

Ação antimicrobiana das nanopartículas de prata (AgNPs) estabilizadas em extrato de jurema preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir.)

Antimicrobial action of silver nanoparticles (AgNps) stabilized in jurema preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd.) (Poir.) extract

Acción antimicrobiana de nanopartículas de prata (AgNps) estabilizadas en extracto de jurema preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir.)

Recebido: 19/05/2022 | Revisado: 06/06/2022 | Aceito: 07/06/2022 | Publicado: 11/06/2022

Josimar Elpídio de Brito

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7323-5511>

Centro Universitário UniFacid, Brasil

E-mail: josimarelpidio8@gmail.com

Deuzuita dos Santos Freitas Viana

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1902-6505>

Centro Universitário Unifacid, Brasil

E-mail: deuzuitasfv@gmail.com

Vicente Galber Freitas Viana

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3863-6974>

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Brasil

E-mail: galber@ifpi.edu.br

Girlene Soares de Figueirêdo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6710-1549>

Universidade Federal do Piauí, Brasil

E-mail: girlenesf@gmail.com

Resumo

A resistência microbiana aos antibióticos tem sido uma ameaça para o tratamento efetivo de várias infecções causadas por agentes patogênicos. Nesse sentido, a pesquisa teve como objetivo avaliar a ação antimicrobiana das nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas por meio de biorredução utilizando o extrato de *Mimosa tenuiflora*. Com isso, a pesquisa adotou a metodologia laboratorial de natureza quantitativa em que utilizou para a síntese das nanopartículas, o nitrato de prata (AgNO_3) como agente precursor, o citrato de sódio como agente redutor e o extrato de *M. tenuiflora* como agente estabilizador. O inóculo das espécies bacterianas a serem testadas foi preparado pelo método de suspensão direta das colônias CLSI (2009) em solução salina esterilizada, a partir de colônias crescidas por 24 horas em meio BHI (Brain Heart Infusion ágar) e em meio Sabouraud para a espécie fúngica. O teste de suscetibilidade foi realizado pelo método de difusão por poço CLSI (2009), com adaptações, e a análise da ação antimicrobiana das AgNPs foi realizada após 24 horas de incubação a uma temperatura de 37 °C. A solução contendo as AgNps fora aplicada em três espécies de microrganismos: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Candida albicans* (ATCC 10231). Os resultados mostram que 20 µL da substância frente às cepas microbianas apresentou discreta atividade antimicrobiana contra bactérias, porém o mesmo não foi observado na levedura testada. De acordo com os resultados, observa-se que as AgNps estabilizadas em *M. tenuiflora* apresentam atividade antimicrobiana, principalmente contra *Staphylococcus aureus*.

Palavras-chave: Nanopartículas; Extratos de plantas; Ação antimicrobiana.

Abstract

Microbial drug resistance has been a threat to the effective treatment of various infections caused by pathogenic agents. In this sense, the research aimed to evaluate the antimicrobial action of silver nanoparticles (AgNPs) synthesized by means of bioreduction using the extract of *Mimosa tenuiflora*. With this, the research adopted the laboratory methodology of a quantitative nature in which it used for the synthesis of nanoparticles, silver nitrate (AgNO_3) as a precursor agent, sodium citrate as a reducing agent and *M. tenuiflora* extract as a stabilizing agent. The inoculum of the bacterial species to be tested was prepared by the method of direct suspension of CLSI (2009) colonies in sterile saline solution, from colonies grown for 24 hours in BHI (Brain Heart Infusion agar) and in Sabouraud medium for the fungal species. The susceptibility test was performed using the CLSI (2009) well diffusion method, with adaptations, and the analysis of the antimicrobial action of AgNPs was performed after 24 hours of incubation at a temperature of 37 °C. The solution containing AgNps was applied to three species of microorganisms: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922) and *Candida albicans* (ATCC 10231). The results show that 20 µL of the substance against the microbial strains showed slight antimicrobial activity against

bacteria, but the same was not observed in the tested yeast. According to the results, it is observed that the AgNps stabilized in *M. tenuiflora* have antimicrobial activity, mainly against *Staphylococcus aureus*.

Keywords: Nanoparticles; Plant extracts; Antimicrobial action.

