



**CENTRO UNIVERSITÁRIO CHRISTUS**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA MINIMAMENTE  
INVASIVA E SIMULAÇÃO NA ÁREA DE SAÚDE**

**MÁRIO LIMA PONTES**

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NANOPARTÍCULAS DE ZÉINA  
CARREGADAS COM ÁCIDO ANACÁRDICO EM BIOFILME DE  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EM CATETER DE HEMODIÁLISE**

**FORTALEZA**

**2024**

MÁRIO LIMA PONTES

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NANOPARTÍCULAS DE ZÉINA  
CARREGADAS COM ÁCIDO ANACÁRDICO EM BIOFILME DE  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EM CATETER DE HEMODIÁLISE

Dissertação apresentada ao Centro  
Universitário Christus (Programa de Pós-  
graduação em Tecnologia Minimamente  
Invasiva e Simulação na Área da Saúde)  
como requisito parcial para obtenção do  
título de mestre

Orientadora: Profa. Dra. Ramille Araújo  
Lima

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Centro Universitário Christus - Unichristus  
Gerada automaticamente pelo Sistema de Elaboração de Ficha Catalográfica do  
Centro Universitário Christus - Unichristus, com dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P813a Pontes, Mário Lima.  
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NANOPARTÍCULAS  
DE ZÉINA CARREGADAS COM ÁCIDO ANACÁRDICO EM  
BIOFILME DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS EM CATETER  
DE HEMODIÁLISE / Mário Lima Pontes. - 2025.  
57 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado) - Centro Universitário Christus -  
Unichristus, Mestrado em Tecnologia Minimamente Invasiva e  
Simulação na Área de Saúde, Fortaleza, 2025.  
Orientação: Profa. Dra. Ramilye Araújo Lima.  
Área de concentração: Simulação no Ensino da Área Cirúrgica.

1. staphylococcus aureus. 2. Infecções relacionadas a cateter. 3.  
Fitoterapia. I. Título.

CDD 610.28

MÁRIO LIMA PONTES

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NANOPARTÍCULAS DE ZÉINA  
CARREGADAS COM ÁCIDO ANACÁRDICO EM BIOFILME DE  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EM CATETER DE HEMODIÁLISE

Dissertação apresentada ao Centro  
Universitário Christus (Programa de Pós-  
graduação em Tecnologia Minimamente  
Invasiva e Simulação na Área da Saúde)  
como requisito parcial para obtenção do  
título de mestre

Orientadora: Profa. Dra. Ramille Araújo  
Lima

Aprovado em: 30/09/2024

BANCA EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Ramille Araújo Lima  
Centro Universitário Christus  
Orientadora

---

Prof. Dr. Pedro Henrique Acioly Guedes Peixoto Vieira  
Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)  
Avaliador Interno

---

Prof. Dra. Paula Frassinetti Castelo Branco Camurça Fernandes  
Universidade Estadual do Ceará (UECE)  
Avaliador Externo

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pelos dons que me deu nesta existência e que serviram na realização deste projeto.

Agradeço à minha orientadora, Profa. Dra. Ramille Araújo Lima, por sempre estar presente, por responder com paciência, por indicar a direção correta que o trabalho deveria tomar e pelo entusiasmo todas as vezes que necessitei.

Agradeço a João Victor de Paula, aluno do curso de graduação de odontologia da Unichristus, pelos ensinamentos além das fronteiras da microbiologia, nesse pequeno tempo de convívio.

Agradeço à minha esposa Auristela, aos meus quatro filhos Mário, Luísa, Melissa e Miguel, por toda paciência e colaboração.

Agradeço aos meus pais, Cesar e Sandra, pelo apoio e incentivo que serviram de alicerce para as minhas realizações.

Agradeço a universidade Unichristus e ao seu corpo docente, que demonstrou estar compromissado com a qualidade e excelência do ensino.

“Não é nossa função controlar todas as marés do mundo, mas sim fazer o que pudermos para socorrer os tempos em que estamos inseridos, erradicando o mal dos campos que conhecemos, para que aqueles que viverem depois tenham terra limpa para cultivar. Que tempo encontrarão não é nossa função determinar.”

