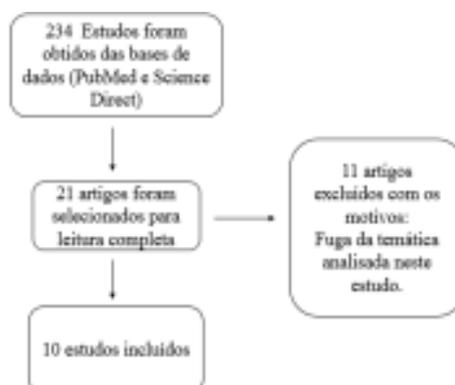


Figura 35.1 – Fluxograma da seleção dos artigos incluídos nesta revisão.

circulação promove um aumento na sua concentração mas diminuição em quantidade. Além disso, as interações lipossomais com as células podem ocorrer por meio de transferência de lipídeos, adsorção, endocitose e fusão [14].

Diante disto, uma vez dentro do lipossoma o fármaco torna-se protegido contra eventos fisiológicos como degradação, inativação imunológica e química, depuração plasmática, tornando a meia-vida do fármaco mais longa [5]. Já a fluidez da membrana dos lipossomas facilita o cruzamento das bicamadas pelas moléculas farmacológicas, influenciando a taxa de liberação controlada de fármaco pela nanoestrutura [10]. Além de transportarem moléculas lipofílicas e hidrofílicas, também são capazes de transportar com sucesso pequenas moléculas, proteínas e ácidos nucleicos. Sendo consideradas plataformas de nanomedicina que possuem sucesso desde o conceito a aplicação [13].

Já em relação a utilização de lipossomos em terapia contra o câncer, esses nanomateriais possuem biocompatibilidade e perfis quase biologicamente inexistentes para a maioria dos pacientes, não causam reação antigênica ou tóxica na maioria dos casos, porém a injeção de drogas lipossomais pode causar reações de hipersensibilidade com ativação do sistema complemento. Também apresentam a vantagem de poderem ter suas características físico-químicas modificadas de forma mais simples, otimizando esse processo [12]. Outrossim, os lipossomas podem ser naturais ou sintéticos, porém os que são compostos por lipídeos naturais são vistos como pouco imunogênicos, possuem baixa toxicidade e são biologicamente inativos. Esses nanocarreadores lipossomais também são amplamente utilizados no combate ao câncer, pois conseguem prolongar o tempo de retenção da droga aprisionada nas células cancerígenas [1].

Já em tratamentos de tuberculose, por exemplo, os lipossomas são utilizados também pela alta capacidade de direcionamento aos tecidos pulmonares, aumentando a resposta terapêutica. Eles tem sido utilizados principalmente como carreadores de drogas antimicrobianas para os tecidos pulmonares afetados, ganhando destaque por serem absorvidos rapidamente pelos macrófagos que é normalmente *M. tuberculosis* reside [6]. Além disso, os lipossomas também são objetos de estudos para entrega de fármacos que produzem um melhoramento da imagem de métodos de diagnóstico, como por exemplo na ressonância magnética, permitindo monitoramento e avaliação em tempo real de assinaturas biológicas que podem levar a melhora do

tratamento e personalização do mesmo [8].

35.5 Conclusões

A evolução das pesquisas científicas no ramo da nanobiotecnologia contribuíram para o surgimento e aprimoramento de nanocarreadores de fármacos, dentre estes os lipossomas correspondem a uma alternativa que vem sendo aprimorada para aumentar sua estabilidade e melhorar sua interação com fluidos corporais, tornando-os mais eficientes e utilizáveis na entrega controlada de drogas.

Agradecimentos

Nossos agradecimentos ao programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas (PPGCB), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), e ao órgão de fomento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior CAPES.

Referências

- [1] Latifa W Allahou, Seyed Yazdan Madani e Alexander Seifalian. "Investigating the application of liposomes as drug delivery systems for the diagnosis and treatment of cancer". Em: *International journal of biomaterials* 2021 (2021).
- [2] Bethany Almeida et al. "Recent progress in bioconjugation strategies for liposome-mediated drug delivery". Em: *Molecules* 25.23 (2020), p. 5672.
- [3] G Baskar, Garrick Bikku George e M Chamundeswari. "Synthesis and characterization of asparaginase bound silver nanocomposite against ovarian cancer cell line A2780 and lung cancer cell line A549". Em: *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials* 27.1 (2017), pp. 87–94.
- [4] Cinthia Meireles Batista, Cicero Moraes Barros de Carvalho e Nereide Stela Santos Magalhães. "Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: Estado da arte". Em: *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* 43 (2007), pp. 167–179.
- [5] Gisele E Bruch et al. "Liposomes for drug delivery in stroke". Em: *Brain research bulletin* 152 (2019), pp. 246–256.
- [6] Aristote B Buya et al. "Application of Lipid-Based Nanocarriers for Antitubercular Drug Delivery: A Review". Em: *Pharmaceutics* 13.12 (2021), p. 2041.
- [7] Munusamy Chamundeswari, John Jeslin e Madan Lal Verma. "Nanocarriers for drug delivery applications". Em: *Environmental Chemistry Letters* 17.2 (2019), pp. 849–865.
- [8] Narottam Lamichhane et al. "Liposomes: clinical applications and potential for image-guided drug delivery". Em: *Molecules* 23.2 (2018), p. 288.
- [9] Y Lee e DH Thompson. "Stimuli-responsive liposomes for drug delivery". Em: *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology* 9.5 (2017), e1450.
- [10] Domenico Lombardo e Mikhail A Kiselev. "Methods of Liposomes Preparation: Formation and Control Factors of Versatile Nanocarriers for Biomedical and Nanomedicine Application". Em: *Pharmaceutics* 14.3 (2022), p. 543.
- [11] Gan Luo et al. "SLP-coated liposomes for drug delivery and biomedical applications: potential

CAPÍTULO 35. LIPOSSOMAS COMO CARREADORES DE FÁRMACOS

- and challenges". Em: *International Journal of Nanomedicine* 14 (2019), p. 1359.
- [12] Edgar Pérez-Herrero e Alberto Fernández-Medarde. "Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of chemotherapy". Em: *European journal of pharmacology and biopharmaceutics* 93 (2015), pp. 52–79.
- [13] Rumiana Tenchev et al. "Lipid nanoparticles from liposomes to mRNA vaccine delivery, a landscape of research diversity and advancement". Em: *ACS nano* 15.11 (2021), pp. 16982–17015.
- [14] Agnieszka Z Wilczewska et al. "Nanoparticles as drug delivery systems". Em: *Pharmacological reports* 64.5 (2012), pp. 1020–1037.
- [15] Yujie Zhang, Tao Sun e Chen Jiang. "Biomacromolecules as carriers in drug delivery and tissue engineering". Em: *Acta Pharmaceutica Sinica B* 8.1 (2018), pp. 34–50.

4.3 CAPÍTULO DE LIVRO 2

Parte dos resultados dessa dissertação serão publicados no capítulo de livro “SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA E SEU POTENCIAL ANTIMICROBIANO - UMA REVISÃO”, Anexo A.

Hévellin Talita Sousa Lins¹, Tainara Fernandes Dantas², Amanda Vieira de Barros², Rafael Artur de Queiroz Cavalcanti de Sá ², Yhasminie Karine da Silva Xavier ², Tayane de Cássia Dias Mendes Silva ², Beatriz Reis Alvaro da Silva², Carem Tavares Pessoa Mendes ², Maria Betânia Melo de Oliveira².

^{1,2}. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco;

E-mail primeiro autor: hevellin.slins@ufpe.br

Ordc primeiro autor: <https://orcid.org/0000-0001-5431-9525>

RESUMO

Introdução: A Biotecnologia é uma área da ciência que vem crescendo exponencialmente, principalmente na utilização de nanopartículas orgânicas ou inorgânicas, as quais podem ser utilizadas na indústria cosmética, farmacêutica, alimentícia e agrícola, pois apresentam características físicas, químicas e ópticas que garantem sua versatilidade. Apesar disso, sua síntese está associada à utilização de agentes redutores tóxicos ao meio ambiente e à saúde humana, o que vem possibilitando novas estratégias de síntese no intuito de solucionar esse problema, utilizando agentes redutores orgânicos biocompatíveis com o meio ambiente. A resistência bacteriana é considerada um problema de saúde pública mundial, responsável por causar a morte de milhões de pessoas mundialmente, todos os anos. As nanopartículas de prata apresentam características antimicrobianas interessantes e podem ser utilizadas no enfrentamento de doenças infecciosas provenientes de bactérias resistentes. **Objetivo:** Este estudo avaliou a utilização de nanopartículas de prata como antimicrobianos, obtidas por meio de síntese verde. **Metodologia:** O trabalho corresponde a uma revisão integrativa, utilizando artigos científicos, retirados das bases de dados PubMed, *Science Direct*, a partir dos seguintes descritores: “nanopartículas”, “resistência a antibióticos”, “nanopartículas verdes”, “nanopartículas de prata”. Para isso, foram usados os seguintes critérios de inclusão: (a) estudos publicados nos períodos de 2013 a 2023; (b) que abordassem a temática e (c) publicados na língua inglesa e portuguesa. **Resultados e Discussão:** As nanopartículas de prata apresentam características antimicrobianas bem descritas. Uma delas é a capacidade de produzir Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) promovendo vários danos às células bacterianas. Durante o processo de síntese verde de nanopartículas, moléculas antioxidantes e antibacterianas presentes nos extratos das plantas, promovem sinergismo com a prata, aumentando a atividade bactericida e bacteriostática da nanopartícula. **Conclusão:** A síntese biocompatível de nanopartículas de prata apresenta grande atividade antimicrobiana contra bactérias resistentes a antibióticos e possuem potencial como antimicrobianos no combate a essas infecções.

Palavras-chave: Nanopartículas. Resistência a antibióticos. Nanopartículas verdes. Nanopartículas de prata.

Área Temática: Biotecnologia.

ABSTRACT

Introduction: Biotechnology is an area of science that has been growing exponentially, mainly in the use of organic or inorganic nanoparticles, which can be used in the cosmetic, pharmaceutical, food and agricultural industries, as they have physical, chemical and optical characteristics that guarantee their versatility. . Despite this, its synthesis is associated with the use of reducing agents that are toxic to the environment and human health, which has enabled new synthesis strategies in order to solve this problem, using organic reducing agents that are biocompatible with the environment. Bacterial resistance is considered a global public health problem, responsible for causing the death of millions of people worldwide, every year. Silver nanoparticles have interesting antimicrobial characteristics and can be used to combat infectious diseases caused by resistant bacteria. **Objective:** This study evaluated the use of silver nanoparticles as antimicrobials, obtained through green synthesis. **Methodology:** The work corresponds to an integrative review, using scientific articles, taken from the PubMed, Science Direct and NCBI databases, from the following descriptors: "nanoparticles", "antibiotic resistance", "green nanoparticles", "nanoparticles of silver". For this, the following inclusion criteria were used: (a) studies published from 2013 to 2023; (b) that addressed the theme and (c) published in English and Portuguese. **Results and Discussion:** Silver nanoparticles have well-described antimicrobial characteristics. One of them is the ability to produce Reactive Oxygen Species (ROS) promoting various damages to bacterial cells. During the green synthesis process of nanoparticles, antioxidant and antibacterial molecules present in plant extracts promote synergism with silver, increasing the bactericidal and bacteriostatic activity of the nanoparticle. **Conclusion:** The biocompatible synthesis of silver nanoparticles has great antimicrobial activity against antibiotic-resistant bacteria and has potential as antimicrobials in the fight against these infections.

Keywords: Nanoparticles, Antibiotic resistance, Green nanoparticles, Silver nanoparticles.

INTRODUÇÃO

Por muitos anos a humanidade vem sendo exposta a vários agentes patológicos que promovem o adoecimento e morte da população, o que fortaleceu a busca por métodos preventivos e de tratamento, alguns com poucos resultados

positivos. Com a descoberta da penicilina, por Alexander Fleming, em 1928, surgiu uma nova esperança para a saúde pública mundial. A utilização de antibióticos foi então implantada clinicamente e os resultados foram consideravelmente bons, principalmente na cura de soldados feridos na Segunda Guerra Mundial, em 1940 (Mohr, 2016; Christakic *et al*, 2020).

Os antibióticos são compostos naturais e sintéticos, desenvolvidos para auxiliar no tratamento de doenças infecciosas derivadas de microrganismos patogênicos, que promovem danos à saúde humana, animal e vegetal. Porém, algo atípico começou a ser observado em relação às infecções bacterianas. Com o tempo, formas de resistência se tornaram cada vez mais comuns e atualmente esses mecanismos de sobrevivência tornaram-se um desafio para a saúde pública mundial. As bactérias resistentes, Multidroga-Resistentes (MDR) e isolados resistentes a todas as classes de antibióticos PAN-resistentes, são uma realidade perigosa para a comunidade médica e científica. Com o uso indiscriminado de antibióticos o número de bactérias resistentes vem aumentando com o passar do tempo, tornando os tratamentos insuficientes para o controle e erradicação das infecções. Por consequência, outras formas de tratamento começaram a ser estudadas, na esperança de que novas tecnologias pudessem ser mais eficientes diante das altas taxas de morbidade e mortalidade, associadas às doenças infecciosas decorrentes de bactérias resistentes a antibióticos (Machado *et al*, 2020; Huq *et al*, 2022).

Em decorrência disso, a nanotecnologia, área que vem se expandindo nos últimos anos, surge como possível alternativa no enfrentamento dessas resistências. Por possuir características que permitam sua manipulação de acordo com o que é necessário, as nanopartículas são utilizadas em vários nichos, como: agricultura, indústria alimentícia, fabricação de cosméticos e saúde (Ahmad *et al*, 2019). Por possuírem características antimicrobianas, as nanopartículas de prata são uma boa opção no enfrentamento dessas infecções. Porém, sua síntese envolve a utilização de agentes redutores tóxicos que prejudicam a saúde humana e podem contaminar o meio ambiente. Diante disso, a utilização de agentes redutores biocompatíveis com o meio ambiente, como plantas, surgiram como uma alternativa no processo de fabricação de nanopartículas verdes (Al-khattaf *et al*, 2021). Em decorrência disto, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão da literatura para avaliar a utilização de nanopartículas de prata, produzidas por meio de uma síntese verde, como agentes antimicrobianos.

METODOLOGIA

Este trabalho refere-se a uma revisão de literatura integrativa, por meio da análise de artigos científicos, disponíveis nos seguintes portais de periódicos: *PubMed*, *SciELO*, *Science Direct*, disponibilizados nas línguas inglesa, espanhola e portuguesa. Para a busca foram utilizados os seguintes descritores: “nanoparticles”, “antibiotic resistance”, “green nanoparticles”, “silver nanoparticles”. Nesta revisão foram selecionados 60 artigos científicos, dos quais 26 foram considerados aptos para a leitura.

Os artigos selecionados se adequaram aos seguintes critérios de inclusão: (1) estudos relacionados à temática abordada; (2) publicados entre os anos de 2013 a 2023; e (3) publicados na língua portuguesa e inglesa. Como critérios de exclusão foram adotadas as seguintes medidas: (a) estudos que fossem contrários aos critérios de inclusão; (b) duplicados; (c) incompletos e (d) que não apresentassem boa descrição metodológica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

CARACTERÍSTICAS GERAIS DAS NANOPARTÍCULAS

Em 29 de dezembro de 1959, Richard P. Feynman físico norte americano, ministrou uma palestra no encontro anual da *American Physics Society*, intitulada - “*There’s Plenty of Room at the Bottom: An Invitation to Enter a New Field of Physics*”. Na ocasião, este cientista abordou um novo campo da física, com uma visão além da sua época e demonstrou interesse por espécies e estruturas em nanoescala. Ele acreditava que átomos e moléculas poderiam ser manipulados como tijolos em uma construção (Byagathvalli; Challita; Bhamla, 2021). A partir de então, a nanotecnologia vem ganhando mais destaque e, nos últimos anos, a utilização de nanopartículas vem sendo amplamente disseminada. Por possuir múltiplas propriedades a sua aplicação em cosméticos, eletrônicos e na medicina para diagnósticos e tratamento, tem se tornado cada vez mais comum. Estas, correspondem a uma ampla classe de materiais em escala atômica ou molecular, que possuem dimensões muito pequenas, variando de 1 a 100 nm, e por conta da sua relação superfície-volume, conseguem desenvolver características e propriedades físicas (ressonância de plasmon, aumento fluorescente) e químicas (aumento da atividade catalítica) diferentes, permitindo uma

maior manipulação de materiais. Por meio da utilização da nanotecnologia, vários materiais puderam ser reutilizados, ganhando novas formas e propriedades (Purohit *et al*, 2017; Najahia *et al*, 2020; Ratan *et al*, 2020; Jain *et al*, 2021).