Resumen

La resistencia microbiana a los medicamentos ha sido una amenaza para el tratamiento efectivo de varias infecciones causadas por agentes patógenos. En este sentido, la investigación tuvo como objetivo evaluar la acción antimicrobiana de las nanopartículas de plata (AgNps) sintetizadas mediante biorreducción utilizando el extracto de *Mimosa tenuiflora*. Con ello, la investigación adoptó la metodología de laboratorio de carácter cuantitativo en la que utilizó para la síntesis de nanopartículas, nitrato de plata (AgNO_3) como agente precursor, citrato de sodio como agente reductor y extracto de *M. tenuiflora* como agente estabilizador. El inóculo de la especie bacteriana a ensayar se preparó por el método de suspensión directa de colonias CLSI (2009) en solución salina estéril, a partir de colonias cultivadas durante 24 horas en BHI (Brain Heart Infusion agar) y en medio Sabouraud para la especie hongos. La prueba de susceptibilidad se realizó mediante el método de difusión en pozo CLSI (2009), con adaptaciones, y el análisis de la acción antimicrobiana de las AgNps se realizó después de 24 horas de incubación a una temperatura de 37 °C. La solución que contenía AgNps se aplicó a tres especies de microorganismos: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922) y *Candida albicans* (ATCC 10231). Los resultados muestran que 20 μL de la sustancia contra las cepas microbianas mostraron una ligera actividad antimicrobiana contra las bacterias, pero no se observó lo mismo en la levadura ensayada. De acuerdo a los resultados se observa que las AgNps estabilizadas en *M. tenuiflora* tienen actividad antimicrobiana, principalmente contra *Staphylococcus aureus*.

Palabras clave: Nanopartículas; Extractos de plantas; Acción antimicrobiana.

1. Introdução

A resistência aos antibióticos é considerada atualmente um grande problema da saúde pública mundial (Loureiro et al., 2016). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) a exposição indiscriminada dos microrganismos aos medicamentos acelera o desenvolvimento de formas resistentes e potencializa as infecções em ambientes hospitalares (Zagui et al., 2022). As infecções causadas por esses patógenos têm sido um problema crescente, porque os antibióticos atuais não são capazes de impedir a sua multiplicação (Yousaf et al., 2020).

O surgimento e a disseminação dos organismos patogênicos resistentes se tornou uma preocupação para as pesquisas biomédicas nos últimos anos. Estudos sugerem que há uma associação causal entre o uso de medicamentos e a resistência microbiana (Cussolim, Junior, de MELO, & de MELO, 2021). Como também, sabe-se que a atividade antropogênica aumenta abundantemente os genes de resistência aos fármacos. Dessa forma, a resistência aos medicamentos é uma crise mundial de múltiplas dimensões, que requer um esforço multidisciplinar de diferentes áreas de pesquisa (Hiltunen et al., 2017).

O enfrentamento aos problemas causados pela resistência dos microrganismos aos fármacos atuais e a busca por alternativas mais eficientes, encontrou fórmulas capazes de combater diferentes agentes patogênicos (Freires & Rodrigues Junior, 2022). Entre as formulações encontradas, cita-se o uso de nanopartículas metálicas, especialmente as nanopartículas de prata (AgNPs) com potencial antimicrobiano para cepas resistentes (Silva et al., 2020). Com características morfológicas próprias e dimensão nano, a capacidade de interação sinérgica das AgNPs com os componentes biológicos, torna este material potencialmente eficiente (Guimarães et al., 2021).

A prata tem sido usada como agente antimicrobiano desde muito tempo; atualmente o interesse pelo uso dessa substância está relacionado à crescente resistência de vários microrganismos a determinados fármacos (Viana et al., 2021). No entanto, no seu estado natural existem limitações no uso de íons de prata ou sais de prata como agentes antimicrobianos, causando estresse oxidativo, o qual pode levar à morte celular. Já em escala monométrica essa limitação é eliminada, pois a natureza química do revestimento da superfície diminui sua toxicidade (Durán, 2019). Assim, as AgNPs têm a capacidade de penetrar no interior das células e causar danos ao interagir com o fósforo e enxofre presentes no DNA e nas proteínas dos patógenos (Bernardo-Mazariegos et al., 2019).

Além das propriedades antimicrobianas as AgNPs têm ação em um amplo espectro de microrganismos, incluindo bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, fungos e vírus (Bruniera et al., 2020). As AgNPs foram citadas em vários estudos

como potentes agentes antimicrobianos contra microrganismos resistentes a múltiplas drogas, entre eles a *Escherichia coli* resistente à ampicilina, *Streptococcus pyogenes* resistente à eritromicina, *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* resistente à vancomicina (Aldayel et al., 2022).