(J. R. R. Tolkien, 1954)

## RESUMO

As infecções relacionadas a cateter de diálise variam de 1,1 a 5,5 episódios por 1000 dias do acesso, sendo *Staphylococcus aureus* o agente causador mais comum destas infecções. O ácido anacárdico (AA) é um lipídio fenólico extraído do óleo da casca da castanha de caju, que já demonstrou ação antimicrobiana contra bactérias gram-positivas. A zeína é a maior proteína de armazenamento do milho (*Zea mays L.*) e suas nanopartículas têm sido descritas como superiores a diversas outras para carregamento de drogas lipofílicas e nutrientes. O objetivo deste estudo foi analisar a ação antimicrobiana de uma solução de nanopartículas de zeína carregadas com ácido anacárdico impregnadas em cateteres de poliuretano frente à *S. aureus*, *in vitro*. O estudo foi dividido em 2 partes: a primeira analisou a formação do halo de inibição utilizando cateteres previamente imersos com nanopartículas de zeína carregadas com AA em placas de cultura bacteriana de *S. aureus* (ATCC 25923) ao longo de 6 dias. O segundo analisou a ação antimicrobiana do AA em biofilmes. Foram testados 4 grupos: 1) solução hidroetanólica 35%; 2) nanopartículas de zeína não carregadas com ácido anacárdico; 3) nanopartícula de zeína carregadas com ácido anacárdico (9,337 µg/mL); e 4) grupo controle positivo (Vancomicina 2,5 mg/mL). Os dados foram expressos em médias e desvios-padrões. Foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, e realizado o teste ANOVA seguido de Tukey. Os dados dos experimentos em biofilme foram expressos em UFC/mL e transformados para logaritmo na base 10. Como resultado do halo de inibição não houve diferença estatística entre o grupo AA e Vancomicina, ambos demonstrando halos de inibição acima de 10 mm. Na análise da atividade antimicrobiana na inibição da formação de biofilmes, apenas o grupo Vancomicina foi diferente dos demais grupos, com uma redução estatisticamente significativa ( $p < 0,0001$ ). Concluímos que o ácido anacárdico incorporado em nanopartículas de zeína apresenta atividade antimicrobiana frente à *S. aureus*, e que cateteres impregnados com esta solução apresentaram retenção de suas propriedades antimicrobianas. Entretanto, o mesmo efeito não foi observado em biofilmes de *S. aureus* formados em cateteres de poliuretano.

**PALAVRAS-CHAVES:** *staphylococcus aureus*; infecções relacionadas a cateter; fitoterapia; *anacardium occidentale*; nanomedicina.

## ABSTRACT

Catheter-related dialysis infections range from 1.1 to 5.5 episodes per 1000 catheter days, with *Staphylococcus aureus* being the most common causative agent of these infections. Anacardic acid (AA) is a phenolic lipid extracted from cashew nutshell oil that has shown antimicrobial activity against gram-positive bacteria. Zein is the major storage protein of corn (*Zea mays* L.), and its nanoparticles have been described as superior to many others for carrying lipophilic drugs and nutrients. The objective of this study was to analyze the antimicrobial action of a solution of zein nanoparticles loaded with anacardic acid impregnated in polyurethane catheters against *S. aureus* in vitro. The study was divided into two parts: the first analyzed the formation of an inhibition zone using catheters previously immersed with zein nanoparticles loaded with AA on *S. aureus* bacterial culture plates (ATCC 25923) over six days. The second part analyzed the antimicrobial action of AA in biofilms. Four groups were tested: 1) 35% hydroethanolic solution; 2) zein nanoparticles unloaded with anacardic acid; 3) zein nanoparticles loaded with anacardic acid (9.337 µg/mL); and 4) positive control group (Vancomycin 2.5 mg/mL). Data were expressed as means and standard deviations. They were subjected to the Shapiro-Wilk normality test and analyzed using ANOVA followed by Tukey's test. The biofilm experiment data were expressed in CFU/mL and transformed to base-10 logarithms. The inhibition zone results showed no statistical difference between the AA group and Vancomycin, both demonstrating inhibition zones larger than 10 mm. In the analysis of antimicrobial activity in biofilm formation inhibition, only the Vancomycin group was statistically different from the other groups, with a statistically significant reduction ( $p < 0.0001$ ). We concluded that anacardic acid incorporated into zein nanoparticles presents antimicrobial activity against *S. aureus*, and that catheters impregnated with this solution retained their antimicrobial properties. However, the same effect was not observed in biofilms formed by *S. aureus* on polyurethane catheters.