As nanopartículas estão caracterizadas como materiais de uma, duas ou três dimensões e podem ser classificados como orgânicos (quitosana, polímeros, peptídeos) e inorgânicos (metal ou óxido metálico), dependendo do material de construção utilizado. Com a crescente utilização de materiais em escala nanométrica, vários benefícios puderam ser atribuídos a elas, como por exemplo seu uso como agentes carreadores de fármacos, biosensores, agentes carreadores de contraste para exames de imagem, bem como sua utilização em terapias contra o câncer. Estas, podem ser encontradas em nanotubos de carbono, pontos quânticos, nanobastões, nanocápsulas, nanoemulsões, fulerenos, entre outros (Musetti; Huang, 2018; Albalawi *et al*, 2020; Castillo *et al*, 2020).

Por possuírem uma grande área de superfície em relação ao seu volume, as nanopartículas adquirem características que lhes permite o desenvolvimento de novas propriedades, porém, esse fenômeno também pode promover aglomeração desses materiais, uma vez que ao reduzir a energia da superfície, as individuais interagem entre si, por meio de ligações químicas e forças físicas nas interfaces. Diante disso, para a obtenção de dispersões estáveis são usados agentes estabilizadores ou redutores (Roy *et al*, 2019). Dentre os métodos empregados para a redução e estabilização das nanopartículas estão a redução química, deposição de solução química, processo sol-gel, redução fotoquímica, redução eletroquímica, dessorção a laser, deposição por pulverização catódica, método de Langmuir - Blodget, entre outros (Jainet *et al*, 2021).

Ademais, levando em consideração as diversas capacidades terapêuticas das nanopartículas, nos últimos anos vários estudos destacaram características antimicrobianas, em especial as inorgânicas, como as de prata e de ouro (Albalawi *et al*, 2020). Por consequência do seu tamanho e forma, as nanopartículas metálicas de prata, em específico, são de grande importância em várias áreas de aplicação como a biotecnologia, óptica, catálise, etc, as quais são comumente conhecidas por possuírem atividade bactericida e bacteriostática (Abbasi *et al*, 2016).

RESISTÊNCIA MICROBIANA

A metade do século 20 é descrita como a “era dos antibióticos”; uma época em que se acreditava que o uso dos antibióticos iria extinguir as doenças infecciosas, os quais correspondem a fármacos essenciais para o sucesso de cirurgias, transplantes de órgãos, tratamentos oncológicos, reumatológicos entre outros (Huemer *et al*, 2020). Várias classes de antimicrobianos são utilizados para o combate das doenças infecciosas, porém inúmeras são as limitações que estes enfrentam, como: baixa estabilidade oral, falta de direcionamento, baixa solubilidade em água, efeitos adversos sistêmicos, além de baixa solubilidade de membrana. E mesmo que com a descoberta da penicilina em 1928, os antibióticos tenham entrado para sua fase de “ouro”, nos dias atuais essa realidade está longe de ser concreta (Tang; Zheng, 2018), pois o fator limitante mais preocupante e que está intimamente relacionado com a resistência aos antimicrobianos, é a utilização inadequada desses fármacos (Mercan; Niculescu; Grumezescu, 2022).

As infecções causadas por microrganismos resistentes às várias classes de antimicrobianos são consideradas um problema de saúde pública mundial. Entre os motivos básicos que ocasionam a resistência bacteriana podemos citar a força da pressão seletiva, a taxa de fornecimento de mutações, a adaptabilidade das bactérias resistentes a antibióticos de acordo com a concentração do fármaco, interferências clonais, co-seleção de resistência a medicamentos, dentre outros (Hughes; Andersson, 2017). Os antibióticos podem ser removidos da célula por meio de bombas de efluxo, também podem ser modificados para se tornarem menos efetivos ou podem ser destruídos, seus alvos nas células bacterianas podem se tornar protegidos por uma barreira ou até mesmo podem ser substituídos, modificados por mutação ou enzimaticamente modificados (Paitan, 2018).

A resistência bacteriana causa a morte de cerca de 700.000 pessoas por ano, e apesar da vasta gama terapêutica de antibióticos disponíveis (20 classes diferentes), a busca por estratégias mais eficientes ainda é necessária (Muhlberg *et al*, 2020). Em 2050 estima-se que as mortes decorrentes de infecções por cepas resistentes a antibióticos chegue aos 10 milhões ao ano (Huemer *et al*, 2020).

MECANISMOS DE AÇÃO ANTIMICROBIANO DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA

A prata é um metal historicamente conhecido por suas características

antimicrobianas, utilizado em vários segmentos desde os primórdios; esta tem sido incorporada em cremes, embalagens de alimentos, eletrodomésticos e etc. Por conta de suas propriedades, alguns estudos com nanopartículas de prata começaram a ganhar força, demonstrando que sua atividade antibacteriana era eficiente em microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos com altas taxas de letalidade em bactérias MDRs. Seus múltiplos mecanismos de ação atacam as bactérias em várias estruturas diferentes ao mesmo tempo, conferindo a elas a capacidade de inibir ou erradicar várias bactérias ao mesmo tempo (Bruna *et al*, 2021). Alguns mecanismos de ação das nanopartículas de prata são descritos na figura 1.

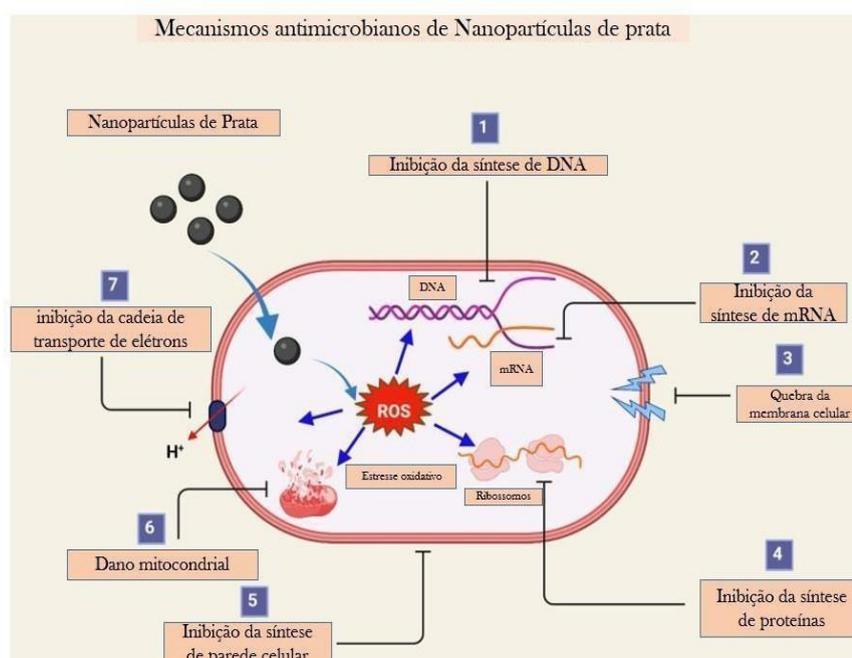


Figura 1. Imagem adaptada de Jain (2021). Mecanismo antimicrobiano de nanopartículas de prata: **Legenda:** (1) inibição da síntese de DNA, (2) inibição da síntese de mRNA, (3) destruição da membrana celular e vazamento dos constituintes celulares, (4) inibição da síntese proteica, (5) inibição da síntese da parede celular, (6) dano mitocondrial e (7) inibição da cadeia de transporte de elétrons.

Estudos descrevem que o mecanismo de ação das nanopartículas de prata ocorre de três formas diferentes: podem ser adsorvidas na superfície bacteriana, por meio de interações eletrostáticas, que causam destruição da membrana, perda de proteínas e, conseqüentemente, inativação bacteriana. Também podem produzir ROS, causando estresse oxidativo na bactéria. Por fim, o tamanho da nanopartícula pode influenciar a sua atividade bactericida, pois quanto menor, maior sua facilidade para atravessar a membrana bacteriana e destruir sua estrutura (Silveira *et al*, 2022).

SÍNTESE VERDE

Ademais, diante da grande demanda na produção das nanopartículas metálicas, os métodos de síntese empregados em sua maioria, utilizam agentes químicos tóxicos como redutores, que por sua vez causam danos ao meio ambiente, a saúde humana e animal, além de restringir a possibilidade da aplicação das nanopartículas e comprometer sua biocompatibilidade (Rónavári *et al*, 2021). Devido a estes fatores, algumas alternativas diferentes de síntese foram surgindo e sendo aprimoradas. A síntese verde de nanopartículas metálicas como as de prata, ganhou destaque e espaço nos últimos anos, por conta de suas características físico-químicas e biológicas singulares. Esta síntese tem o intuito de utilizar agentes redutores, mais biocompatível com o meio ambiente em geral, tornando esse processo menos tóxico e agressivo (Jain *et al*, 2021).

A síntese verde de nanopartículas, seus agentes redutores/capeadores, ajudam na estabilidade das moléculas, na redução, previnem a aglomeração e controlam o tamanho. A síntese pode ser realizada de três diferentes formas: a) usando fungos, leveduras, bactérias e actinomicetos; b) usando plantas e extratos de plantas e, por fim c) utilizando membranas, DNA de vírus e diatomáceas. Esses métodos resultam em produções em larga escala e menores taxas de contaminação, maior biocompatibilidade ambiental e menor toxicidade (Ahmad *et al*, 2019; Alabdallah; Hasan, 2021). Na figura 2 é possível observar a utilização de bionanofábricas na síntese verde de nanopartículas de prata.

Além de promover todos esses benefícios durante o processo de redução, a síntese verde de nanopartículas de prata pode ter as capacidades antibacterianas incrementadas por esses agentes capeadores e redutores, pois se os mesmos apresentarem características antimicrobianas em sua base, elas podem sofrer sinergismo com as moléculas metálicas e proporcionar ação antimicrobiana maior, dando resultados melhores de controle de crescimento bacteriano, inibição e erradicação completa de microrganismos (Roy *et al*, 2019).

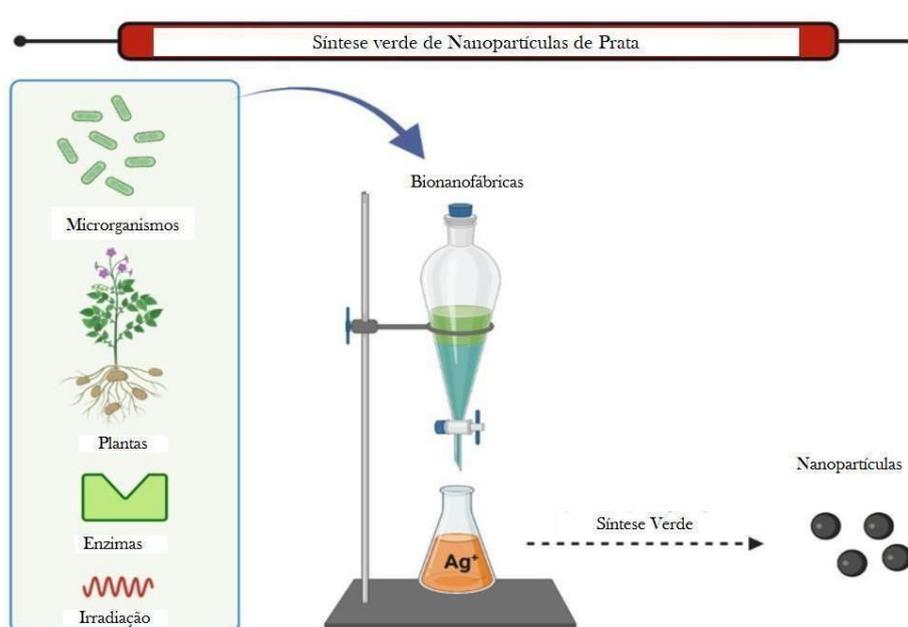


Figura 2. Imagem adaptada de Jain (2021).

Estratégias para a síntese verde de nanopartículas de prata em nanocápsulas, por meio da utilização de bionanofábricas, utilizando extratos de plantas, microrganismos, e enzimas, como agentes capeadores e biorredutores.

CONCLUSÃO

A resistência bacteriana aos antibióticos é uma realidade na nossa sociedade, ou seja, é um problema de saúde pública global. Por conta disto, existe uma procura incessante na comunidade científica por novos medicamentos, tecnologias ou metodologias, que possam ser utilizadas no enfrentamento de tais infecções. As nanopartículas são um nicho da ciência que vem crescendo e tomando mais espaço a cada dia no mercado, diante de suas características físico-químicas, que as tornam aplicáveis em áreas distintas, desde a indústria alimentícia e farmacêutica. Dentre os diversos tipos de nanopartículas as de prata se destacam por possuírem características antimicrobianas marcantes e bem difundidas. Sua síntese por meio de extratos de plantas as tornam mais biocompatíveis com o meio ambiente, além de reforçar sua atividade antimicrobiana, tornando-as fortes candidatas no desenvolvimento de novas terapias antimicrobianas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASI, E. et al. Silver nanoparticles: synthesis methods, bio-applications and properties. **Critical reviews in microbiology**, v. 42, n. 2, p. 173-180, 2016.

AHMAD, S. et al. Green nanotechnology: A review on green synthesis of silver nanoparticles—An ecofriendly approach. **International journal of nanomedicine**, p. 5087-5107, 2019.

ALABDALLAH, N. M.; HASAN, M. M.. Plant-based green synthesis of silver nanoparticles and its effective role in abiotic stress tolerance in crop plants. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 10, p. 5631-5639, 2021.

ALBALAWI, A. E. et al. High potency of organic and inorganic nanoparticles to treat cystic echinococcosis: an evidence-based review. **Nanomaterials**, v. 10, n. 12, p. 2538, 2020.

AL-KHATTAF, F. S. Gold and silver nanoparticles: Green synthesis, microbes, mechanism, factors, plant disease management and environmental risks. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 6, p. 3624-3631, 2021.

BRUNA, T. et al. Silver nanoparticles and their antibacterial applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 13, p. 7202, 2021.

BYAGATHVALLI, G.; CHALLITA, E. J.; BHAMLA, M. Saad. Frugal science powered by curiosity. **Industrial & engineering chemistry research**, v. 60, n. 44, p. 15874-15884, 2021.

CASTILLO, L. et al. Green Synthesis of Gold and Silver Nanoparticles from Plant Extracts and Their Possible Applications as Antimicrobial Agents in the Agricultural Area. 2020.

CHRISTAKI, E. et al. Antimicrobial resistance in bacteria: mechanisms, evolution, and persistence. **Journal of molecular evolution**, v. 88, p. 26-40, 2020.

HUEMER, M. et al. Antibiotic resistance and persistence Implications for human health and treatment perspectives. **EMBO reports**, v. 21, n. 12, p. e51034, 2020.

HUGHES, D. ; ANDERSSON, D. I. Evolutionary trajectories to antibiotic resistance. **Annual review of microbiology**, v. 71, p. 579-596, 2017.

JAIN, A. S. et al. Bionanofactories for green synthesis of silver nanoparticles: Toward antimicrobial applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 21, p. 11993, 2021.

JAIN, A. S. et al. Bionanofactories for green synthesis of silver nanoparticles: Toward antimicrobial applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 21, p. 11993, 2021.

MACHADO, E. C. et al. Detecção e quantificação de bactérias resistentes aos

antibióticos ampicilina e cloranfenicol em estações de tratamento de esgoto doméstico. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 25, p. 847-857, 2020.

MERCAN, D. A. ; NICULESCU, A. G.; GRUMEZESCU, A. M. Nanoparticles for antimicrobial agents delivery—An up-to-date review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 22, p. 13862, 2022.

MOHR, K. I. History of antibiotics research. **How to Overcome the Antibiotic Crisis: Facts, Challenges, Technologies and Future Perspectives**, p. 237-272, 2016.

MÜHLBERG, E. et al. Renaissance of vancomycin: Approaches for breaking antibiotic resistance in multidrug-resistant bacteria. **Canadian journal of microbiology**, v. 66, n. 1, p. 11-16, 2020.

MUSETTI, S. ; HUANG, L . Nanoparticle-mediated remodeling of the tumor microenvironment to enhance immunotherapy. **ACS nano**, v. 12, n. 12, p. 11740-11755, 2018.

NAJAH, W. M ; et al. Safe nanoparticles: Are we there yet?. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 1, p. 385, 2020.

PAITAN, Y. Current trends in antimicrobial resistance of Escherichia coli. **Escherichia coli, a versatile pathogen**, p. 181-211, 2018.

PUROHIT, R. et al. Social, environmental and ethical impacts of nanotechnology. **Materials today: proceedings**, v. 4, n. 4, p. 5461-5467, 2017.

RATAN, Z. A. et al. Green chemistry synthesis of silver nanoparticles and their potential anticancer effects. **Cancers**, v. 12, n. 4, p. 855, 2020.

RÓNAVÁRI, A. et al. Green silver and gold nanoparticles: Biological synthesis approaches and potentials for biomedical applications. **Molecules**, v. 26, n. 4, p. 844, 2021.

ROY, A. et al. Green synthesis of silver nanoparticles: biomolecule-nanoparticle organizations targeting antimicrobial activity. **RSC advances**, v. 9, n. 5, p. 2673-2702, 2019.

SILVEIRA, R. et al. Nanopartículas de prata: síntese, atividade antibacteriana e comparativo com um desinfetante comum. **Tecnologia em Metalurgia, Materiais e Mineração**, v. 19, p. 0-0, 2022.