A *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir., conhecida como jurema preta é uma planta nativa da região Nordeste do Brasil, encontrada especificamente no bioma Caatinga, resistente a longos períodos de seca. Conhecida pelo seu potencial terapêutico é utilizada frequentemente na medicina tradicional em tratamento de doenças infecciosas causadas por fungos e bactérias (Santos et al., 2022). Possui atividade antioxidante, anti-inflamatório e cicatrizante. A casca contém N,N-dimetiltriptamina (DMT), um alcaloide indólico com efeitos alucinógenos Isabela (Amariz et al., 2022).

Devido o aumento da resistência dos microrganismos aos medicamentos convencionais, o objetivo da pesquisa foi verificar a ação antimicrobiana das nanopartículas de prata estabilizadas em extrato de *Mimosa tenuiflora*.

2. Metodologia

2.1 Preparação do extrato aquoso de *M. tenuiflora*

A planta utilizada foi coletada na localidade Coqueiro no município de Alagoinha do Piauí – Brasil, identificada e está depositada no Herbário Professor Aluizio Bittencout – HABIT, em Caxias Maranhão, sob nº de tombo: 4302.

As cascas foram extraídas de uma planta adulta localizada pelas coordenadas geográficas, 6° 52' 26'', Lat. Sul; 40° 56' 55'' Long. Oeste, em uma propriedade particular, no mês de novembro de 2020, estação seca, no período da tarde. As cascas foram desidratadas naturalmente por 20 dias ao abrigo da incidência direta da luz solar. Após a desidratação as cascas foram trituradas em moinho até adquirirem o estado de pó. Para o extrato aquoso, foram diluídos 0,5 g do pó das cascas em 30 mL de água destilada. A solução foi filtrada em filtro de papel e em seguida utilizada na síntese das nanopartículas.

2.2 Síntese e caracterização das AgNps

Para sintetizar as AgNPs foi usado 100mL de Nitrato de Prata (AgNO_3) 1,0mmol/L, aquecido em agitação magnética numa chapa aquecedora. Após atingir a ebulição acrescentou-se gota a gota 1,0mL de Citrato de sódio 1% à solução de nitrato de prata. O gotejamento ocorreu em aquecimento e agitação magnética constante que foi mudando de cor, indicando a redução da prata e a formação das nanopartículas, ao atingir a coloração amarelo esverdeado interrompeu-se o gotejamento e o aquecimento da chapa aquecedora, mantendo-se a agitação magnética.

Ao atingir a temperatura ambiente de 25°C (Graus Celsius) gotejou lentamente extrato aquoso de *M. tenuiflora*, a mudança de cor continuou do amarelo esverdeado até atingir uma coloração âmbar, interrompendo-se a adição do extrato, o qual foi armazenado em vidro com tampa e acondicionado em refrigeração até o momento da aplicação nos inóculos.

As nanopartículas foram caracterizadas por meio de espectroscopia de infravermelho (UV-Vis). Os espectros foram obtidos por meio de um espectrofômetro modelo UV-6100S da Allacom com feixe duplo. Os parâmetros de análises foram em uma faixa de varredura 1900-900nm, abertura de fenda =2,0 nm e solução espectral de 1,0 nm. Foram utilizadas cubetas de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm.

2.3 Preparo do inóculo

Para avaliar a atividade antimicrobiana preparou-se inóculos de três espécies, uma espécie bacteriana Gram-positiva (*Staphylococcus aureus* - ATCC25923), uma espécie bacteriana Gram-negativa (*Escherichia coli*, ATCC25922) e uma espécie de fungo leveduriforme (*Candida albicans*, ATCC10231).

Padronizou-se o inóculo das espécies microbianas a serem testadas pelo método de suspensão direta das colônias CLSI (2009) em solução salina esterilizada, a partir de colônias crescidas por 24 horas em meio BHI (Brain Heart Infusion

ágar) para as espécies bacterianas e em meio Sabouraud para a espécie fúngica. Todas as culturas semeadas foram incubadas à temperatura de 37°C em estufa de crescimento. A suspensão de células foi ajustada a concentração de 1×10^8 UFC/mL, que corresponde a solução padrão de McFarland de 0,5.