**KEYWORDS:** staphylococcus aureus; catheter-related infections; phytotherapy; Anacardium occidentale; nanomedicine.



## LISTA DE ABREVIATURAS

- °C – grau centígrado
- AA – ácido anacárdico
- ANOVA – Análise de variância
- ALT – Ácidos lipoteicóicos
- B. ammoniagenes* - *Brevibacterium ammoniagenes*
- BHI – Brain Heart Infusion
- cm - centímetro
- CHX – Clorexidina
- DNA - Desoxyribonucleic Acid
- DRC- Doença renal crônica
- FAV- Fístula artério venosa
- LLC – líquido da casca da castanha
- Kdigo - Kidney Disease: Improving Global Outcomes
- Kdoqi - Kidney Disease Outcomes Quality Initiative
- log – logaritmo
- mL - Mililitro
- mm - Milímetro
- MRSA - *S. aureus* resistente à *meticilina*
- nm - Nanômetro
- Pdi- Índice de polidispersão
- pH – Potencial Hidrogeniônico
- S. Aureus* - *Staphylococcus aureus*
- S. mutans* - *Streptococcus mutans*
- TFG- Taxa de Filtração Glomerular
- µL - Microlitro
- UFC – Unidades formadoras de colônias

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO .....  | 11 |
| 2. REFERENCIAL TEÓRICO.....  | 12 |
| 3. JUSTIFICATIVA.....  | 19 |
| 4. OBJETIVO .....  | 20 |
| 4.1 Objetivo geral .....   | 20 |
| 4.2 Objetivos específicos .....  | 20 |
| 5. MATERIAIS E MÉTODOS .....   | 21 |
| 5.1 Tipo de estudo e aspectos éticos .....   | 21 |
| 5.2 Delineamento experimental.....   | 21 |
| 5.3 Obtenção do ácido anacárdico (AA) e nanopartículas .....   | 21 |
| 5.4 Preparo dos cateteres e Impregnação nas soluções .....   | 21 |
| 5.5 Preparo do inóculo .....   | 22 |
| 5.6 Ensaio de retenção das atividades antimicrobianas do “AA” impregnado em cateter em teste de ágar difusão ( <i>Screening</i> ) .....  | 22 |
| 5.7 Ensaio de ação antimicrobiana do AA em biofilmes .....   | 22 |
| 5.8 Análise dos dados .....  | 23 |
| 6. RESULTADOS .....  | 24 |
| 6.1 Análise da retenção das atividades antimicrobianas do “AA” impregnado em cateter em teste de ágar difusão ( <i>Screening</i> ) ..... | 24 |
| 6.2 Análise da atividade antimicrobiana do “AA” impregnado em cateter na inibição da formação de biofilmes de <i>S. aureus</i> .....     | 27 |
| 7. DISCUSSÃO .....   | 29 |
| 8. CONCLUSÃO .....   | 32 |
| REFERÊNCIAS .....  | 33 |
| APÊNDICE A - APÊNDICE A - Imagens do teste de ágar-difusão ( <i>Screening</i> ) após 1 (D1), 2 (D2), 3 (D3) e 6 (D6).....                | 38 |
| APÊNDICE B - CUIDADOS COM O CATETER DE HEMODIÁLISE – MANUAL DO PACIENTE .....  | 39 |
| APÊNDICE C - MANUSCRITO ENVIADO PARA REVISTA <i>ADVANCED HEALTHCARE MATERIALS</i> .....  | 45 |

## 1. INTRODUÇÃO

A crescente prevalência de bactérias resistentes a antibióticos exigiu a exploração de agentes antimicrobianos alternativos, especialmente em ambientes clínicos como a hemodiálise, onde o risco de infecção é significativo. Este estudo tem como objetivo analisar a ação antimicrobiana de nanopartículas de zeína carregadas com ácido anacárdico, visando especificamente a *Staphylococcus aureus*, um patógeno comum associado a infecções relacionadas a cateteres. A zeína, uma proteína do milho, tem chamado a atenção por sua biocompatibilidade e capacidade de formar nanopartículas que podem encapsular compostos bioativos, melhorando sua estabilidade e perfis de liberação (LUO *et al.*, 2012).