TANG, S. ; ZHENG, J. Antibacterial activity of silver nanoparticles: structural effects. **Advanced healthcare materials**, v. 7, n. 13, p. 1701503, 2018.

4.4 Parte dos resultados dessa dissertação serão publicados como artigo experimental.

ARTIGO 1

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E SINÉRGICA *in vitro* e *in vivo* DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Myrciaria tenella* (DC.) O.Berg E DO SEU COMPOSTO MAJORITÁRIO EM BACTÉRIAS RESISTENTES DE ORIGEM CLÍNICA E AMBIENTAL

Hévellin Talita Sousa Lins¹, Amanda Vieira de Barros¹, Tainara Dantas¹, Patryck Ermerson Monteiro dos Santos¹, Fábio Henrique Galdino dos Santos², Daniela Maria do Amaral Ferraz Navarro², Márcia Vanuza da Silva¹, Patricia Maria Guedes Paiva¹, Carina Lucena Mendes Marques³, Bruno Oliveria de Veras¹, Maria Betânia Melo de Oliveira¹.

¹ Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco

² Laboratório de Ecologia Química Departamento de Química Fundamental, Centro de Ciências Exatas e da Natureza Universidade Federal de Pernambuco

³ Universidade Rural Federal de Pernambuco

Resumo

A resistência bacteriana, uma das principais ameaças à saúde pública global, impulsiona a busca por novas drogas antimicrobianas. A *Myrciaria tenella* é uma da Caatinga, que possui potencial biotecnológico, devido à sua composição química. Diante disso, este estudo objetivou isolar, caracterizar e avaliar a atividade antimicrobiana e moduladora do óleo essencial das folhas de *M. tenella* (OEMT) e seu composto majoritário, 1,8-cineol (CNL), frente a bactérias resistentes. O OEMT foi obtido pelo método de hidrodestilação e sua composição química analisada pela cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa. Foram conduzidos os testes de concentração inibitória mínima (CIM) do óleo essencial frente aos isolados ambientais de *Staphylococcus schleiferi*, *S. sciuri*, *S. Epidermidis*, *S. haemolyticus*, *Klebsiella pneumoniae* e *K. oxytoca*, e isolados clínicos de *S. aureus* e *K. Pneumoniae*. Posteriormente, foi avaliada a atividade modulatória (MOD) do OEMT e do CNL associados ao antibiótico Ampicilina (AMP), e avaliando a sua efetividade pelos teste de curvas de crescimento e morte bacteriana, além de ensaios *in vivo* com larvas de *Tenebrio molitor*. A caracterização química revelou o CNL (34,51%) como composto majoritário no OEMT. A CIM indicou que tratamentos isolados não inibiram o crescimento bacteriano, porém os testes de modulação demonstraram redução expressiva nos valores de CIM para as cepas testadas. As curvas de crescimento revelaram diminuição de *K. oxytoca* e *S. schleiferi* nas concentrações de MOD do

OEMT e ampicilina em comparação com o controle positivo de crescimento. Em curvas de morte, apenas *K. oxytoca* apresentou redução da carga bacteriana já estabelecida. Em análises *in vivo*, os tratamentos demonstraram eficiência contra infecções bacterianas resistentes nas primeiras 24 horas. Os ensaios de modulação com antibióticos sugerem potencial sinérgico e terapêutico dos tratamentos, de modo que os resultados representam uma alternativa promissora no enfrentamento da resistência antimicrobiana, oferecendo estratégias para o desenvolvimento de tratamentos eficazes.

Palavras-chave: Resistência bacteriana; produtos naturais; metabólitos secundários; sinergismo.

Abstract

Bacterial resistance is a major threat to global public health and is driving the search for new antimicrobial drugs. *Myrciaria tenella* is a plant that is found in the Caatinga region and that has a biotechnological potential due to its chemical composition. The objective of this study was to isolate, characterize and evaluate the antimicrobial and modulatory activity of *M. tenella* leaf essential oil (OEMT) and its main compound, 1,8-cineole (CNL), against resistant bacteria. The OEMT was obtained through the hydrodistillation method, and its chemical composition was analyzed using gas chromatography coupled to a mass spectrometer. The text fragment ends here. MIC tests were conducted on environmental isolates of *Staphylococcus schleiferi*, *S. sciuri*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *Klebsiella pneumoniae*, and *K. oxytoca*, as well as clinical isolates of *S. aureus* and *K. pneumoniae*. The study evaluated the modulatory activity (MOD) of OEMT and CNL in association with the antibiotic Ampicillin (AMP). The effectiveness of these compounds was assessed using growth curves, bacterial death tests, and *in vivo* tests with *Tenebrio molitor* larvae. Chemical characterization revealed that CNL (34.51%) was the majority compound in OEMT. The MIC results indicated that isolated treatments did not inhibit bacterial growth. However, modulation tests showed a significant reduction in MIC values for the tested strains. The growth curves demonstrated a decrease in *K. oxytoca* and *S. schleiferi* at the MOD concentrations of OEMT and ampicillin compared to the positive growth control. In the kill curves, only *K. oxytoca* exhibited a reduction in the already established bacterial load. In the *in vivo* analyses, the treatments proved effective against resistant bacterial infections within the first 24 hours. Modulation tests with antibiotics suggest that the treatments have synergistic and therapeutic potential. These results represent a promising alternative in the fight against antimicrobial resistance, offering strategies for the development of effective treatments.

Keywords: Bacterial resistance; natural products; secondary metabolites; synergism.

Introdução

A Resistência Antimicrobiana (RAM), classificada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma das principais causas de morte no mundo, tem gerado

preocupação crescente na comunidade científica e médica (Almeida *et al*, 2023). Dados revelam que, todos os anos, mais pessoas morrem por infecções bacterianas, do que por doenças causadas pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV/AIDS), malária e câncer (Working, 2023).

Bactérias como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter* spp, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*, representam os isolados clínicos com os maiores índices de resistência. Essas bactérias produzem enzimas beta-lactamases, que inativam os antibióticos como penicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenêmicos (Zonta *et al*, 2020; Idrovo, 2022).

No entanto, a presença de bactérias resistentes não se limita ao ambiente hospitalar. Os ambientes aquáticos impactados vêm sendo recentemente citados, como locais que albergam patógenos humanos e possibilitam o surgimento, aumento e transferência da RAM (Souza *et al*, 2023). Como consequência, a água contaminada torna-se um veículo para o transporte de agentes infecciosos (Anyanwu *et al*, 2020).

Diante deste cenário, existe a necessidade de descobrir novos medicamentos para o enfrentamento da RAM (Idrovo, 2022). Os compostos extraídos de plantas, como óleos essenciais (OE) e seus metabólitos secundários, representam importantes fontes de novas moléculas bioativas para o desenvolvimento de novos antibacterianos (Hall *et al*, 2020; De Almeida; De Almeida; Gherardi, 2020).

Os OE e seus componentes voláteis, exibem diversas propriedades medicinais, incluindo propriedades antimicrobianas, antivirais, antiinflamatórias, anticancerígenas e antioxidantes (Shaaban; El-Ghorab; Shibamoto, 2012; Raut; Karuppayil, 2014). A diversidade química dos OE de plantas aromáticas do Nordeste do brasileiro, especialmente no domínio fitogeográfico da Caatinga, oferece potencial biotecnológico promissor para o desenvolvimento de novas drogas antibacterianas (Blank *et al*,. 2019; Costa *et al*, 2022).

Neste contexto, a planta *Myrciaria tenella* é frequentemente utilizada na medicina tradicional. O seu OE é conhecido por possuir diversas atividades biológicas, como antioxidante (De Carvalho *et al*, 2021) e antiinflamatória (Gonçalves *et al*, 2021). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antimicrobiano e potencial sinérgico do óleo essencial das folhas de *M. tenella* (OEMT), bem como de seu composto majoritário, o 1,8 Cineol (CNL), contra bactérias resistentes isoladas de ambientes aquáticos e clínicos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção dos Isolados

Os isolados bacterianos clínicos e ambientais (tabela 1) foram obtidos do Laboratório de Biologia Molecular (BIOMOL) do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco. As bactérias foram previamente identificadas por meio do VITEK, e confirmadas molecularmente pelo método de MALDI-TOF-MS/ML. Os perfis de susceptibilidade antimicrobiana foram realizados por meio do sistema MicroScan® (Dade Behring - West Sacramento, Califórnia, USA), leitor automático autoSCAN 4®, pela autora Silva *et al* (2023).

Tabela 1. Isolados bacterianos utilizados no presente trabalho com seu respectivo perfil de resistência.

Isolados	ID	Perfil de Resistência
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	P104	MDR
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	P109	MDR
<i>Klebsiella oxytoca</i>	P202	MDR
<i>Aeromonas caviae</i>	P213	MDR
<i>Staphylococcus sciuri</i>	P303	MDR
<i>Lactococcus lactis</i>	P307	XDR
<i>Escherichia coli</i>	P308	MDR
<i>Enterobacter cloacae</i>	P316	MDR
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	P404	MDR
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	P408	XDR
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	P414	MDR
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	P108	MDR
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	653.12	XDR
<i>Staphylococcus aureus</i>	5377	MDR

Legenda: ID: Numeração utilizada para identificar os isolados. Fonte: Silva *et al* (2023).

Coleta e Extração do OEMT e obtenção do CNL

As folhas de *M. tenella* foram coletadas no Parque Nacional do Vale do Catimbau (37°14'40" W), no município de Buíque, localizado no estado de Pernambuco, em setembro de 2022. Foram pesados 500 g do material vegetal fresco, o qual foi submetido ao método extração do OE pelo método de hidrodestilação acoplado ao aparelho do tipo Clevenger a 96 °C por 4 h. Para a determinação do rendimento (m/m), de acordo com a fórmula proposta por Santos *et al.* (2004): $TO = (Vo/Bm) \times 100$, no qual, o cálculo para o teor (To) dos OE em base úmida é determinado pela relação entre o Volume do óleo (Vo) e a Biomassa vegetal (Bm). O CNL foi obtido comercialmente pela Sigma.

Análise da composição química do óleo

As condições de análise basearam-se em Santos *et al.* (2012), com algumas modificações. O equipamento utilizado nas análises via GC-MS foi do tipo quadrupolo Agilent, modelo 5977B, equipado com uma coluna capilar de sílica fundida HP-5ms não polar (Agilent J&W) (30 m × 0,25 mm i. d.; espessura do filme 0,25 mm). O Hélio foi utilizado como gás de arraste, com uma taxa de fluxo total de 0,225 L/min. As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 250 °C e 280 °C, respectivamente. A programação de temperatura do forno consistiu de iniciar em 40 °C, manter por 1 min e, em seguida, aumentar para 300 °C a uma taxa de 6 °C/min. Esta temperatura final foi mantida por seis minutos. As alíquotas de 1 µL de cada amostra foram introduzidas individualmente na coluna com o injetor utilizando um *split* de 1:200. O potencial de ionização foi de 70 eV, enquanto o intervalo de varredura foi de 40 a 550 m/z com uma taxa de 0,5 varredura por segundo. Comparou-se os índices calculados para cada composto com os respectivos valores na literatura (Adams, 2007). A quantidade relativa dos compostos identificados foi obtida através do GC-FID. O equipamento utilizado nas análises foi o TRACE GC Ultra (Thermo Scientific), equipado com uma coluna DB-5 não-polar (60 m × 0,25 mm i. d.; espessura do filme 0,25 mm) utilizando as mesmas condições de análises via GC-MS.

Concentração Inibitória Mínima

Para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), foi utilizado o método de microdiluição seriada em caldo, segundo o *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2023), com modificações. Neste ensaio foi utilizado OEMT e CNL na concentração de 4096 - 8 µg/mL. Cerca de 100 µL dos tratamentos foram adicionados a placa de Elisa, e realizada a diluição seriada na proporção de 1:1. Em seguida, foram utilizados 10 µL dos inóculos bacterianos ajustados a 0,5 MacFarland ($1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias). As placas foram mantidas em estufa por 24 h a 37 °C. O CIM foi determinado como a menor concentração que apresentou inibição do crescimento bacteriano.

Atividade Modulatória (MOD)

O efeito MOD do OEMT e do CNL associados ao antibiótico Ampicilina (AMP) foram testados frente ao isolados, de acordo com a técnica de *Checkerboard*, descrito por Orhan *et al.* (2016). A Concentração Inibitória Fracional (FIC) foi avaliada pela fórmula: $FICa = (MICa \text{ combinado}) / (MICa \text{ sozinho})$, onde foi definido como sinérgico

FICI \leq 0,5, aditivo se $0,5 < \text{FICI} \leq 1$, indiferente se $1 < \text{FICI} < 2$, e antagonista se FICI ≥ 2 .

Curva de Crescimento

Os isolados serão ajustados a 0,5 MacFarland. As cepas foram submetidas às concentrações referentes a CIM do antibiótico e às concentrações referentes ao MOD, 1/2 MOD e 1/4 MOD do OEMT e do CNL associados a AMP. As amostras foram incubadas durante 24 h a 37 °C, com leitura em espectrofotômetro de microplacas Epoch, a cada hora até o final do experimento. Para avaliar o efeito dos tratamentos no crescimento bacteriano, os valores das leituras foram plotados em uma curva.

Curva de Morte

Seguindo a metodologia de Joray *et al.* (2011) com adaptações, os isolados realizaram ajuste de inóculo a 0,5 MacFarland. Em seguida, foram colocadas em placa de 96 poços contendo 100 uL de meio de cultura Mueller Hinton Broth. Posteriormente, o crescimento bacteriano foi acompanhado por um período de oito horas em estufa a 37 °C. Após esse tempo, as concentrações previamente estabelecidas de MOD, 1/2 MOD e 1/4 MOD foram adicionadas e acompanhadas por mais 12h em leitor de placa com aquecimento de 37 °C.

Teste *in vivo* em modelo de *Tenebrio molitor*

Para os testes *in vivo* foram utilizadas larvas de *T. molitor*, seguindo a metodologia adaptada de Andrade-Oliveira *et al* (2023). As larvas foram obtidas comercialmente e mantidas em laboratório em recipientes plásticos opacos, ao abrigo da luz, em BOD a 30 °C com mistura comercial de sementes e grãos.

Ensaio de toxicidade

Cerca de cinco larvas de *T. molitor*, com peso médio de 800 mg, foram utilizadas por grupo, de acordo com os tratamentos obtiveram atividade sinérgica de acordo com a metodologia anteriormente descrita. Foram utilizados o grupo controle com salina a 0,9%. Foram aplicados 40µL dos tratamentos, e as larvas foram mantidas em estufa a 37 °C e observadas durante cinco dias.

Ensaio de determinação do ajuste bacteriano

Cerca de dez larvas (800 mg) para o ajuste da carga bacteriana da infecção com as cepas bacterianas. As bactérias foram ajustadas a 0,5 e 1 MacFarland para a determinação da melhor concentração de infecção. Após a inoculação de 40µL, as larvas foram colocadas em placas de Petri e incubadas a 37 °C por cinco dias, com monitoramento diário das taxas de mortalidade, de acordo com a metodologia adaptada de Andrade-Oliveira *et al* (2023).

Ensaio de sobrevivência

Foi feita seleção de dez larvas com peso aproximado de 800 mg para cada grupo, após a seleção foi realizada infecção com os isolados bacterianos, a partir dos resultados de ajuste de inóculo obtidos, dessa forma, 40µL das bactérias foram inoculadas nas larvas. Posteriormente, também foi realizada a administração dos tratamentos da concentração de MOD, no qual sua concentração respectiva não apresentou efeito tóxico para as larvas de *T. molitor*. Por fim, elas foram armazenadas em estufa, a 37 °C e monitoradas por cinco dias, pela metodologia adaptada de Andrade-Oliveira *et al* (2023).

Análise estatística

A análise estatística foi efetuada utilizando o software GraphPad Prism 8 (GraphPad, La Jolla, CA, EUA). Os dados da curva de crescimento e curva de morte foram analisados pelo teste de ANOVA Two-way e analisados através do teste Tukey (95%). Os resultados dos testes *in vivo* da determinação do inóculo e da sobrevivência foram submetidos ao teste de ANOVA Two-way e pós teste de Log-rank ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Composição Química do óleo

Os resultados da composição química do OEMT (Tabela 2) demonstraram a presença de 25 compostos, sendo o 1,8-cineol (34,51%), β -Eudesmol (8,80%), Elemol (8,15%), (*E*)-Caryophyllene (7,89%), e Terpinen-4-ol (5,82%), detectados em maior concentração. Quanto ao rendimento foi observado um percentual de 0,64% do OEMT.