2.4 Teste de suscetibilidade por meio de difusão em poço

A análise da atividade antimicrobiana das substâncias frente às bactérias e à espécie fúngica, foi executado pelo método de difusão por poço (CLSI, 2009) com adaptações. Foram realizados orifícios de 6 mm de diâmetro na superfície do meio de cultura contido nas placas de Petri com auxílio de um molde formando os poços. As placas foram inoculadas com as suspensões bacterianas e do fungo com auxílio de um swab esterilizado e então os poços foram preenchidos com 20 µL da substância a ser testada. Após a adição da substância aos poços as placas foram incubadas a 37° C por um período de 24 horas. Os halos de inibição do crescimento, quando formados foram mensurados por meio de um paquímetro. Os testes foram realizados em triplicata.

3. Resultados

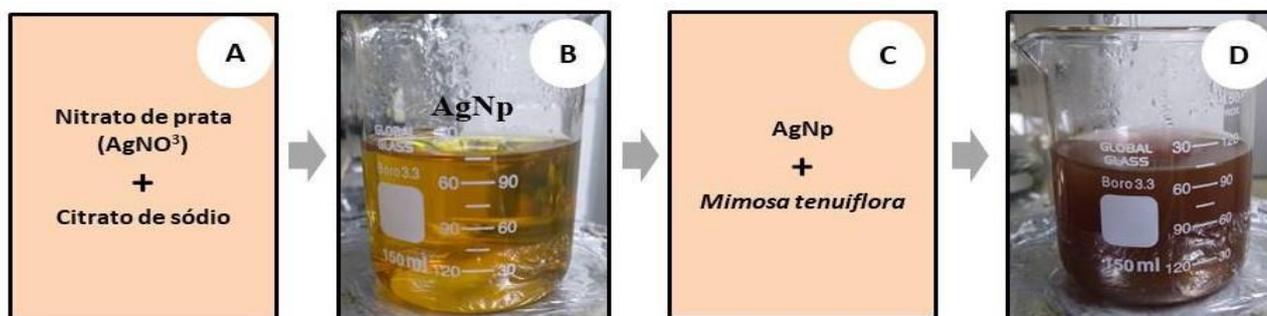
3.1 Formação e caracterização das AgNPs

Atualmente muitas pesquisas foram concentradas em diferentes rotas de síntese de AgNps (Câmara et al., 2021). Ao contrário dos métodos convencionais associados a substâncias tóxicas ao ambiente, as estratégias biológicas de síntese verde de nanopartículas são consideradas seguras e simples.

A formação das AgNps ocorreu a partir do nitrato de prata (AgNO_3), acrescido de citrato de sódio como agente redutor, e extrato de (*Mimosa tenuiflora*) como agente estabilizador. A síntese das nanopartículas ocorreu por meio de um processo de transição contínua pela redução do sal de prata observada com a mudança de coloração da mistura para amarelo esverdeado e posterior âmbar (Figura 1).

A caracterização das AgNps por UV-vis apresentou um pico máximo e único de absorção em uma faixa de 420nm, indica que houve formação de AgNps com tamanho aproximado de 20nm e formato esférico (Rani et al., 2020). O valor de absorbância indica o numero de nanopartículas presentes na solução, ou seja, quanto maior a absorção óptica maior será a quantidade de nanopartículas.

Figura 1 – Síntese das AgNps a partir de nitrato de prata, citrato de sódio e extrato de *M. tenuiflora*.



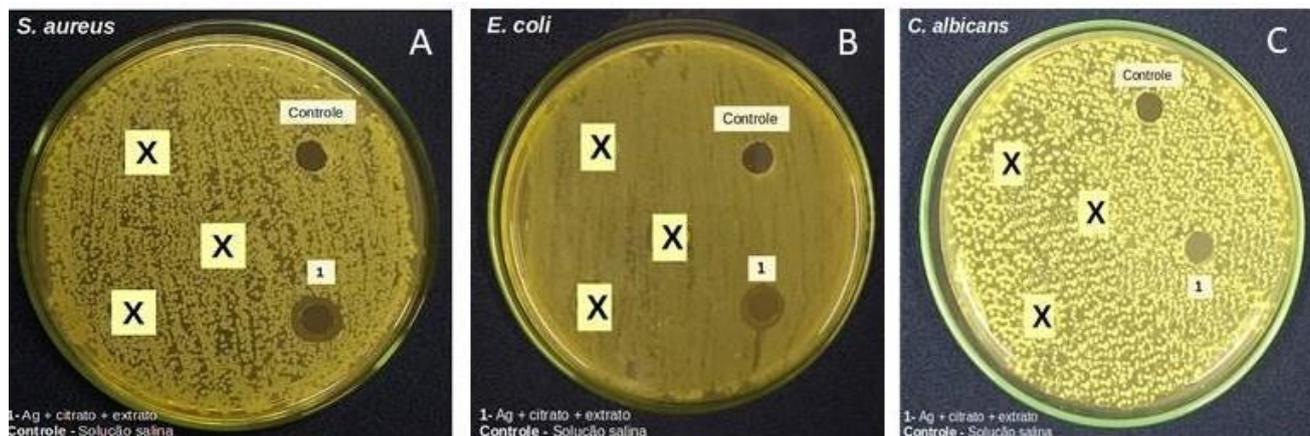
Fonte: Autores (2022).