As nanopartículas de zeína podem ser fabricadas por meio de vários métodos, incluindo a eletrospraying e a precipitação antissolvente, que permitem o controle do tamanho e da morfologia das partículas, crucial para sua interação com as células microbianas (SUN *et al.*, 2022). A incorporação de ácido anacárdico, conhecido por suas propriedades antimicrobianas, em nanopartículas de zeína pode potencialmente aumentar sua eficácia contra *Staphylococcus aureus* ao proporcionar uma liberação sustentada do composto ativo (ZHANG *et al.*, 2010). Estudos anteriores demonstraram que as nanopartículas à base de zeína podem encapsular com eficácia vários agentes bioativos, melhorando sua biodisponibilidade e atividade antimicrobiana (LIU *et al.*, 2022).

Além disso, o uso de cateteres de hemodiálise de poliuretano impregnados com essas nanopartículas de zeína representa uma nova abordagem para reduzir o risco de infecção durante os procedimentos de diálise. As propriedades antimicrobianas dos compostos de zeína, especialmente quando combinados com agentes como a prata, mostraram-se promissoras na inibição do crescimento bacteriano, sugerindo que formulações semelhantes com ácido anacárdico poderiam produzir resultados benéficos (ZHANG *et al.*, 2010). Esta pesquisa tem como objetivo elucidar o potencial das nanopartículas de zeína como um sistema de entrega para o ácido anacárdico, contribuindo para o desenvolvimento de cateteres de hemodiálise mais seguros e eficazes.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

A doença renal crônica (DRC) é definida por anormalidades da estrutura ou da função renal, por pelo menos três meses de duração, e classificada com base na Taxa de Filtração Glomerular (TFG), presença de albuminúria, ou ambas, independentemente da causa (LEVEY et al, 2009). Segundo o manual *Kidney Disease: Improving Global Outcomes Chronic Kidney Disease Guideline (KDIGO)*, a DRC é classificada em cinco estágios de acordo com a perda da função renal, e esta se correlaciona com prognóstico e principais desfechos como doença cardiovascular, terapia dialítica e mortalidade. Essa classificação tem sua importância pois com ela será mensurada a progressão da doença renal, dando suporte para encaminhamento ao serviço dialítico ou centro de transplante renal (STEVENS, LEVIN, 2012).

A DRC leva a uma redução da capacidade dos rins de remover produtos de degradação, toxinas urêmicas e excesso de água do organismo, sendo reconhecida como um importante problema de saúde pública, no mundo, com aumento progressivo da severidade da doença e do custo. Esse aumento, se não evitado ou controlado, compromete muito a qualidade da vida dos doentes renais crônicos e seus familiares, além de onerarem significativamente os custos dos sistemas de saúde (ENE-IORDACHE et al, 2016; WEBSTER et al, 2017). A DRC leva a problemas econômicos, sociais, físicos e mentais, incluindo um risco aumentado de até 30% de depressão e suicídio (CHEN et al, 2007; JHEE et al, 2017).

Há diversos fatores de risco para DRC que podem estar relacionados a idade, sexo, obesidade, anemia, desnutrição, hipertensão, diabetes, doenças infecciosas e drogas nefrotóxicas (JHA et al, 2013).

O estágio final da DRC é a falência renal crônica onde se exige tratamento dialítico (hemodiálise ou diálise peritoneal) ou transplante renal (doador vivo ou falecido) (STEVENS, LEVIN, 2012).

A prevalência da DRC varia entre os países. Em estudos observacionais, concluiu-se que a doença afeta de 11% a 13% da população mundial, sendo a prevalência de 13,4% para os estágios 1-5 e de 10,6% para os estágios 3-5 (HILL, 2016). No Brasil pelo último censo da sociedade Brasileira de nefrologia 2022 existem aproximadamente 150 mil pessoas em terapia renal substitutiva (NERBASS, 2024).

Para realização de hemodiálise é necessário um acesso vascular que pode ser fístula-arterio venosa (FAV), fístula arterio-venosa com enxerto, ou um cateter de duplo

lúmen, que pode ser temporário ou de longa permanência (SOHAIL; VACHHARAJANI; ANVARI, 2021). Os cateteres de longa permanência, são tunelizados e possuem *cuff*. O *cuff* é feito de feltro ou dacron o que reduz a incidência de infecções relacionadas ao cateter e de migração do cateter (ATHERIKUL; SCHWAB; CONLON, 1998). Cateteres de longa permanência são reservados a pacientes que permanecerão em hemodiálise por mais de 15 dias (LOK et al, 2019). A punção de acesso de curta permanência está indicada para pacientes que necessitam de intervenção rápida, insuficiência renal aguda, intoxicação exógena e/ou insuficiência renal crônica em estágio avançado com necessidade de urgência que não tenham acesso disponível no momento. está (DAURGIDAS 2014). Cateteres de curta permanência são feitos geralmente de silicone ou poliuretano. Na prática clínica o que se encontra amplamente no mercado é o cateter de poliuretano.