Tabela 2. Perfil químico do óleo essencial de *Myciaria tenella* (OEMT)

Composto	Índice de retenção calculado	Índice de retenção da literatura ¹	%	Desv. pad. (%)
α -Thujene	923	924	0,52	0,05
α -Pinene	928	932	2,81	0,26
Sabinene	968	969	1,54	0,14
β -Pinene	970	974	3,29	0,29
Myrcene	986	988	0,48	0,02
ρ -Cymene	1019	1020	5,01	0,43
1,8 Cineole	1026	1026	34,51	3,09
Terpinen-4-ol	1173	1174	5,82	0,16
α -Terpineol	1186	1186	1,17	0,02
α -Copaene	1374	1374	1,17	0,03
β -Bourbonene	1383	1387	1,67	0,08
β -Elemene	1389	1389	traço	-
(E)-Caryophyllene	1418	1417	7,89	0,36
α -Humulene	1452	1452	0,86	0,06
allo-Aromadendrene	1459	1458	0,53	0,04
β -Selinene	1484	1489	traço	-
trans-Calamenene	1520	1521	traço	-
α -Calacorene	1541	1544	traço	-
Elemol	1547	1548	8,15	0,83
Spathulenol	1576	1577	1,85	0,21
Caryophyllene oxide	1582	1582	5,16	0,68
Rosifoliol	1606	1600	5,47	0,64
γ -Eudesmol	1629	1630	2,40	0,30
β-Eudesmol	1648	1630	8,80	1,12
α -Eudesmol	1650	1652	traço	-
			99,1	
Total identificado (%):			0	
Total não-identificado (%):			0,90	

Concentração Inibitória Mínima

Os resultados da CIM demonstram que o tratamento aplicado com o OEMT e CNL isoladamente, não foram eficientes para inibir o crescimento bacteriano em nenhum dos isolados testados. Já o valor de CIM para o tratamento com o antibiótico AMP apresentou resultados acima de 1024 $\mu\text{g/mL}$ (Tabela 3 e 4).

Tabela 3. Avaliação do efeito modulador do OE de *Myrciaria tenella* associado ao antibiótico AMP

ISOLADOS	PROCEDÊNCIA	CIM ($\mu\text{g/mL}$)		MOD ($\mu\text{g/mL}$)	FIC
		OE	AMP		
<i>S. schleiferi</i>	A	> 4096	>1024	4096 $\mu\text{g/mL}$ x	Sinergismo

<i>K. pneumoniae</i>	A	µg/mL > 4096	µg/mL >1024	2 µg/MI (-)	Indiferente
<i>K. oxytoca</i>	A	µg/mL > 4096	µg/mL >1024	4096 µg/mL x 1024 µg/mL	Sinergismo
<i>S. sciuri</i>	A	µg/mL > 4096	µg/mL >1024	(-)	Indiferente
<i>S. epidermidis</i>	A	µg/mL > 4096	µg/mL >1024	4096 µg/mL x 1024 µg/mL	Sinergismo
<i>S. haemolyticus</i>	A	µg/mL > 4096	µg/mL >1024	32 µg/mL x 2 µg/mL	Sinergismo
<i>S. aureus</i>	C	µg/mL > 4096	µg/mL >1024	512 µg/mL x 2 µg/mL	Sinergismo
<i>K. pneumoniae</i>	C	µg/mL > 4096	µg/mL >1024	(-)	Indiferente

Legenda: Concentração Inibitória Mínima (CIM), Modulação (MOD), Sem modulação (-), Ambiental (A), Clínico (C).

Tabela 4. Valores referente ao efeito modulador do composto majoritário 1,8 cineol, em associação com o antibiótico AMP.

ISOLADOS	PROCEDÊNCIA	CIM (ug/mL)		MOD (ug/ mL)	FIC
		CNL	AMP		
<i>S. schleiferi</i>	A	> 4096 µg/mL	>1024 µg/mL	(-)	Indiferente
<i>K. pneumoniae</i>	A	> 4096 µg/mL	>1024 µg/mL	(-)	Indiferente
<i>K. oxytoca</i>	A	> 4096 µg/mL	>1024 µg/mL	(-)	Indiferente
<i>S. sciuri</i>	A	> 4096 µg/mL	>1024 µg/mL	(-)	Indiferente
<i>S. epidermidis</i>	A	> 4096 µg/mL	>1024 µg/mL	(-)	Indiferente
<i>S. haemolyticus</i>	A	> 4096 µg/mL	>1024 µg/mL	(-)	Indiferente
<i>S. aureus</i>	C	> 4096 µg/mL	>1024 µg/mL	2048 µg/mL x 2 µg/mL	Sinergismo
<i>K. pneumoniae</i>	C	> 4096 µg/mL	>1024 µg/mL	(-)	Indiferente

Legenda: Concentração Inibitória Mínima (CIM), Modulação (MOD), Sem modulação (-), Ambiental (A), Clínico (C).

Efeito Modulatório

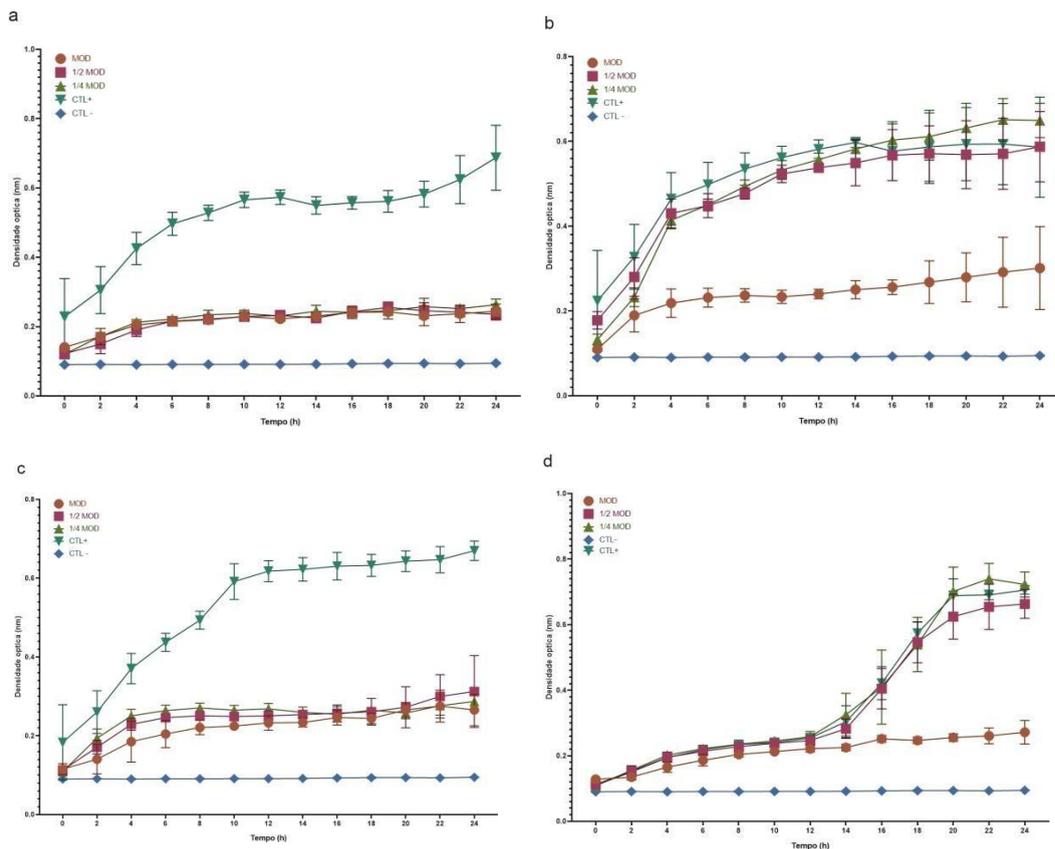
Diante dos resultados da CIM, oito isolados incluindo clínicos e ambientais foram selecionados para os testes de modulação. Quando investigado o efeito modulatório, foi possível perceber que *S. schleiferi*, *S. oxytoca*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* e *S. aureus* apresentaram sinergismo do óleo com o antibiótico, nas menores concentrações. Já quando avaliado nos isolados de *K. pneumoniae* e *S. sciuri* os dados não revelaram resultados MOD significativos. O composto CNL em associação com o antibiótico, apresentou ação de sinergismo apenas nos isolados de

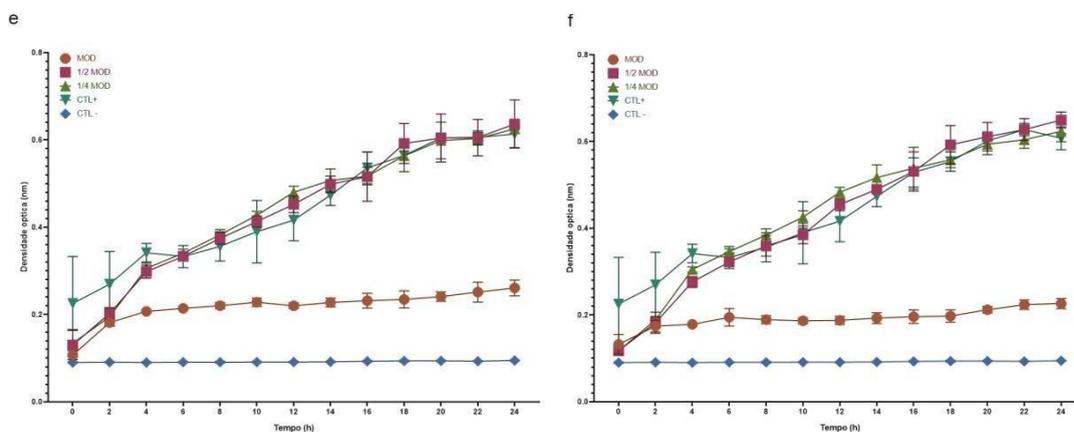
S. aureus e nas concentrações de 2048 µg/mL e 2 µg/mL, respectivamente (tabela 4).

Curva de Crescimento

Os testes foram realizados de acordo com os melhores resultados obtidos nos ensaios da modulação. Os tratamentos aplicados a *K. oxytoca* reduziram significativamente o crescimento bacteriano nas concentrações referentes a MOD ($P < 0,0001$), 1/2 MOD ($P < 0,0001$) e 1/4 MOD ($P < 0,0001$). Quando comparados com a concentração de MOD, os 1/2 MOD ($P = 0,9802$) e 1/4 MOD ($P = 0,0738$) não demonstraram diferença estatística nos tratamentos. Para *S. schleiferi*, as três concentrações dos tratamentos utilizados atuaram efetivamente na redução da carga bacteriana ($P < 0,0001$), não havendo diferença estatística apenas entre 1/2 MOD e 1/4 MOD ($P = 0,9460$) (Gráfico 1).

Gráfico 1. Curva de crescimento para a) *K. oxytoca*; b) *S. epidermidis*; c) *S. schleiferi*; d) *S. haemolyticus*; e) *S. aureus* + OEMT; f) *S. aureus* + 1,8 Cineol .





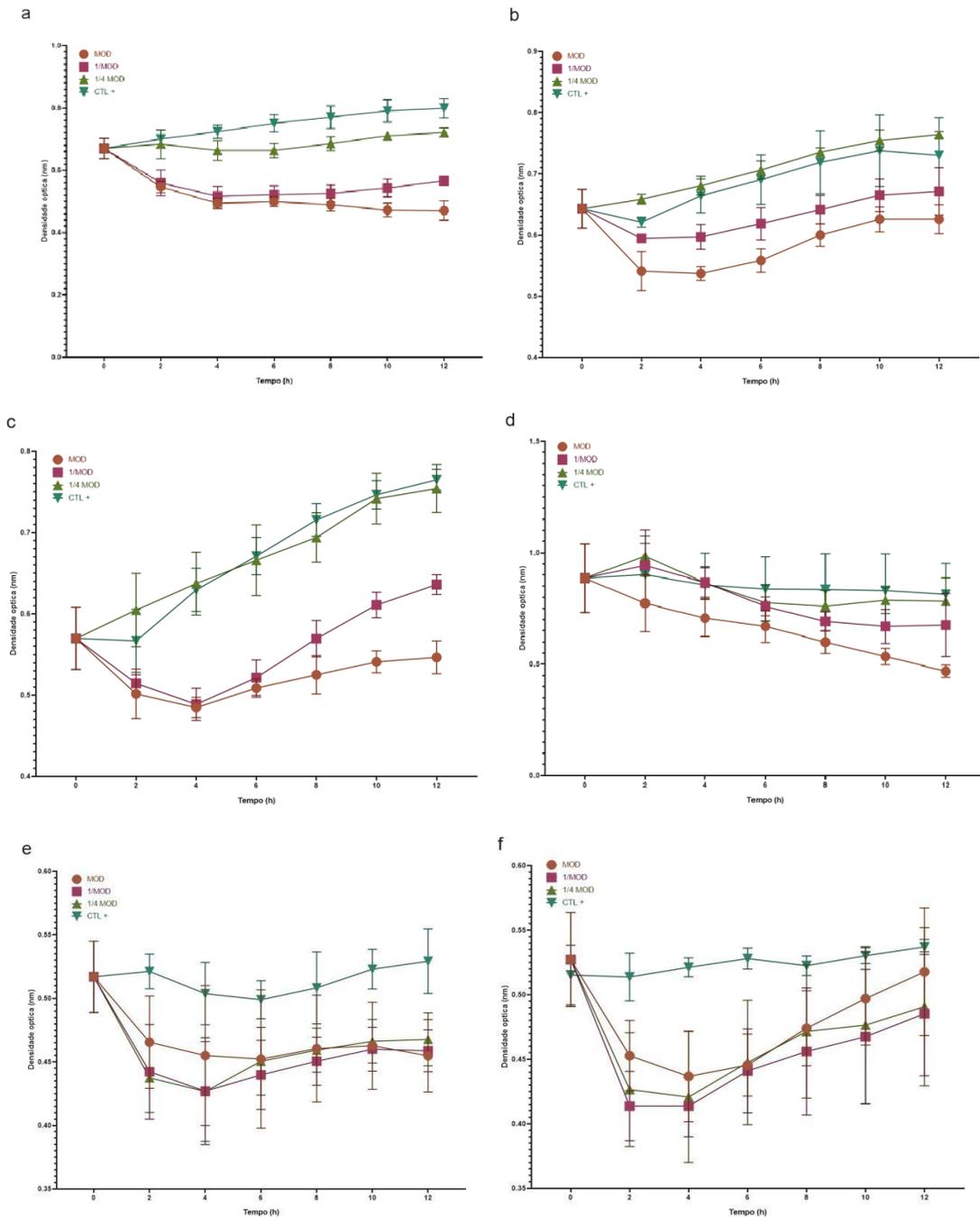
Legenda: Modulação -MOD. Modulação 1 para 2 (1/2 MOD). Modulação 1 para 4 (MOD 1/4). Controle de Crescimento (CTL+). Controle de Esterilidade (CTL -).

Os tratamentos com o OEMT e o CNL, no isolado de *S. aureus* demonstrou redução de crescimento apenas nas concentrações de MOD, com $P = <0,0001$. O mesmo foi observado para *S. haemolyticus*, o qual o MOD foi o único tratamento efetivo ($P = <0,0001$). Os tratamentos com MOD ($P = <0,0001$) e 1/2 MOD ($P = 0,0042$) foram efetivos em *S. epidermidis* (Gráfico 1b).

Curva de morte

Para os isolados de *K. oxytoca*, todos os tratamentos reduziram significativamente a carga bacteriana, após 12h de exposição ao tratamento ($P = <0,0001$). Para *S. schleiferi* e *S. epidermidis*, MOD ($P = <0,0001$) e 1/2 MOD ($P = <0,0001$) foram efetivos, com redução nas primeiras duas e quatro horas de monitoramento, respectivamente. Nesses microrganismos, com 1/4 MOD foi observado o maior crescimento bacteriano, $P = 0,0818$ para *S. schleiferi* e $P = 0,9996$ para *S. epidermidis* (Gráfico 2).

Gráfico 2. Curva de morte para a) *K. oxytoca*; b) *S. schleiferi*; c) *S. epidermidis*; d) *S. haemolyticus*; e) *S. aureus* + OEMT; f) *S. aureus* + 1,8 cineol.



Legendas: Modulação -MOD. Modulação 1 para 2 (1/2 MOD). Modulação 1 para 4 (MOD 1/4). Controle de Crescimento (CTL+).

Nos isolados de *S. aureus* tratados com OEMT e AMP, foi possível observar uma redução da carga bacteriana ($P < 0,0001$). Apesar de se manter em sentido decrescente em relação ao controle de crescimento, os tratamentos não tiveram diferença estatística entre si. Quando este mesmo isolado foi tratado com as concentrações de MOD do CNL e AMP, foi observado que nenhum dos tratamentos diferiram entre si. Para os isolados de *S. haemolyticus* apenas a concentração de

MOD ($P < 0,0001$) e 1/2 MOD ($P = 0,0279$) foram eficientes na redução do crescimento bacteriano.

Teste *in vivo*

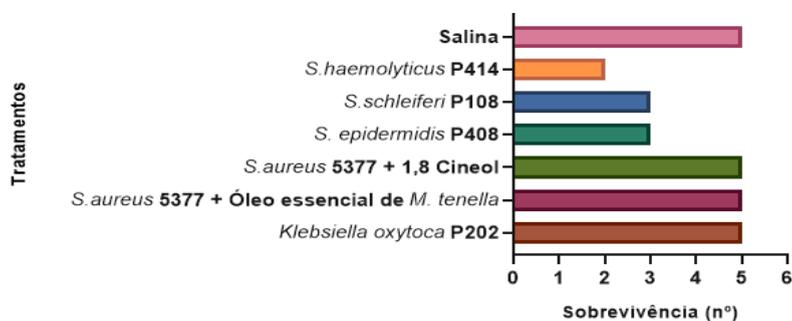
Teste de toxicidade em larvas de *T. molitor*

A partir das concentrações obtidas nos testes de MOD, os grupos 1 e 2 (Tabela 5), promoveram toxicidade e posteriormente morte de alguns indivíduos (Gráfico 3). Já nos grupos 3, 4, 5 e 6, não provocaram toxicidade ou mortalidade de *T. molitor* nas concentrações de MOD do óleo e do CNL, associados com a AMP. Esses tratamentos foram considerados ideais para a realização dos testes posteriores de determinação do ajuste de inóculo, e de toxicidade.