3.2 Atividade antimicrobiana das AgNps

Após o período de incubação observou-se a formação de discretos halos de inibição do crescimento microbiano para

os microrganismos testados. A figura a seguir mostra o teste realizado em placas de Petri pelo método de difusão do poço em *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans* (Figura 2).

Figura 2. Teste de difusão em poço utilizando AgNps contra *S. aureus* (A), *E. coli* (B) e *C. albicans* (C).



Fonte: Autores (2022).

Observou que 20 μ L da substância aplicada em cada poço contendo as cepas apresentou uma discreta atividade contra bactérias Gram-positivas e bactérias Gram-negativas, porém não apresentou atividade antimicrobiana contra a levedura.

As cepas dos isolados clínicos utilizadas para determinação da atividade antimicrobiana de nanopartículas de para estabilizadas em citrato e mimosa neste estudo, estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Cepas dos microrganismos, e halos inibição de crescimento microbiano frente as AgNps.

	Microrganismos	Média do halo (teste)	Média do halo (controle)
Gram-positiva	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	12 mm	0 mm
Gram-negativa	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	10 mm	0 mm
Levedura	<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	0 mm	0 mm

Fonte: Autores (2022).

A mesma substância testada pelo método de difusão de poço a *E. coli* (ATCC 25922) apontou menor inibição em relação a bactéria *S. aureus* com a formação de halo de tamanho 10 mm.

A solução aplicada contra *C. albicans* (ATCC 10231), um fungo que causa a infecção conhecida como candidíase, não apresentou atividade contra a espécie, conforme análise do teste de difusão de poço.

Após três repetições do teste de difusão de poço da substância utilizado AgNps contra as três espécies de microrganismos analisadas, a média comprimento de formação de halos foi de 12 mm e 10 mm, para *S. aureus* e *E. coli*, respectivamente. Porém, *C. albicans* não houve formação de halo.

Para o controle, utilizando solução salina, os três experimentos apresentaram o perfil esperado não havendo formação de halo de inibição.

4. Discussão

Nesta pesquisa avaliou-se o potencial antimicrobiano das AgNps sintetizadas e estabilizadas a partir do extrato de cascas de *M. tenuiflora*. A mudança de cor da solução indicou o processo de redução da prata (Ag^+) para (Ag) e a caracterização das nanopartículas foi realizada por meio de espectroscopia de infravermelho (UV-Vis).

As bactérias Gram-positivas, habitualmente envolvidas em infecções adquiridas em ambientes hospitalares estão se tornando cada vez mais resistentes a antibióticos (Furtado, Silveira, Carneiro, Furtado, & Kilishek, 2019). Nesta pesquisa, verificou-se que as AgNps estabilizadas em citrato e extrato de mimosa teve melhor ação sobre a cepa de *S. aureus*, Gram-positiva. Indicando a possibilidade de aplicação da substância contra a atividade antimicrobiana destas bactérias.

Considerando os principais patógenos às infecções associadas aos locais de internação de pessoas doentes ou feridas, destacam-se as bactérias Gram-negativas como a *E. coli* (Oliveira & Paula, 2021). A menor ação antimicrobiana das AgNps contra a *E. coli* em relação à *S. aureus* pode ser atribuída a estrutura celular formada por peptidoglicanos e uma membrana externa contendo lipopolissacarídeos que lhes dá maior proteção contra ações externas.