Os cateteres de curta permanência podem ser inseridos em veias jugulares internas, veias subclávias e veias femurais. Segundo recomendações do *Kidney Disease Outcomes Quality Initiative* (KDOQI 2019) o local de punção seria: veia jugular interna, veia jugular externa, veia femural, veia subclávia e por último translombar (LOK et al, 2019). Há uma preferência pelos vasos do lado direito, pela anatomia vascular ser mais direta (SOHAIL, 2021).

No Brasil de acordo com o último censo realizado, 29% dos pacientes que realizam hemodiálise o fazem com uso de cateter (NERBASS, 2024).

Quanto ao risco de infecções, a infecção relacionada ao cateter tende a ser mais prevalente do que infecções em outros tipos de acesso vasculares para hemodiálise, variando de 1,1 a 5,5 episódios por 1000 dias do acesso (RAVANI 2013). Há uma preocupação quanto à taxa de mortalidade e à hospitalização decorrentes do número de infecções relacionadas aos cateteres (KOSA et al, 2013). Infecções associadas ao cateter podem ser provenientes dos conectores, da contaminação do lúmen durante a diálise, das soluções infundidas, da migração da flora cutânea ou podem até serem colonizados de locais mais distantes durante a bacteremia (SOHAIL; VACHHARAJANI; ANVARI, 2021).

*Staphylococcus aureus*, coco gram positivo, é o principal microorganismo causador de bacteremia, com uma incidência de 4,3 a 38,2 casos por 100.000 pessoas por ano nos Estados Unidos (HOLLAND 2014). Em corrente sanguínea, o *S. aureus* é o principal microorganismo envolvido (THOMER 2016).

Particularmente o biofilme formado pelo *S. aureus* está relacionado à resistência de antibióticos e moléculas de defesa do hospedeiro. Biofilmes também aumentam a oportunidade de transferir genes resistentes entre bactérias (ARCHER, 2011). Na prática clínica, o *S. aureus* forma biofilmes em superfícies de cateteres e esses biofilmes tem grande resistência a antibióticos (OTTO, 2008).

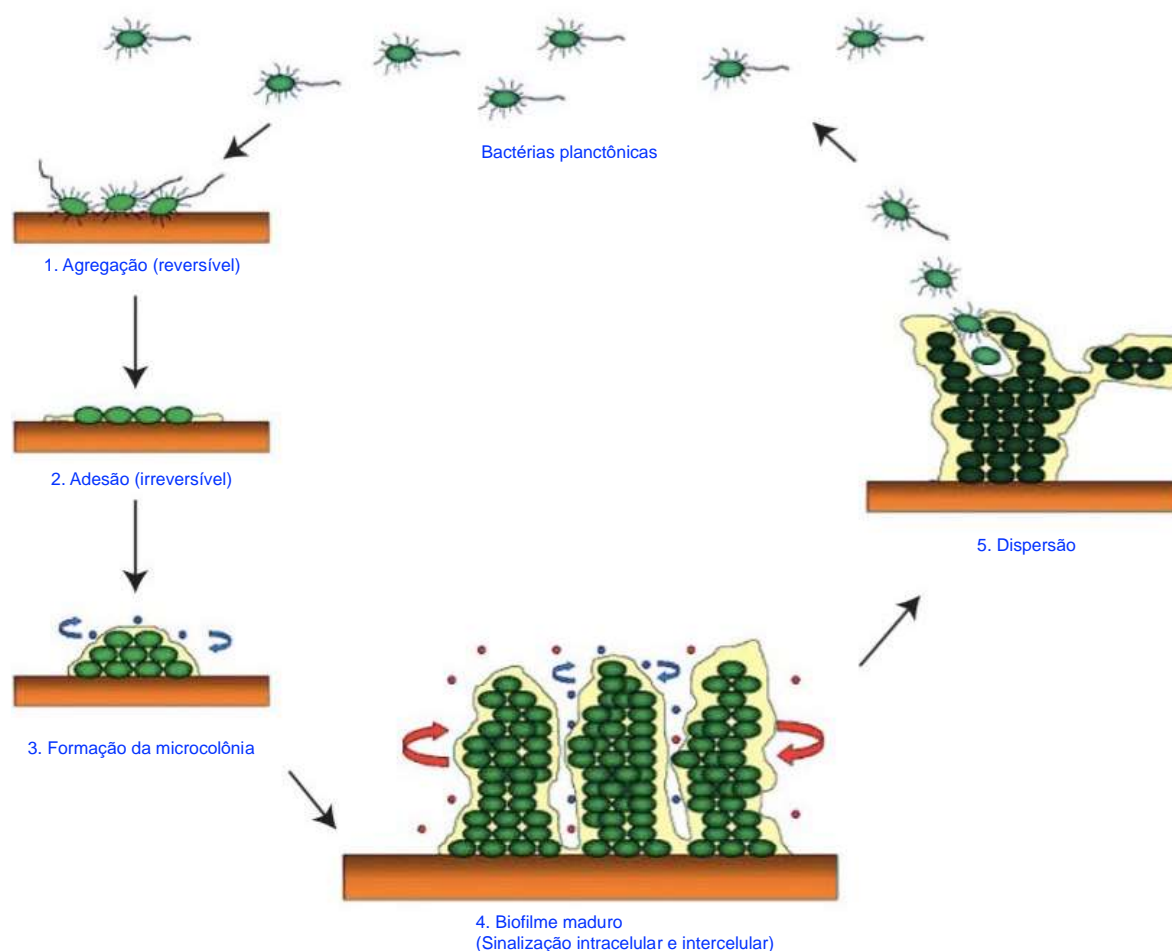
Cateteres e outros biomateriais, após serem implantados no organismo, são revestidos com plasma e proteínas da matriz extracelular como fibrinogênio, fibronectinas, trombospondina e vitronectina (NOMURA, 1997). O *S. aureus* tem uma capacidade de se ligar a proteínas que revestem o cateter e neste momento se desenvolve o biofilme através da fixação, acumulação e dispersão (LISTER, 2014).