Tabela 5. Avaliação da toxicidades dos grupos em relação às concentrações do MOD definidas.

Grupos	ISOLADOS	MOD ($\mu\text{g/mL}$)
1	<i>S. epidermidis</i>	4096 $\mu\text{g/mL}$ x 1024 $\mu\text{g/mL}$
2	<i>K. oxytoca</i>	4096 $\mu\text{g/mL}$ x 1024 $\mu\text{g/mL}$
3	<i>S. schleiferi</i>	4096 $\mu\text{g/mL}$ x 2 $\mu\text{g/mL}$
4	<i>S. haemolyticus</i>	32 $\mu\text{g/mL}$ x 2 $\mu\text{g/mL}$
5	<i>S. aureus</i> (OE)	512 $\mu\text{g/mL}$ x 2 $\mu\text{g/mL}$
6	<i>S. aureus</i> (1,8 Cineol)	2048 $\mu\text{g/mL}$ x 2 $\mu\text{g/mL}$

Gráfico 3. Teste de toxicidade dos tratamentos de acordo com a sobrevivência das larvas de *T. molitor*.

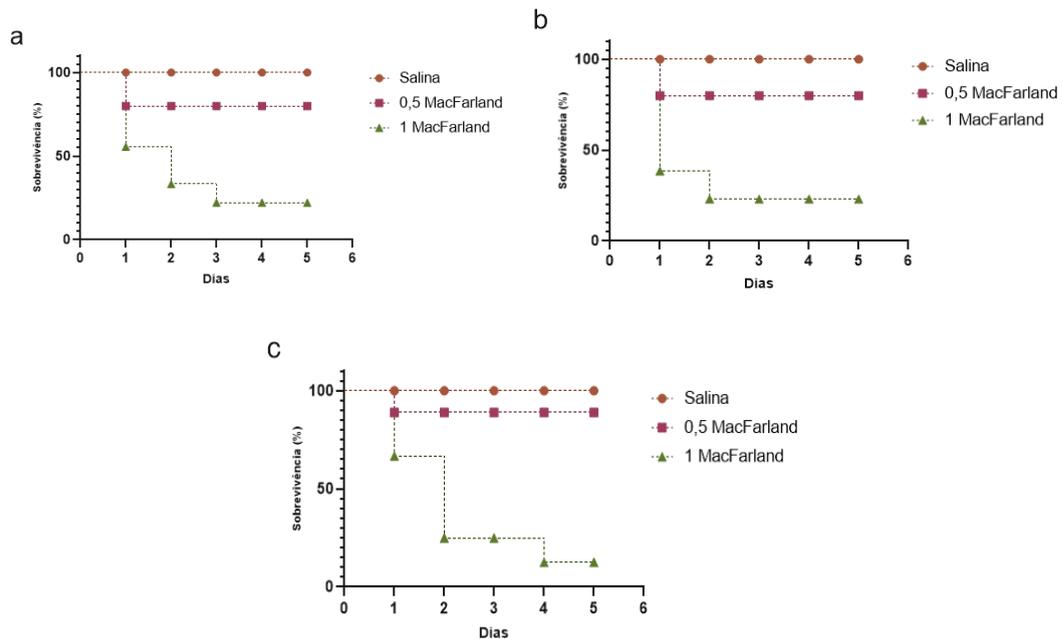


Determinação do ajuste de inóculo *in vivo*

Os grupos da infecção por *S. schleiferi* ($P = 0,0191$), *S. aureus* ($P = 0,0082$) e *S. haemolyticus* ($P = 0,0009$) correspondentes à escala 1 MacFarland resultou na morte da maioria dos indivíduos, principalmente quando comparados aos indivíduos

inoculados com 0,5 MacFarland (Gráfico 4).

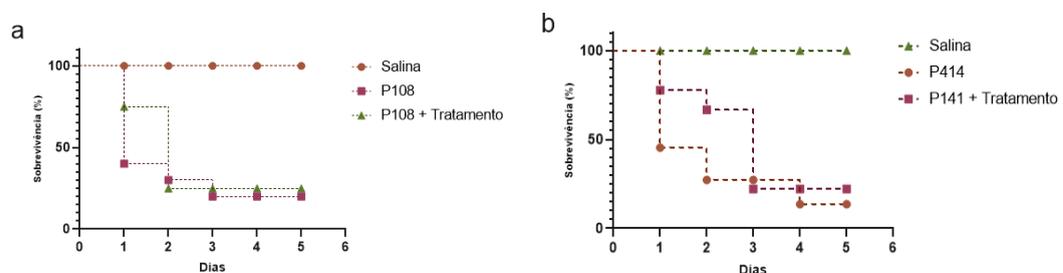
Gráfico 4. Inoculação bacteriana em modelos de *T. molitor*, a 0,5 e 1 MacFarland. a) *S. schleiferi*; b) *S. aureus*; c) *S. haemolyticus*.

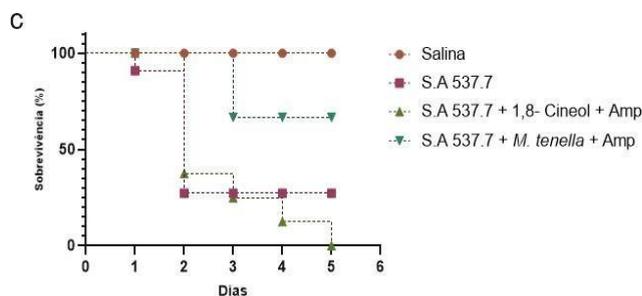


Teste de sobrevivência

Teste de sobrevivência em larvas de *T. molitor* infectadas previamente com as bactérias, demonstraram resultados satisfatórios para modelos infectados com *S. aureus*, *S. haemolyticus* e *S. schleiferi*. Nos grupos não tratados, ocorreu uma alta mortalidade nos primeiros dias de experimento, enquanto nos tratamentos, a mortalidade foi observada no final do experimento, demonstrando capacidade estabilizadora de sobrevivência nos primeiros dias da infecção (Gráfico 5). Na espécie *S. schleiferi*, o grupo tratado diferiu estatisticamente do não tratado ($P=0,0233$).

Gráfico 5. Testes de Sobrevivência, Modelo de larvas de *T. molitor* inoculadas 1 MacFarland e tratadas. a) *S. schleiferi*; b) *S. aureus*; c) *S. haemolyticus*.





DISCUSSÃO

Nos últimos anos, as plantas medicinais vem sendo cada vez mais utilizadas na medicina tradicional devido suas capacidades terapêuticas, sendo constantemente empregadas na cultura popular, para o tratamento de diversas enfermidades. Elas apresentam-se como agentes promissores no desenvolvimento de novos fármacos, por possuírem componentes importantes para o controle e tratamento de várias doenças (Bastos *et al*, 2011; Argentina *et al*, 2011).

Extratos de plantas da caatinga apresentam potencial na prevenção da formação de biofilme e na inibição do crescimento bacteriano planctônico contra *Staphylococcus epidermidis*, potencialmente identificando novos antibiofilmes e produtos antibacterianos da medicina tradicional brasileira.

Nesse sentido, Antonelo *et al* (2023) destacam em seu estudo que, as espécies da família das Myrtaceae são comumente utilizadas na medicina tradicional, e são ricas em moléculas bioativas como: carotenóides, compostos fenólicos, monoterpenos e sesquiterpenos. No presente estudo, a composição química do OEMT apresentou maior concentração de 1,8 cineol (34,51%), β -Eudesmol (8,80%), Elemol (8,15%), (*E*)-Caryophyllene (7,89%), e Terpinen-4-ol (5,82%).

Essa composição química demonstrou diferenças com dados da literatura para constituintes voláteis de espécies de *M. tenella*, onde são encontrados em maior concentração compostos como α -pineno e β -pineno (Schneider *et al*, 2008; Monteiro *et al*, 2016; Gonçalves *et al*, 2021). Ademais, é importante ressaltar que a composição química e o rendimento do OE pode sofrer impactos e apresentar diferenças de acordo com as condições ambientais, bem como condições de solo e temperatura, disponibilidade de macro e micronutrientes, radiação UV, exposição a patógenos entre outros (Silva *et al*, 2021).

O CNL é um monoterpeno, que possui atividade antimicrobiana,

antiinflamatória, e antioxidantes atuando no controle e combate de várias doenças, dentre elas algumas de origem respiratória, como asma, doença pulmonar obstrutiva crônica (Riu *et al*, 2022). Também é amplamente difundido no tratamento dos sintomas de resfriados, além de ser usado para tratamento de pancreatite, colite, além de servir como analgésico (Yin *et al*, 2020).

Moo *et al* (2021) avaliaram a atividade antimicrobiana do CNL diante de isolados de *K. pneumoniae* produtora de carbapenemases. Em pesquisa, os autores observaram que alguns dos mecanismos utilizados pelo CNL estavam relacionados com a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) através do estresse oxidativo, que iniciavam a peroxidação lipídica, e causavam dano da membrana celular.

O composto β -Eudesmol é um sesquiterpeno amplamente estudado, pois possui atividade antiangiogênica, antitumoral (Ma *et al*, 2008), e antialérgica (Ha *et al*, 2017). No sistema digestivo, ele atua na inibição do desenvolvimento de úlceras gástricas. Já no sistema nervoso central, atua como um bloqueador não competitivo da acetilcolina nicotínica (ACh), além de bloquear receptores na junção neuromuscular, e desempenha papel muito importante no alívio da dor neuromuscular (Acharya; Chaijaroenkul; Na-Bangchang, 2021).

O Elemol, por sua vez é um sesquiterpenóide, citado na literatura como composto presente em várias plantas, como *Didymocarpus tomentosa* e *Chamaecyparis obtusa*, e apresenta atividade terapêutica em doenças como a dermatite atópica, diminuindo a inflamação. Dentre seus mecanismos de ação utilizados, o elemol suprime níveis séricos de IgE, citocinas pró-inflamatórias e infiltração de células inflamatórias na derme (Wu *et al*, 2021; Nanjala *et al*, 2022).

Já o (*E*)-Cariofileno é um composto amplamente distribuído entre os óleos vegetais e possui propriedades acaricidas, inseticidas, repelentes, atrativas e antifúngicas (Da Silva *et al*, 2015; Rifeel *et al*, 2021). Já o Terpineno-4-ol é um monoterpeno, presente em várias plantas aromáticas e apresenta atividade antitumoral (Wu *et al*, 2012), também apresentou atividade antibacteriana em cepas de *Streptococcus agalactiae*, causando dano na estrutura bacteriana e levando a perda de material citoplasmático (Zhang *et al*, 2018).

A caracterização química dos OEs é importante não apenas para conhecer sua composição, mas também para rastrear suas possíveis atividades biológicas (Haro-González *et al*, 2021; Costa *et al*, 2022; Castellano; Ramos-Romero; Perona, 2022; Hussain *et al*, 2022). No presente estudo, o OEMT e seu composto majoritário quando

associados a AMP apresentou ação antimicrobiana em isolados resistentes oriundos dos dois ambientes investigados: aquático impactado e hospitalar, sendo os dados inéditos quando avaliados nos microrganismos resistentes do ambiente aquático impactado. Apel *et al* (2010), avaliaram a atividade antiinflamatória das folhas de *M. tenella*, e observaram que a composição química do seu OE continha β -cariofileno (25,1%), composto conhecido por apresentar características antimicrobianas.

O presente estudo avaliou a atividade antimicrobiana do OEMT isolado, bem como seu composto majoritário, o CNL, e estes associados com o AMP. Quando avaliados isoladamente (OEMT e CNL) não inibiram o crescimento bacteriano de nenhum dos isolados investigados. Esses dados revelam que a atividade antimicrobiana depende da composição química do óleo ou seu composto investigado, não das características de resistência do isolado. Quando analisado apenas o tratamento com o antibiótico AMP foi verificada uma CIM acima de 1024 ug/mL.

Quando investigada a atividade antimicrobiana de *M. tenella* nas espécies de *Enterobacter sp.* e *Shigella flexnerii*, esta apresentou resultados mais significativos. Schneider *et al* (2008), realizaram um estudo dos compostos voláteis do óleo de *M. tenella* e em sua composição os autores encontraram α -pineno (31,5%), β -pineno (19,2%) e 1,8-cineol (6,6%) e atividade antimicrobiana em bactérias Gram negativas (*Shigella flexnerii*) e Gram positivas (*Enterobacter sp.*), ambas relacionadas a infecções nosocomiais.

Em estudo de Antonello *et al* (2023), a espécie *M. oblongata*, outra representante da família das Myrtaceae, apresentou compostos como β -mirceno (13,99%) e silvestreno (11,28%), β -cariofileno (2,59%), α -amorfenos (3,82%), além de α e β -pineno (36,81% e 9,74%, respectivamente), como compostos majoritários, e demonstrou boa atividade antimicrobiana contra isolados de *Enterococcus faecalis*, *S. aureus*, *Bacillus subtilis* e *S. epidermidis*.

Diante dos resultados obtidos de CIM das bactérias, foi realizado teste de sinergismo do OEMT e do CNL. Ambos foram associados com o AMP, antibiótico ao qual todos os isolados apresentaram resistência. Das quatorze bactérias investigadas, oito, sendo elas duas (clínicas) e seis (ambientais) foram selecionadas para testes de modulação, estas Gram-positivas (*S. aureus*, *S. sciuri*, *S. epidermidis*, *S. schleiferi*, *S. haemolyticus*) e Gram-negativas (*K. pneumoniae*, *K. oxytoca*) que promovem infecções em humanos.

Os resultados demonstraram que apenas os isolados *K. oxytoca*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. schleiferi* e *S. aureus* obtiveram resultados de MOD, com redução do MIC diante do sinergismo entre o óleo e o antibiótico. Já quando avaliada a modulação do composto majoritário CNL em associação a AMP, a diminuição da carga bacteriana foi observada apenas nos isolados de *S. aureus*. Estes dados revelam que o maior sinergismo ocorreu entre o OEMT e o AMP. Possivelmente isto deve-se aos vários compostos bioativos presentes em sua composição química que podem ter contribuído com sua ação antibacteriana (De Albuquerque Siebra *et al*, 2014; Ferreira; Mendes-Costa, 2019; Rocha, 2023).

Segundo Cavalheiro *et al* (2022), a família Myrtaceae, possui vários representantes taxonômicos o que possibilita uma elevada diversidade em suas composições químicas, elevando e/ou diferenciando a atividade antimicrobiana de seus OE. Esta característica vem permitindo que OE's extraídos destas espécies sejam indicados como fonte de compostos bioativos por suas possíveis aplicações biotecnológicas. Dos Santos *et al* (2017), também destacam em seu trabalho que a associação de OE a antimicrobianos proporciona uma diminuição no crescimento bacteriano. Os autores citam alguns metabólitos secundários como propriedades bioativas como α -pineno, β -pineno e o limoneno.

Diversas biomoléculas de compostos naturais podem apresentar atividade antimicrobiana e quando analisados seus mecanismos de ação, observa-se que estes estão relacionados à natureza hidrofóbica de alguns componentes, interagindo com a membrana celular e afetando a cadeia respiratória e produtora de energia (Lucena *et al*, 2015).

Ademais, também podem possuir a capacidade de tornar a célula bacteriana mais permeável aos antibióticos, promovendo morte celular (Lucena *et al*, 2015), além de proporcionar interferência com os sistemas enzimáticos bacterianos. A utilização de extratos naturais em associação aos antimicrobianos também torna-se uma alternativa promissora, uma vez que diminuem os valores de MIC dos antibióticos, minimizando seus efeitos secundários e promovendo sinergismo, promovendo dessa forma, diminuição da dose necessária para a promoção do efeito terapêutico (Alves; Beatriz; Edinardo, 2014).

O ensaio de curva de crescimento bacteriano foi utilizado para compreender o crescimento dos microrganismos e a eficiência dos tratamentos realizados, bem como o comportamento bacteriano diante de estresse e novas condições ambientais (Roges

et al, 2022). Para realização deste ensaio foi utilizado OEMT, CNL e AMP, nas concentrações de MOD, $\frac{1}{2}$, MOD $\frac{1}{4}$ e MOD. Os resultados demonstraram que a inibição de crescimento na presença do OEMT em associação com o antibiótico ocorreu apenas nos isolados de *K. oxytoca* e *S. schleiferi*.