A *C. albicans* é um fungo oportunista (Araujo et al., 2020). As infecções invasivas por fungos estão associadas geralmente à internação de longa duração e apresenta alta taxa de mortalidade, além do aumento no custo hospitalar. A aplicação das AgNps sobre *C. albicans* não apresentou inibição da levedura. Devendo-se realizar testes com novas concentrações ampliando a possibilidade de ação das AgNps.

As ações antibacterianas das AgNps sugerem também estarem associadas às substâncias bioativas, como os flavonoides e polifenóis presentes no extrato vegetal utilizada no processo de síntese (Martelli et al., 2021). As nanopartículas associadas ao extrato vegetal contendo compostos bioativos são capazes de inibir vários microrganismos (Freire et al., 2018). Considerando os elementos que compõem o extrato de mimosa, citrato e as nanopartículas de prata, permite levantar a hipótese de que a atividade antimicrobiana observada na pesquisa seja potencializada pelo sinergismo das substâncias bioativas que compõem a solução.

5. Conclusão

A partir dos resultados encontrado conclui-se que as AgNps têm potencial contra microrganismos resistentes, abrindo a discussão para utilização em pesquisas futuras em relação sua eficácia, a definição de como se dá ação sobre esses microrganismos e as padronizações das técnicas utilizadas.

As AgNps sintetizadas por rota verde (Gomes et al., 2020), apontaram boa atividade antimicrobiana contra duas espécies de bactérias testadas, porém a maior atividade se deu contra as bactérias Gram-positivas, principalmente nas cepas de *S. aureus*. Sabendo que esta espécie é altamente patogênica, com tendência de apresentar multirresistência, o resultado obtido é um indicativo relevante, para futuros usos no controle da dispersão desses em ambientes hospitalares e das infecções atribuídas a este tipo de micro-organismo.

Ressalta-se a importância da padronização e validação dos testes de todos os componentes da solução, para aumentar a confiabilidade, reprodutibilidade dos resultados e auxiliar os atuais e futuros pesquisadores na escolha de um protocolo adequado.

A partir dos resultados encontrados conclui-se que as AgNps sintetizadas na pesquisa apresentam como uma opção promissora no combate à resistência bacteriana, devendo se ser testadas em outros microrganismos em variadas concentrações.

Referências

Aldayel, F. M., Alsobeg, M. S., & Khalifa, A. (2022). In vitro antibacterial activities of silver nanoparticles synthesised using the seed extracts of three varieties of *Phoenix dactylifera*. *Brazilian Journal of Biology*, 82, e242301.