Nos demais esta inibição foi observada nas concentrações de MOD, porém, apresentaram variações de crescimento bacteriano nas concentrações de MOD, $\frac{1}{2}$, MOD $\frac{1}{4}$, tanto para concentrações dos tratamentos com óleo, quanto nas de tratamento com seu composto majoritário. Estes resultados demonstram que o OEMT associado com AMP, proporcionou boa atividade antimicrobiana em isolados multidroga-resistentes de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Destacando que houve sinergismo entre o OE e o antibiótico, corroborando com estudos que destacam o sinergismo dos compostos secundários presentes no óleo essenciais, com antimicrobianos (Borges; Conceição; Silveira, 2014; Santos *et al*, 2017; Cavalheiro *et al*, 2022).

Os isolados de *K. oxytoca* são bactérias que se apresentam como bastonetes Gram negativos, imóveis que representam perigo à saúde pública por serem organismos associados a infecções oportunistas resistentes a antibióticos, presentes em neonatos e adultos. Esses isolados normalmente são multirresistentes e causam infecções fatais em indivíduos imunocomprometidos com comorbidades. Também são descritos como causadores de colite, endocardite infecciosa, infecções comuns do trato urinário e respiratório (Green; Tran; Janda, 2009 ;Singh; Cariappa; Kaur, 2016; Neog *et al*, 2021).

Já os isolados de *S. schleiferi* são bactérias Gram positivas encontradas na microbiota cutânea e mucosa de seres humanos e animais; também estão associadas a infecções nosocomiais oportunistas resistentes, como: endocardite persistente relacionada ao marcapasso em pacientes, osteomielite e bacteremia em pé diabético de pacientes imunocomprometidos (Nguyen; Ahern; Train, 2020; Rojas-Marte *et al*, 2014).

Quando avaliado o teste de curva de morte bacteriana, foi possível perceber que o OEMT foi eficiente para combater infecções já estabelecidas em cepas de *K. oxytoca* em todas as concentrações de MOD, corroborando com os resultados obtidos nos testes de curva de crescimento. Já os demais isolados, apresentaram variações de crescimento diante das concentrações dos tratamentos, onde foi observado que *S. schleiferi* e *S. epidermidis*, demonstraram redução da carga bacteriana nas

concentrações de MOD e $\frac{1}{2}$ MOD. Porém, para MOD $\frac{1}{4}$, os resultados foram até maiores do que os observados no controle de crescimento, demonstrando que essa concentração não foi eficiente para diminuir infecções já estabelecidas.

Nos isolados de *S. aureus*, tratados com a modulação do OEMT e AMP, bem como, CNL e AMP, não foram verificadas diferenças entre nenhuma das concentrações testadas. Já para os resultados de *S. haemolyticus*, apenas as concentrações de MOD e $\frac{1}{2}$ MOD foram eficientes na diminuição da carga bacteriana. Em seu estudo, Quirino *et al* (2022), avaliou a atividade antimicrobiana do extrato de *Citrus bergamia*, em isolados clínicos de *A. baumannii*, *K. pneumoniae* e *S.aureus*, pode observar que os melhores resultados de diminuição de crescimento na cinética de morte microbiana, foram observados em isolados de Gram-negativos, onde os isolados *K. pneumoniae* com perfil MDR, obtiveram redução de crescimento nos primeiros 30 a 60 minutos de exposição ao tratamento.

Ademais, Stan *et al* (2021), avaliou o extrato de três espécies de *Acantholimon*, também demonstraram melhor atividade antimicrobiana em isolados Gram-negativo. Bem com Selestino Neta *et al* (2017), em seu estudo que também avaliou a atividade antimicrobiana do composto majoritário β -cariofileno e do OE de *Murraya paniculata*, também foi observado que o tempo de morte bacteriano para os isolados Gram-negativos nas primeiras 4 h de exposição aos tratamentos. Corroborando com os resultados obtidos neste trabalho para isolados Gram-negativos.

Os testes de toxicidade *in vivo* foram realizados com modelo de larvas de *T. molitor*, adaptado. Os resultados demonstraram que esse modelo animal tem grande potencial para ajudar no desenvolvimento de pesquisas relacionadas à atividade biológica de compostos naturais, como OE. Segundo Piatek; Sheehang e Kavanagh (2021), o uso de modelos animais invertebrados pode ser versátil para avaliar a atividade antimicrobiana e a toxicidade, estudar as respostas imunológicas e acelerar o desenvolvimento de novos antimicrobianos. Brai *et al* (2023), ainda acrescenta que modelos animais utilizando larvas de *T. molitor* são modelos novos de toxicidade, considerados baratos e convenientes para avaliar a segurança de medicamentos e a formação de metabólitos, reduzindo custos e uso de roedores.

O inseto *T. molitor* é membro da ordem Coleoptera e família Tenebrionidae, e no Brasil, estão disponíveis em lojas especializadas, por serem utilizadas para atividades pesqueiras e para alimentação de animais domésticos. Ele também pode ser produzido em larga escala devido ao seu curto ciclo de desenvolvimento, fácil

cultivo e manutenção. Além disso, o modelo de invertebrado de *T. molitor*, se assemelha ao de *G. mellonella*, pois ambos possuem uma hemolinfa, que se assemelha com o sistema imunológico inato de muitos seres vivos, incluindo humanos, além de terem um tempo de desenvolvimento mais curto e serem analisados em um tempo mais curto que os modelos animais tradicionais (Andrade-Oliveira *et al*, 2023).

Os resultados dos tratamentos aplicados para as infecções bacterianas causadas por isolados resistentes de *S. schleiferi*, *S. aureus* e *S. haemolyticus*, demonstraram que as concentrações de MOD do OEMT e do CNL associados com a AMP, foram capazes de reduzir a mortalidade das larvas nas primeiras 24 horas após a inoculação das cepas, mesmo que essa mortalidade não fosse menor que as larvas do controle positivo. Santo *et al* (2021), destacaram em seu estudo que o OE de *Myrcia guianensis*, apresentava composição química de (E-) cariofileno (37,43%), terpinoleno (14,82%) e β -bisaboleno (6,07%) e reduziu o número de isolados bacterianos de *S. aureus* na hemolinfa de *T. molitor*. Ademais, um sinergismo entre o EO de *M. guianensis* e ciprofloxacina foi observado, destacando que em modelo de *T. molitor*, foi possível observar uma diminuição de carga bacteriana nas primeiras 24 h da infecção, se comparado com o grupo controle.

Ademais, um dos fatores que pode estar relacionado com a sobrevivência dos grupos infectados que não receberam tratamento, está relacionado com o sistema imunológico do próprio inseto, que pode ter se adaptado e conseguido reagir a infecção bacteriana que havia se instalado, independente de estar sendo tratado ou não. Diante disso, o estudo de Keshavarz *et al*, (2019) destacou que o *TmDorX2*, que é um membro da família de fatores de transcrição do fator nuclear kappa B (NF- κ B), componente crítico a jusante da via Toll, responsável por regular a expressão de Peptídeos Antimicrobianos (AMPs) contra a invasão de patógenos, é considerado um regulador positivo contra infecções bacterianas de *E. coli*, *S. aureus* e *C. albicans* no corpo gorduroso, hemócitos, intestino, bem como nos túbulos de Malpighi de larvas jovens de *T. molitor*.

Ademais, Keshavarz, Zanch e Rolff, (2023) destacam que esses insetos possuem AMPs, como moléculas conservadas, que combatem frequentemente infecções patogênicas, tanto sinergicamente quanto individualmente, acrescentando também que a mortalidade de *T. molitor* está associada à carga bacteriana nos tecidos do hospedeiro.

Conclusão

Os resultados observados no presente estudo foram importantes para elucidar a atividade antimicrobiana do OEMT, e seu composto majoritário CNL em associação com o antibiótico AMP em bactérias resistentes, demonstrando que o óleo sozinho, bem como seu composto majoritário, o CNL, não possuem atividade antibacteriana. Os ensaios de MOD para o OEMT e CNL, observou o efeito sinérgico entre os composto e a AMP, reduzindo a concentração necessária do antibiótico para gerar uma atividade antibacteriana. Nos ensaios *in vivo*, os tratamentos de MOD para o OEMT e CNL associados com AMP, estabilizaram as infecções em seus primeiros dias de desenvolvimento, por meio de testes em modelos de *T. molitor*. Desta forma, os tratamentos utilizando as concentrações obtidas de MOD representam dados importantes para a pesquisa de novos compostos naturais para auxiliar o desenvolvimento de novos medicamentos antimicrobianos, sendo essencial para o combate de isolados bacterianos patogênicos e resistentes, que causam infecções agressivas em humanos.

Agradecimentos

Agradecimento aos laboratórios parceiros, que foram cruciais para o desenvolvimento deste trabalho, aos colaboradores, e aos órgãos de fomento.

Referências

- ACHARYA, B. ; CHAIJAROENKUL, W.; NA-BANGCHANG, K. Therapeutic Potential and Pharmacological Activities of β -eudesmol. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 97, n. 4, p. 984-996, 2021.
- ALMEIDA, M. L. et al. Resistência bacteriana: uma ameaça global. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 6, n. 5, p. 19741-19748, 2023.
- ALVES, E. F.; SANTOS, B. S.; MATIAS, E. F. F.. Avaliação da atividade antibacteriana e modulatória da fração hexânica do extrato hexânico de *Cordia verbenacea* DC. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, v. 2, n. 5, 2014.
- ANTONELO, F. A. et al. Bioactive compounds derived from Brazilian Myrtaceae

- species: Chemical composition and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 48, p. 102629, 2023.
- APEL, M. A. et al. Anti-inflammatory activity of essential oil from leaves of *Myrciaria tenella* and *Calycorectes sellowianus*. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, n. 4, p. 433-438, 2010.
- ARGENTA, S. C. et al. Plantas medicinais: cultura popular versus ciência. **Vivências**, v. 7, n. 12, p. 51-60, 2011.
- BARROS, G. C. et al. Composição química, atividade antibacteriana e avaliação da toxicidade aguda de *Vetiveria zizanioides* L. Nash (Poaceae). **Latin Am. J. Pharm**, v. 28, p. 531-537, 2009.
- BASTOS, G. M. et al. In vitro determination of the antimicrobial potential of homemade preparations based on medicinal plants used to treat infectious diseases. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n. 1, 2011.
- BORGES, L. L. ; CONCEIÇÃO, E. C. ; SILVEIRA, D. Active compounds and medicinal properties of *Myrciaria* genus. *Food chemistry*, v. 153, p. 224-233, 2014.
- BRAI, A. et al. *Tenebrio molitor* as a Simple and Cheap Preclinical Pharmacokinetic and Toxicity Model. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 3, p. 2296, 2023.
- CAIXETA, M. A. et al. Estudo da formação de biofilmes por *Pseudomonas aeruginosa*. **Enciclopédia Biosfera**, v. 16, n. 29, 2019.
- CAVALHEIRO, L. M. S. **Composição química, atividade antioxidante e antimicrobiana dos OE das folhas frescas e secas de *Myrceugenia euosma* (O. Berg) D. Legrand (Myrtaceae)**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
- CORREA, L. T. et al. Atividade antimicrobiana do OE de *Melaleuca* e sua incorporação em um creme mucocutâneo. **Revista Fitos**, v. 14, n. 01, p. 26-37, 2020.
- COSTA, W. K. et al. First report on the chemical composition of leaf essential oil of *Myrciaria pilosa* Sobral & Couto and its antimicrobial and antivirulence activities against *Staphylococcus aureus*. **Natural Product Research**, v. 36, n. 9, p. 2429-2433, 2022.
- DA SILVA, R. C. S. et al. (E)-caryophyllene and α -humulene: *Aedes aegypti* oviposition deterrents elucidated by gas chromatography-electrophysiological assay of *Commiphora leptophloeos* leaf oil. **PLoS One**, v. 10, n. 12, p. e0144586, 2015.
- DE ALBUQUERQUE, U. P. et al. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. **Journal of ethnopharmacology**, v.

114, n. 3, p. 325-354, 2007.

DE ALMEIDA, J. C.; DE ALMEIDA, P. P.; GHERARDI, S. R. M. Potencial antimicrobiano de OE: uma revisão de literatura de 2005 a 2018. **Nutr. Time**, v. 17, n. 01, p. 8623-8633, 2020.

DE ARAÚJO, L. C. A. et al. Effects of Antibiotics on Impacted Aquatic Environment Microorganisms. **Emerging Contaminants**, 2020.

DE ARAÚJO, L. C. A. et al. In vitro evaluation of mercury (Hg²⁺) effects on biofilm formation by clinical and environmental isolates of *Klebsiella pneumoniae*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 169, p. 669-677, 2019.

DE AZEVEDO, B. R et al. Virulence Factors and Biofilm Formation in Vancomycin Resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* Isolates in Brazil. **Advances in Microbiology**, v. 13, n. 6, p. 299-314, 2023.

DE CARVALHO, V. M et al. Determination of the phytochemical composition and antioxidant potential of *Eugenia copacabanensis* and *Myrciaria tenella* Leaves (Myrtaceae) using a *Saccharomyces cerevisiae* Model. **Chemistry & Biodiversity**, v. 18, n. 6, p. e2100054, 2021.

DE SÁ-FILHO, G. F. et al. Plantas medicinais utilizadas na caatinga brasileira e o potencial terapêutico dos metabólitos secundários: uma revisão. **Research, society and development**, v. 10, n. 13, p. e140101321096-e140101321096, 2021.

DOS SANTOS, V. S et al. In vitro modulation of the antibiotic activity of essential oil from fruits of *Piper tuberculatum* Jacq. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 22, n. 1, p. 1-10, 2017.

GAMA, D. C. et al. O cambuí (*Myrciaria tenella* (DC.) O. BERG; MYRTACEAE): extrativismo e geração de renda em Ribeira do Pombal-Bahia. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 12, n. 1, 2017.

GONÇALVES, G. M. et al. Essential oil of *Myrciaria tenella* (DC.) O. Berg: effects of distillation time on its chemical composition and evaluation of its anti-inflammatory and antinociceptive effects. **Journal of Essential Oil Research**, v. 33, n. 4, p. 394-409, 2021.

GONÇALVES, G. M. et al. OE de *Myrciaria tenella* (DC.) O. Berg: efeitos do tempo de destilação na sua composição química e avaliação dos seus efeitos antiinflamatórios e antinociceptivos. **Journal of Essential Oil Research**, v. 4, pág. 394-409, 2021.

GREEN, N. M.; TRAN, R. ; JANDA, J. M. *Klebsiella* and gastrointestinal syndromes with particular emphasis on *Klebsiella oxytoca* antibiotic-associated colitis. **Clinical**

Microbiology Newsletter, v. 31, n. 15, p. 111-116, 2009.

HALL, M. C. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana dos OE Nerol e Melaleuca puros e microencapsulados. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 3, p. 5331-5345, 2020.

IDROVO, D. F. C. Mecanismos de resistência bacteriana contra ceftazidima avibactam. Revisão sistemática. **Vive Revista de Salud**, v. 5, n. 13, p. 257-272, 2022.

KESHAVARZ, M. ; ZANCHI, C. ; ROLFF, J. The effect of combined knockdowns of Attacins on survival and bacterial load in *Tenebrio molitor*. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 1140627, 2023.

KESHAVARZ, M. et al. Tm DorX2 positively regulates antimicrobial peptides in *Tenebrio molitor* gut, fat body, and hemocytes in response to bacterial and fungal infection. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 16878, 2019.

LUCENA, B. F. F et al. Evaluation of antibacterial activity of aminoglycosides and modulating the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. **Acta Biológica Colombiana**, v. 20, n. 1, p. 39-45, 2015.

MA, E. L. et al. β -Eudesmol suppresses tumour growth through inhibition of tumour neovascularisation and tumour cell proliferation. **Journal of Asian natural products research**, v. 10, n. 2, p. 159-167, 2008.

MONTEIRO, S. S. et al. Leaf essential oil from *Eugenia luschnathiana* and *Myrciaria tenella* (Myrtaceae) from two different accesses in Southeastern Brazil. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 19, n. 7, p. 1675-1683, 2016.

MOO, C. L. et al. Antimicrobial activity and mode of action of 1, 8-cineol against carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 20824, 2021.

NANJALA, C. et al. Uma revisão sobre etnobotânica, fitoquímica e farmacologia do gênero *Didymocarpus* wall.(Gesneriaceae). **Revista de Etnofarmacologia** , v. 295, p. 115404, 2022.

NEOG, N. et al. *Klebsiella oxytoca* and emerging nosocomial infections. **Current microbiology**, v. 78, n. 4, p. 1115-1123, 2021.

NGUYEN, M. T. T.; AHERN, N. R.; TRAIN, M. K. *Staphylococcus schleiferi* diabetic foot osteomyelitis and bacteraemia in an immunocompromised host. **BMJ Case Reports CP**, v. 13, n. 11, p. e238302, 2020.

PIATEK, M. ; SHEEHAN, G. ; KAVANAGH, K. *Galleria mellonella*: the versatile host for drug discovery, in vivo toxicity testing and characterising host-pathogen

- interactions. **Antibiotics**, v. 10, n. 12, p. 1545, 2021.
- RIBEIRO, A. R. C. et al. Myrciaria tenella (DC.) O. Berg (Myrtaceae) leaves as a source of antioxidant compounds. **Antioxidants**, v. 8, n. 8, p. 310, 2019.
- RIFFEL, A. et al. Exposure to sugarcane borer-induced plant volatile (E)-caryophyllene enhances parasitoid recruitment. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 169, n. 10, p. 937-946, 2021.
- ROGERS, A. T. et al. Bacterial Growth Curve Measurements with a Multimode Microplate Reader. **Bio-protocol**, v. 12, n. 9, p. e4410-e4410, 2022.
- ROJAS-MARTE, G. et al. Pacemaker-Associated Infective Endocarditis Caused by Staphylococcus schleiferi: A Case Report and Review of the Literature. **Infectious Diseases in Clinical Practice**, v. 22, n. 5, p. 302-304, 2014.
- ROQUE, A. A.; ROCHA, R. M.; LOIOLA, M. I. B. Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (nordeste do Brasil). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, p. 31-42, 2010.
- RUI, Y. et al. Eucalyptol prevents bleomycin-induced pulmonary fibrosis and M2 macrophage polarization. **European Journal of Pharmacology**, v. 931, p. 175184, 2022.
- SCHNEIDER, N. FZ et al. Estudo dos compostos voláteis e atividade antimicrobiana da Myrciaria tenella (cambuí). **Revista Brasileira Farmácia**, v. 89, p. 131-133, 2008.
- SILVA M. V. S et al. Evaluation of leaves essential oil of myrcia guianensis (aubl.) dc. from legal amazon: chemical, antibacterial and toxicity analysis | International Journal of Development Research (IJDR). **International Journal of Development Research**, v. 11, p. 1-12, 2021.
- SINGH, L. ; CARIAPPA, M. P.; KAUR, M. Klebsiella oxytoca: An emerging pathogen?. **Medical journal armed forces india**, v. 72, p. S59-S61, 2016.
- SPEZIALE, P. ; GEOGHEGAN, J. A. Biofilm formation by staphylococci and streptococci: structural, functional, and regulatory aspects and implications for pathogenesis. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 5, p. 31, 2015.
- TRENTIN, D. S. et al. Potential of medicinal plants from the Brazilian semi-arid region (Caatinga) against Staphylococcus epidermidis planktonic and biofilm lifestyles. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, n. 1, p. 327-335, 2011.
- TRINDADE, J. K. M. et al. Perfil químico e atividade antimicrobiana do OE de

- variedades de *Psidium guajava* L.(Myrtaceae). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, p. e211101018794-e211101018794, 2021.
- WORKING, A. C. G. D. A NEW GRAND BARGAIN TO IMPROVE THE ANTIMICROBIAL MARKET FOR HUMAN HEALTH, 2023.
- WU, C. S. et al. Terpinen-4-ol induces apoptosis in human nonsmall cell lung cancer in vitro and in vivo. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, 2012.
- WU, S. et al. A comprehensive review of natural products against atopic dermatitis: Flavonoids, alkaloids, terpenes, glycosides and other compounds. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 140, p. 111741, 2021.
- YAYLI, N. et al. Composition and antimicrobial activity of essential oils from *Centaurea sessilis* and *Centaurea armena*. **Phytochemistry**, v. 66, n. 14, p. 1741-1745, 2005.
- YIN, C. et al. Eucalyptol alleviates inflammation and pain responses in a mouse model of gout arthritis. **British journal of pharmacology**, v. 177, n. 9, p. 2042-2057, 2020.
- ZHANG, Y. et al. The antibacterial mechanism of terpinen-4-ol against *Streptococcus agalactiae*. **Current microbiology**, v. 75, p. 1214-1220, 2018.
- HAN, N. R. et al. β -eudesmol suppresses allergic reactions via inhibiting mast cell degranulation. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 44, n. 2, p. 257-265, 2017.
- COSTA, V. et al. Anti-Inflammatory Activity of Olive Oil Polyphenols—The Role of Oleacein and Its Metabolites. **Biomedicines**, v. 10, n. 11, p. 2990, 2022.
- CASTELLANO, J. M.; RAMOS-ROMERO, Sara; PERONA, J. S. Oleonic acid: Extraction, characterization and biological activity. **Nutrients**, v. 14, n. 3, p. 623, 2022.
- DE ALBUQUERQUE SIEBRA, A. L. et al. Actividad antimicrobiana y caracterización fitoquímica de los extractos hidroalcohólicos de *Passiflora cincinnata* Mast.(maracujá-do-mato). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 19, n. 4, p. 319-328, 2014.
- ROCHA, E. B. S. Prospecção fitoquímica de *Combretum* spp. com atividade anti-*Staphylococcus aureus*. 2023.
- FERREIRA, I. V.; MENDES-COSTA, M. C. Atividade antimicrobiana de extratos etanólicos de *Banisteriopsis anisandra* (Malpighiaceae) e interações medicamentosas. **RSBO**, v. 16, n. 2, p. 94-100, 2019.
- HARO-GONZÁLEZ, J. N. et al. Clove essential oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, chemical composition, food applications, and essential bioactivity for human health. **Molecules**, v. 26, n. 21, p. 6387, 2021.

QUIRINO, A. *et al.* Citrus bergamia: Kinetics of Antimicrobial Activity on Clinical Isolates. **Antibiotics**, v. 11, n. 3, p. 361, 2022.

STAN, D. *et al.* Natural compounds with antimicrobial and antiviral effect and nanocarriers used for their transportation. *Frontiers in Pharmacology*, v. 12, p. 723233, 2021.

SELESTINO NETA, M. C. *et al.* Effects of β -caryophyllene and *Murraya paniculata* essential oil in the murine hepatoma cells and in the bacteria and fungi 24-h time-kill curve studies. **Pharmaceutical biology**, v. 55, n. 1, p. 190-197, 2017.

5 CONCLUSÕES

- O estudo verificou que existem alternativas atuais para o enfrentamento da RAM e que a escolha de cada método dependerá de fatores associados à pesquisa e as condições e experiências de cada grupo.
- O estudo revelou que, para OEMT e seu composto majoritário CNL, apresentarem atividade antimicrobiana é necessário associar ao antibiótico.
- Os testes *in vivo*, demonstraram que os tratamentos de MOD do OEMT foram capazes de promover sobrevivência em larvas de *T. molitor*, nas primeiras 24h da infecção.

6 SÚMULA CURRICULAR

- Participação como avaliadora no evento “VIII Semana do Meio Ambiente - SEMAMB UFPE” - avaliando nas Modalidade Submissão de Resumos simples e Área Temática: Educação ambiental e Etnobiologia. Recife, 18/10/ 2022.
- Participação como avaliadora de trabalhos no “III Congresso Brasileiro de Parasitologia Humana On-line” realizado no período de 06 a 09 de fevereiro de 2023.
- Apresentação de trabalho intitulado: ‘Atividade antimicrobiana de nanopartículas de prata sobre isolados de Vibrio spp. obtidos de ambientes aquáticos impactados do estado de Pernambuco.’ Evento “I Encontro do PPGCB: A ciência como uma ferramenta da AGENDA 2030 para o desenvolvimento sustentável”, 20 a 21 de setembro de 2022.
- Publicação de capítulo de livro “LIPOSSOMAS COMO CARREADORES DE FÁRMACOS”, publicado no livro "BIOMATERIAIS - Propriedades e Aplicações", fruto dos trabalhos enviados para o Congresso BIOMAT22.
Link:<https://even3.blob.core.windows.net/filesstreaming/260813/Propriedades eAplicaes-BIOMAT22.pdf>
- Publicação de capítulo de livro “APLICAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS CONTRA BACTÉRIAS MULTIDROGA RESISTENTES E FORMADORAS DE BIOFILME”, publicado no livro "BIOMATERIAIS - Propriedades e Aplicações", fruto dos trabalhos enviados para o Congresso BIOMAT22.Link:<https://even3.blob.core.windows.net/filesstreaming/260813/PropriedadeseAplicaes-BIOMAT22.pdf>
- Participação em ação do dia da Árvore: Caminhada Ecológica pelo Cavouco.
- Participação na Semana de Ciência e Tecnologia PPGCB/UFPE: Oficina Mundo Microbiano.
- Apresentação de trabalho intitulado de “LIPOSSOMAS COMO CARREADORES DE FÁRMACOS” no Congresso de Ciências e Tecnologia dos Biomaterias -BIOMAT22.
- Capítulo de livro intitulado de “SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA E SEU POTENCIAL ANTIMICROBIANO -UMA REVISÃO, aceito para publicação no VII Congresso Internacional de Saúde Única e III Simpósio Internacional Pluriprofissional de Saúde.

- Capítulo de livro intitulado de “**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO DE PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS COM OCORRÊNCIA NO BRASIL: UMA REVISÃO DA LITERATURA**” aceito para publicação no **VII Congresso Internacional de Saúde única e III Simpósio Internacional Pluriprofissional de Saúde**.
- Apresentação de resumo intitulado de “**UTILIZAÇÃO DE ACETATO DE ABIRATERONA COMO AUXILIAR NO TRATAMENTO DO CÂNCER DE PRÓSTATA METASTÁTICO RESISTENTE**”, no **VII Congresso Internacional de Saúde única e III Simpósio Internacional Pluriprofissional de Saúde**.
- Capítulo de livro intitulado de “**COMPREENDENDO OS MECANISMOS DE VIRULÊNCIA, RESISTÊNCIA E PATOGENICIDADE DE Staphylococcus aureus: DESAFIOS NO TRATAMENTO DE INFECÇÕES CAUSADAS POR UMA BACTÉRIA PODEROSA**”, aceito para publicação no **VII Congresso Internacional de Saúde única e III Simpósio Internacional Pluriprofissional de Saúde**.
- **Capítulo de livro intitulado de “ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIBIOFILME DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS DO GÊNERO EUGENIA EM BACTERIAS MULTIRRESISTENTES**”, aceito para publicação no **VII Congresso Internacional de Saúde única e III Simpósio Internacional Pluriprofissional de Saúde**.
- **Capítulo de livro intitulado de “PERFIL EPIDEMIOLÓGICO E MOLECULAR DOS MECANISMOS DE RESISTÊNCIA E VIRULÊNCIA DE KLEBSIELLA PNEUMONIAE**”, aceito para publicação no **VII Congresso Internacional de Saúde única e III Simpósio Internacional Pluriprofissional de Saúde**.
- Capítulo de livro intitulado de “**AVALIAÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO OBTIDO DA MISTURA DE SEMENTES E VAGENS de *Caesalpinia echinata* FRENTE AO TESTE Allium cepa**”, aceito para publicação no **VII Congresso Internacional de Saúde única e III Simpósio Internacional Pluriprofissional de Saúde**.
- **Capítulo de livro intitulado de “PLANTAS MEDICINAIS COMO FERRAMENTA NO COMBATE À RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA E O BIOFILME BACTERIANO**”, aceito para publicação no **VII Congresso Internacional de Saúde única e III Simpósio Internacional Pluriprofissional de Saúde**.

- Participação na “6ª Escola de Pesquisadores” -Campos USP São Carlos.

7 REFERÊNCIAS

Agência Estadual de Meio Ambiente, 2021. Disponível em : http://www2.cprh.pe.gov.br/wp-content/uploads/2021/02/quali_agua_2019.pdf

Agência Pernambucana de Águas e Clima (APAC), 2019.: <https://www.apac.pe.gov.br/bacias-hidrograficas-rio-capibaribe/162-bacias-hidrograficas-rio-capibaribe/193-bacia-do-rio-capibaribe>

ANDRADE, L. C. et al. Lago Guaíba: uma análise histórico-cultural da poluição hídrica em Porto Alegre, RS, Brasil. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 24, p. 229-237, 2019.

ANYANWU, M. U.; et al. Occurrence and characteristics of mobile colistin resistance (mcr) gene-containing isolates from the environment: a review. **International journal of environmental research and public health**, v. 17, n. 3, p. 1028, 2020.

APEL, M. A. et al. Anti-inflammatory activity of essential oil from leaves of *Myrciaria tenella* and *Calycorectes sellowianus*. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, n. 4, p. 433-438, 2010.

ARZANLOU, M. et al. Intrinsic, adaptive and acquired antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria. **Essays in biochemistry**, v. 61, n. 1, p. 49-59, 2017.

BALAFOUTI, A. É.; PIPPA, N.; PISPAS, S.. Lipossomas responsivos a estímulos como nanocarreadores inteligentes para aplicações de administração de medicamentos. **Novas plataformas para aplicações de distribuição de medicamentos** , p. 177, 2022.

BALASEGARAM, M. ; PIDDOCK, L. JV. The Global Antibiotic Research and Development Partnership (GARDP) not-for-profit model of antibiotic development. **ACS Infectious Diseases**, v. 6, n. 6, p. 1295-1298, 2020.

BÁRTA, R. L. et al. Qualidade da água para consumo humano no Brasil: revisão integrativa da literatura. **Vigil Sanit Debate, Rio de Janeiro**, v. 9, n. 4, p. 74-85, 2021.

BASSO, M. E. al et al. Prevalência de infecções bacterianas em pacientes internados em uma unidade de terapia intensiva (UTI). **RBAC**, v. 48, n. 4, p. 383-8, 2016.

BHATTACHARYA, S. P. et al. Quorum sensing inhibition and antibiofilm action of triterpenoids: An updated insight. **Fitoterapia**, p. 105508, 2023.

BINH, V. N. et al. Antibiotics in the aquatic environment of Vietnam: Sources, concentrations, risk and control strategy. **Chemosphere**, v. 197, pág. 438-450, 2018.

BORGES, L. L., et al. Active compounds and medicinal properties of Myrciaria genus. **Food chemistry**, v. 153, p. 224-233, 2014.

BOURHANE, Z. et al. Microbial diversity alteration reveals biomarkers of contamination in soil-river-lake continuum. **Journal of Hazardous Materials**, v. 421, p. 126789, 2022.

BUSATO, N. V. et al. Estratégias de modelagem da extração de OE por hidrodestilação e destilação a vapor. **Ciência Rural**, v. 44, p. 1574-1582, 2014.

CABRAL, J. J. S. P. et al. Abordagem multidisciplinar no processo de início de revitalização de três riachos da bacia do rio Capibaribe. **XXIII Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos, ABRH, Foz do Iguaçu**, 2019. pp. 1-10.

CAI, Z. M et al. 1, 8-Cineole: A review of source, biological activities, and application. **Journal of Asian natural products research**, v. 23, n. 10, p. 938-954, 2021.

CAIXETA, M. A. et al. Estudo da formação de biofilmes por Pseudomonas aeruginosa. **Enciclopédia Biosfera**, v. 16, n. 29, 2019.

CAMARGO, G. F. M. et al. Plantas Medicinais e Alimentícias para Tratamento de Doenças Gastrointestinais: Estudo de Caso. **Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 26, n. 3, p. 261-269, 2022.

CAMPOS, P. E. R. et al. Inventário da organização social do extrativismo do cambuí (Myrciaria spp.) na caatinga. **OBSERVATÓRIO DE LA ECONOMÍA LATINOAMERICANA**, v. 21, n. 8, p. 9231-9251, 2023.

CDC (Geórgia). U.s. Department Of Health And Human Services. Antibiotic Resistance Threats in the United States. Atlanta: Cdc, 2019. Disponível em: www.cdc.gov/DrugResistance/Biggest-Threats.html. Acesso em: 02 nov. 2020.

CHEN, J. et al. Antibióticos e segurança alimentar na aquicultura. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 43, pág. 11908-11919, 2020.

CHRISTAKI, E. et al. Antimicrobial resistance in bacteria: mechanisms, evolution, and persistence. **Journal of molecular evolution**, v. 88, p. 26-40, 2020.

COLETTI, T. Ninguém diga “desta água não beberei”: produção agropecuária e contaminação hídrica no Oeste Catarinense, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 38, p. PT165421, 2022.

COLETTI, T. Ninguém diga “desta água não beberei”: produção agropecuária e contaminação hídrica no Oeste Catarinense, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 38, p. PT165421, 2022.

COSTA, A. L. P.; et al. Modelagem matemática de infecções bacterianas causadas

por patógenos resistentes: uma revisão sistemática da dinâmica de transmissão e seus determinantes em populações humanas. **Revista Arquivos Científicos (IMMES)**, v. 3, n. 1, p. 35-44, 2020.

DA COSTA, A. L. P.; JUNIOR, A. C. S. S. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017.

DA SILVA NETO, I. F. et al. Investigação das Atividades Farmacológicas de Plantas Medicinais Comercializadas em Juazeiro do Norte, CE: uma Revisão de Literatura. **Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 25, n. 5-esp., p. 758-767, 2021.

DA SILVA, A. V. R. et al. Disseminação de bactérias por formigas em ambiente hospitalar de Guanambi-BA. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 9, p. 68822-68841, 2020.

DA SILVA, D. V. S; CRUZ, C. B. M. Tipologias de Caatinga: uma revisão em apoio a mapeamentos através de sensoriamento remoto orbital e GEOBIA. **Revista do Departamento de Geografia**, v. 35, p. 113-120, 2018.

DAUBIN, V.; SZÖLLŐSI, G. J. Horizontal gene transfer and the history of life. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 8, n. 4, p. a018036, 2016.