- Amariz, I. A. e, Pereira, E. C. V., Alencar Filho, J. M. T. de, Silva, J. P. da, Souza, N. A. C. de, de Oliveira, A. P., Rolim, L. A., et al. (2022). Chemical study of *Mimosa tenuiflora* barks. *Natural Product Research*, 36(7), 1893–1897.
- Araujo, I. M., Lopes, L. P., & Cruz, C. M. (2020). Caracterização sistemática da resposta imune à infecção por *Candida*. *Brazilian Journal of Health Review*, 3(2), 3788–3803.
- Bernardo-Mazariegos, E., Valdez-Salas, B., González-Mendoza, D., Abdelmoteleb, A., Tzintzun Camacho, O., Ceceña Duran, C., & Gutiérrez-Miceli, F. (2019). Silver nanoparticles from *Justicia spicigera* and their antimicrobial potentialities in the biocontrol of foodborne bacteria and phytopathogenic fungi. *Revista Argentina de Microbiología*, 51(2), 103–109.
- Bruniera, J. F. B., Gabriel-Silva, L., Goulart, R. S., Silva-Sousa, Y. T. C., Lara, M. G., Pitondo-Silva, A., & Miranda, C. E. S. (2020). Green Synthesis, Characterization and Antimicrobial Evaluation of Silver Nanoparticles for an Intracanal Dressing. *Brazilian Dental Journal*, 31(5), 485–492.
- Câmara, N. L. A. da S., Viana, D. dos S. F., & Viana, V. G. F. (2021). Síntese e caracterização de nanopartículas de prata estabilizada em extrato de *Struthanthus Flexicaulis* Mart. (Erva-de-Passarinho). *Research, Society and Development*, 10(14), e146101421983.
- Cussolim, P. A., Junior, A. S., de Melo, A. L., & de Melo, A. (2021). Mecanismos de resistência do *Staphylococcus aureus* a antibióticos mechanisms of resistance of *Staphylococcus aureus* to antibiotics. *Mecanismos de resistência do Staphylococcus aureus a antibióticos*, 6(12), 13.
- Durán, A. B., Nelson, Rolim, Wallace R. Durán, Marcela, Fávoro, Wagner J., Seabra. (2019). Nanotoxicologia de nanopartículas de prata: toxicidade em animais e humanos. *Química Nova*, 42, 206–213.
- Freire, N. B., Pires, L. C. S. R., Oliveira, H. P., & Costa, M. M. (2018). Atividade antimicrobiana e antibiofilme de nanopartículas de prata sobre isolados de *Aeromonas* spp. Obtidos de organismos aquáticos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 38(2), 244–249.
- Freires, M. S., & Rodrigues Junior, O. M. (2022). Resistência bacteriana pelo uso indiscriminado da azitromicina frente a Covid-19: Uma revisão integrativa. *Research, Society and Development*, 11(1), e31611125035.
- Furtado, D. M. F., Silveira, V. S. da, Carneiro, I. C. do R. S., Furtado, D. M. F., & Kilishek, M. P. (2019). Consumo de antimicrobianos e o impacto na resistência bacteriana em um hospital público do estado do Pará, Brasil, de 2012 a 2016. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 10(0).
- Gomes, D. M. D., Durán, N., Seabra, A. B., Silva, L. D. P., Prado, F. B., Silva, T. D. A., & Teixeira, M. F. S. (2020). Síntese verde de nanopartículas de prata intermediada por fungo anamórfico e eficácia antibacteriana e antifúngica. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi—Ciências Naturais*, 15(2), 433–443.
- Guimarães, M. L., Amarante, J. F., & Oliveira, H. P. de. (2021). A importância dos óleos essenciais na síntese verde de nanopartículas metálicas. *Matéria (Rio de Janeiro)*, 26(3), e13053.
- Hiltunen, T., Virta, M., & Laine, A.-L. (2017). Antibiotic resistance in the wild: An eco-evolutionary perspective. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1712), 20160039.
- Loureiro, R. J., Roque, F., Teixeira Rodrigues, A., Herdeiro, M. T., & Ramalheira, E. (2016). O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: Breves notas sobre a sua evolução. *Revista Portuguesa de Saúde Pública*, 34(1), 77–84.
- Martelli, E. C., Camargo, M. C. G. D., Vieira, J., & Gandra, R. F. (2021). Uso de substâncias bioativas como conservantes naturais em formas farmacêuticas: Uma revisão / Use of bioactive substances as natural preservatives in pharmaceutical forms: a review. *Brazilian Journal of Health Review*, 4(2), 8120–8133.
- Oliveira, J. W. A. de, & Paula, C. C. de. (2021). Bactérias gram-negativas multirresistentes: revisão sobre os desafios e demais discussões. *Caderno de Publicações Univag*, 0(11).
- Santos, R. F., Santos, A. P. dos, Oliveira, L. B. de, & Ferreira, T. C. (2022). Propriedades antimicrobianas de extratos da casca de jurema-preta (*mimosa tenuiflora* (wild.) poir.) / Antimicrobial properties of jurema-preta (*mimosa tenuiflora* (wild.) poir.) pear extracts. *Brazilian Journal of Development*, 8(3), 16915–16930.
- Silva, R. A. da, Oliveira, B. N. L. de, Silva, L. P. A. da, Oliveira, M. A., & Chaves, G. C. (2020). Resistência a Antimicrobianos: A formulação da resposta no âmbito da saúde global. *Saúde em Debate*, 44(126), 607–623.
- Viana, A. V., Viana, D. dos S. F., Figueirêdo, G. S. de, Brito, J. E. de, Viana, V. G. F., & Viana Junior, V. G. F. (2021). Potencial antimicrobiano das nanopartículas de prata estabilizadas em curcumina e extrato de folhas de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). *Research, Society and Development*, 10(9), e47610918364.
- Yousaf, H., Mehmood, A., Ahmad, K. S., & Raffi, M. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles and their applications as an alternative antibacterial and antioxidant agents. *Materials Science and Engineering: C*, 112, 110901.
- Zagui, G. S., Tonani, K. A. A., Fregonesi, B. M., Machado, G. P., Silva, T. V., Andrade, L. N., Andrade, D., et al. (2022). Tertiary hospital sewage as reservoir of bacteria expressing MDR phenotype in Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 82, e234471.