DE ALBUQUERQUE, U. P.; et al. Caatinga revisited: ecology and conservation of an important seasonal dry forest. **The Scientific World Journal**, v. 2012, 2012.

DE ALMEIDA, J. C. et al. Potencial antimicrobiano de OE: uma revisão de literatura de 2005 a 2018. **Nutr. Time**, v. 17, n. 01, p. 8623-8633, 2020.

DE ARAÚJO NETO, P. P. et al. Resistência bacteriana consecutiva do uso indiscriminado de antibióticos: revisão integrativa. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 27, n. 5, p. 3320-3330, 2023.

DE CARVALHO MARTINS, V. et al. Determination of the phytochemical composition and antioxidant potential of *Eugenia copacabanensis* and *Myrciaria tenella* Leaves (Myrtaceae) using a *Saccharomyces cerevisiae* Model. **Chemistry & Biodiversity**, v. 18, n. 6, p. e2100054, 2021.

DE FREITAS, J. S; DIAS, F. R.; DE OLIVEIRA, H. G. A. Resistência bacteriana aos antibióticos. **Revista JRG de Estudos Acadêmicos**, v. 5, n. 10, p. 281-293, 2022.

DE LIMA ARAÚJO, E.; et al. Dynamics of Brazilian Caatinga-A review concerning the plants, environment and people. **Functional Ecosystems and communities**, v. 1, n. 1, p. 15-28, 2007.

DE MELO ROCHA, M. H.; DE OLIVEIRA, N. S. M. Desafios do Turismo pedagógico no Parque Nacional do Vale do Catimbau (PE). **Revista Brasileira de Ecoturismo (RBEcotur)**, v. 15, n. 1, 2022.

DE MOURA, D. F.; et al. Nerolidol: Fitoconstituente de OE de plantas da caatinga. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 12, p. 33402-33416, 2019.

DE SÁ-FILHO, G. F. et al. Plantas medicinais utilizadas na caatinga brasileira e o potencial terapêutico dos metabólitos secundários: uma revisão. **Research, society and development**, v. 10, n. 13, p. e140101321096-e140101321096, 2021.

DE SOUSA MACEDO, W. et al. Análise do componente arbóreo em uma área de ecótono Cerrado-Caatinga no sul do Piauí, Brasil. **Scientia Plena**, v. 15, n. 1, 2019.

DE SOUZA, G. D. et al. Prata: breve histórico, propriedades e aplicações. **Educación química**, v. 24, n. 1, p. 14-16, 2013.

DE SOUZA, T. A. A.; et al. Uso popular de plantas medicinais no estado de Pernambuco: uma revisão integrativa. **Revista Boaciencia. Saúde e Meio Ambiente**, v. 2, n. 2, p. 92-110, 2022.

DELLAMATRICE, P. M.; MONTEIRO, R. TR. Principais aspectos da poluição de rios brasileiros por pesticidas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, p. 1296-1301, 2014.

DEUSENBERY, C. et al. Recent innovations in bacterial infection detection and treatment. **ACS Infectious Diseases**, v. 7, n. 4, p. 695-720, 2021.

DO RÊGO, A. T. A. et al. Potencial de contaminação hídrica por necrochorume na cidade de Mossoró-RN. **Brazilian Geographical**.

DOS REIS, H. S. et al. Plantas medicinais da caatinga: uma revisão integrativa dos saberes etnobotânicos no semiárido nordestino. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 27, n. 2, pág. 874-900, 2023.

DUTRA, L. L. B. et al. CONTROLE DE INFECÇÃO NOSOCOMIAL UMA VISÃO PROFISSIONAL AVALIANDO AS BACTÉRIAS MAIS FREQUENTES. **REVISTA TRANSDISCIPLINAR UNIVERSO DA SAÚDE**, v. 2, n. 2, 2023.

EMILIANO, S. A. ; BALLIANO, T. L. Prospecção de artigos e patentes sobre plantas medicinais presentes na caatinga brasileira. **Cadernos de Prospecção**, v. 12, n. 3, p. 615-615, 2019.

FERREIRA, J. V.; FABRICANTE, J. R.; SIQUEIRA-FILHO, J. A. Checklist preliminar de Bromeliaceae do Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco, Brasil. **Natureza on line**, v. 13, n. 2, p. 92-97, 2015.

FERREIRA, M. A. et al. A segurança do paciente e os impactos da resistência bacteriana na atenção hospitalar. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 23, n. 7, p. e13462-e13462, 2023.

FREIRES, M. S.; JUNIOR, O. M. R. Resistência bacteriana pelo uso indiscriminado da azitromicina frente a Covid-19: uma revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 1, p. e31611125035-e31611125035, 2022.

GHIASIAN, M. Microbial biofilms: Beneficial applications for sustainable agriculture. In: **New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering**. Elsevier, 2020. p. 145-155.

GUIMARÃES, D. O.; et al. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, p. 667-679, 2010.

HUEMER, M. et al. Antibiotic resistance and persistence—Implications for human health and treatment perspectives. **EMBO reports**, v. 21, n. 12, p. e51034, 2020.

HUTCHINGS, M. I.; et al. Antibiotics: past, present and future. **Current opinion in microbiology**, v. 51, p. 72-80, 2019.

IBRAHIM, S. et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* as an emerging concern in hospitals. **Molecular biology reports**, v. 48, n. 10, p. 6987-6998, 2021.

JAIN, A. S. et al. Bionanofactories for green synthesis of silver nanoparticles: Toward antimicrobial applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 21, p. 11993, 2021. **Journal: Geosciences and Humanities research medium**, Ituiutaba, v. 12, n. 1, p. 94-108, 2021.

JUERGENS, L. J.; WORTH, H.; JUERGENS, U. R. New perspectives for mucolytic, anti-inflammatory and adjunctive therapy with 1, 8-cineole in COPD and asthma: review on the new therapeutic approach. **Advances in therapy**, v. 37, n. 5, p. 1737-1753, 2020.

KARYGIANNI, L. et al. Biofilm matrixome: extracellular components in structured microbial communities. **Trends in Microbiology**, v. 28, n. 8, p. 668-681, 2020.

LEAL, I. R. **Ecologia e conservação da Caatinga**. Editora Universitária UFPE, 2003.

LIMA, V. C. C. et al. A Importância do Controle das Infecções Hospitalares para Minimizar a Resistência Bacteriana. **Epitaya E-books**, v. 1, n. 20, p. 66-99, 2022.

MACEDO, A. J.; ABRAHAM, W. R. Can infectious biofilm be controlled by blocking bacterial communication?. **Medicinal Chemistry**, v. 5, n. 6, p. 517-528, 2009.

MACHADO, S. M. O. **Avaliação do efeito antimicrobiano do surfactante cloreto de benzalcônio no controle da formação de biofilmes indesejáveis**. 2005. Tese de Doutorado.

MAGALHÃES, G. R. A. et al. Produção de L-Asparaginase e diversidade de fungos endofíticos de *Mandevilla catimbauensis* (Apocynaceae) do Parque Nacional do Vale do Catimbau. 2019.

MAYORGA-RAMOS, A. et al. CRISPR-Cas-Based Antimicrobials: Design, Challenges, and Bacterial Mechanisms of Resistance. **ACS Infectious Diseases**, 2023.

MEIADO, M. V. et al. Diaspore of the caatinga: a review. **Flora of the Caatingas of the São Francisco River: Natural History and Conservation**. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio Editorial, p. 306-365, 2012.

MESQUITA, M. O. M. de et al. Potencial antimicrobiano de extratos e moléculas isolados de plantas da Caatinga: uma revisão. 2017.

MOO, C. L. et al. Antimicrobial activity and mode of action of 1, 8-cineol against carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 20824, 2021.

MORRISON, L.; ZEMBOWER, T. R. Antimicrobial resistance. **Gastrointestinal Endoscopy Clinics**, v. 30, n. 4, p. 619-635, 2020.

MÜHLBERG, E. et al. Renaissance of vancomycin: Approaches for breaking antibiotic resistance in multidrug-resistant bacteria. **Canadian journal of microbiology**, v. 66, n. 1, p. 11-16, 2020.

MURRAY, C. JL et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. **The Lancet**, v. 399, n. 10325, p. 629-655, 2022.

Myrciaria in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB10802>>. Acesso em: 05 out. 2023

NIKAIDO, H. . Multidrug resistance in bacteria. **Annual review of biochemistry**, v. 78, p. 119-146, 2009.

OGUNLAJA, A et al. Antibiotic resistomes and their chemical residues in aquatic environments in Africa. **Environmental Pollution**, p. 119783, 2022.

OLIVEIRA, M.; PEREIRA, K. D. S. P. S.; ZAMBERLAM, C. R. RESISTÊNCIA BACTERIANA PELO USO INDISCRIMINADO DE ANTIBIÓTICOS: UMA QUESTÃO DE SAÚDE PÚBLICA: doi. org/10.29327/4426668. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 6, n. 11, p. 183-201, 2020.

O'TOOLE, G. A. Microtiter dish biofilm formation assay. **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**, n. 47, p. e2437, 2011.

PEREIRA, R., ZOGHBI, M., BASTOS, M. (2010). Essential Oils of Twelve Species of Myrtaceae Growing Wild in the Sandbank of the Resex Maracanã, State of Pará, Brazil. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, 13, 440 - 450.

- PINTO, I. et al. An Overview of the Impact of Pharmaceuticals on Aquatic Microbial Communities. **Antibiotics** 2022, 11,1700.<https://doi.org/10.3390/antibiotics11121700>
- RABIN, N. et al. Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. **Future medicinal chemistry**, v. 7, n. 4, p. 493-512, 2015.
- RÊGO, T. C. R.; SANTANA, F. F.; PASSOS, M. A. N. Atuação da enfermagem no controle da infecção hospitalar por bactérias multiresistentes: uma revisão bibliográfica. **Revista JRG de Estudos Acadêmicos**, v. 6, n. 13, p. 121-133, 2023.
- RIBEIRO, A. R. C. et al. Myrciaria tenella (DC.) O. Berg (Myrtaceae) leaves as a source of antioxidant compounds. **Antioxidants**, v. 8, n. 8, p. 310, 2019.
- RIBEIRO, A. R. C. Prospecção química e de atividades antioxidante e antiproliferativa dos extratos de Myrciaria tenella (DC.) O. Berg (Myrtaceae) e Salvia hispanica L.(Lamiaceae). 2019.
- RIBEIRO, S. M. et al. Influência da sazonalidade e do ciclo circadiano no rendimento e composição química dos OE de Croton spp. da Caatinga. **Iheringia, Série Botânica.**, v. 73, n. 1, p. 31-38, 2018.
- RÓNAVÁRI, A. et al. Green silver and gold nanoparticles: Biological synthesis approaches and potentials for biomedical applications. **Molecules**, v. 26, n. 4, p. 844, 2021.
- ROOS, V. C. et al. Ethnopharmacological study of medicinal plants and their possible drug interactions in two cities of the South of Brazil. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 5, p. 4145-4173, 2019.
- SANTOS, L. L. et al. Bignoniaceae Juss. no Parque Nacional Vale do Catimbau, Pernambuco. **Rodriguésia**, v. 64, p. 479-494, 2013.
- SANTOS, R. H. G. **Composição e atividade biológica do OE foliar de Calypttranthes dardanoi Mattos (Myrtaceae) ocorrente na Floresta Atlântica e Caatinga.** 2020. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.
- SANTOS, V. L. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de Maytenus rigida Mart.(Celastraceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, p. 68-72, 2011.
- SEOL, G. H.; KIM, K. Y.. Eucalyptol and its role in chronic diseases. **Drug discovery from mother nature**, p. 389-398, 2016.
- SERAFIM-FILHO, G. L. et al. Florística e estrutura da vegetação arbustivo-arbórea em duas áreas sedimentares do Parque Nacional do Catimbau, Buíque, Pernambuco, Brasil. **Journal of Environmental Analysis and Progress**, v. 6, n. 2, p. 136-152, 2021.
- SGANZERLA, C. M. et al. Revisão integrativa aplicada a levantamentos etnobotânicos de plantas medicinais no Brasil. **Revista Acta Ambiental Catarinense**, v. 19, n. 1, p. 01-16, 2022.
- SHARMA, D.; et al. Antibiotics versus biofilm: an emerging battleground in microbial communities. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2019.
- SILVA, J. G. Avaliação genotóxica e mutagênica em Tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus) das águas do Rio Capibaribe, Pernambuco, Brasil. 2019.
- SILVA, R. A. et al. Resistência a Antimicrobianos: a formulação da resposta no âmbito

da saúde global. **Saúde em Debate**, v. 44, p. 607-623, 2020.

SILVA, W. A. et al. Prevalência dos micro-organismos causadores de infecções nosocomiais e coeficiente de sensibilidade dos antimicrobianos na UTI da Santa Casa de Formiga/MG no período de 2013 a 2017. **Conexão Ciência (Online)**, v. 18, n. 2, p. 49-65, 2023.

SILVEIRA, M. A. et al. Utilização das plantas medicinais e fitoterápicas o conhecimento popular em uma revisão bibliográfica histórica. **Salão do Conhecimento**, 2013.

SIZAR O. et al. Gram-Positive Bacteria. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): **StatPearls Publishing**; May 30, 2023.

SNIF FLORESTAL (2021). <http://snif.florestal.gov.br/pt-br/perda-da-cobertura-florestal/262-mapas>.

SOLANO, C. et al. Biofilm dispersion and quorum sensing. **Current opinion in microbiology**, v. 18, p. 96-104, 2014.

SOUZA, A. V. V. et al. Bioprospecção de plantas da Caatinga com potencial para produção de fitomedicamentos. 2022.

SOUZA, K. S. et al. Aquatic microbiota: : a systematic review. *Advances in Microbiology*, v. 1, p. 1, 2023

SUZUKI, S. et al. Sulfonamide and tetracycline resistance genes in total-and culturable-bacterial assemblages in South African aquatic environments. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 796, 2015.

TOLKER-NIELSEN, T. Biofilm development. **Microbial Biofilms**, p. 51-66, 2015.

TRIPATHI N. SAPRA A. Gram Staining. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): **StatPearls Publishing**; August 8, 2022.

TRONCOSO, Augusto Torres. ATUALIDADES EM RESISTÊNCIA BACTERIANA: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA. **Revista da Faculdade de Medicina de Teresópolis**, v. 4, n. 1, 2020.

UZANNE, O. **The end of books**. Adelaide: University of Adelaide, 2014. Disponível em: <https://ebooks.adelaide.edu.au/u/uzanne/octave/end/>. Acesso em: 20 abr. 2019.

VAN WOLFEREN, M. et al. Archaeal biofilm formation. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 11, p. 699-713, 2018.

VASCO-DOS-SANTOS, Deyvison Rhuan et al. Água, Saúde e Doença: Uma revisão sistemática sobre doenças de veiculação hídrica em comunidades indígenas brasileiras. **Revista Rios**, v. 14, n. 25, p. 226-246, 2020.

WORKING, A. C. G. D. A NEW GRAND BARGAIN TO IMPROVE THE ANTIMICROBIAL MARKET FOR HUMAN HEALTH.2023

XAVIER, D. A. et al. Intervenções antrópicas na geomorfologia do estuário do rio Capibaribe e seus reflexos na sedimentação recente. **Anuário do Instituto de Geociências**, v. 41, n. 3, p. 492-502, 2019.

YAN, J.; BASSLER, B. L. Surviving as a community: antibiotic tolerance and persistence in bacterial biofilms. **Cell host & microbe**, v. 26, n. 1, p. 15-21, 2019.

ANEXO A – CARTA DE ACEITE

27/11/2023 00:06

https://www.even3.com.br/participante/impresao/_impressoacartadeaceite?code=688510

CARTA DE ACEITE

Temos a grata satisfação de comunicar que, após análise da Comissão Científica, o trabalho intitulado **SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA E SEU POTENCIAL ANTIMICROBIANO –UMA REVISÃO**, de autoria de *Hévellin Talita Sousa Lins* , *Tainara Fernandes Dantas* , *Amanda Vieira de Barros* , *Rafael Artur de Queiroz Cavalcanti de Sá* , *Yhasminie Karine da Silva Xavier* , *Tayane de Cássia Dias Mendes Silva* , *Beatriz Reis Alvaro da Silva* , *Carem Tavares Pessoa Mendes* e *Maria Betânia Melo De Oliveira* foi aprovado na modalidade Capítulo de Livro, aceito em 25/08/2023 pelo **VII CONGRESSO INTERNACIONAL DE SAÚDE ÚNICA e III SIMPÓSIO INTERNACIONAL PLURIPROFISSIONAL DE SAÚDE**, a realizar-se no período de 25 de agosto de 2023 a 27 de agosto de 2023, para ser publicado pela *Even3 Publicações Ltda*, sob CNPJ 17.688.085/0001-45.

OBSERVAÇÃO: Os dados referente ao Digital object identifier (DOI), International Standard Book Number (ISBN) e/ou ficha catalográfica para as modalidades RESUMO SIMPLES e CAPÍTULOS DE LIVROS serão disponibilizados apenas após sua publicação, respeitando os prazos estipulados dentro dos editais normativos.

Recife (PE), 25/08/2023