Proteínas da matriz extracelular dos biofilmes bacterianos são compostas por polissacarídeos, ácidos teicóicos, DNA extracelular e diversas outras proteínas de superfície do *S. aureus* (SCHWARTZ, 2016).

Foi proposto que o baixo metabolismo do biofilme bacteriano contribui para fortalecimento e crescimento do biofilme e para sua resistência a antibióticos e desinfetantes (DRENKARD et al., 2003).

Biofilmes são compostos de células bacterianas de uma ou mais espécies de microrganismos interagindo cooperativamente. As células da superfície da estrutura têm acesso aos nutrientes e se mantêm em contínua atividade e divisão enquanto células mais internas se mantêm em estágio de latência. Essa heterogeneidade fisiológica do biofilme resulta em diferentes respostas aos antibióticos e um mecanismo de defesa mil vezes mais potente quando comparada a uma célula planctônica em um meio de cultura (BEHLAU, 2008).

Figura 1. Ilustração da formação do biofilme.



Fonte: Modificado de BEHLAU, 2008.

Especificamente sobre o biofilme de *S. aureus*, já foi demonstrado que biofilmes já formados têm maior virulência e resistência comparada a forma planctônica da bactéria e que quanto mais espesso for esse biofilme maior seu poder de virulência. Ainda foi visto que o biofilme formado contribui para a sobrevivência intracelular do *S. aureus* e, portanto, pode colaborar para infecções crônicas (OYAMA et al., 2016). Já é sabido que a maioria das drogas têm baixa permeabilidade e pouco poder de penetração no biofilme de *S. aureus*, o que já se mostra uma dificuldade terapêutica, além disso, acrescenta-se o fato de haver diversos mecanismos bacterianos para desenvolver resistência. Sabe-se que *S. aureus* pode ser resistente à  $\beta$ -lactâmicos e mais recentemente há relatos indicando resistência a daptomicina, teicoplanina e vancomicina, usadas no tratamento de MRSA

(*S. aureus* metilicina resistente) em infecções severas (GARDETE, 2014; GOMÉZ, et al. 2017).

O progressivo surgimento de cepas de bactérias multirresistentes é um problema com o qual a medicina e as políticas públicas têm que lidar atualmente, e diante disso se faz necessária a pesquisa por novas substâncias ativas, estimulando novas abordagens para tratar diferentes doenças infecciosas. Nesse aspecto, produtos naturais vêm ganhando espaço e notoriedade (WHO, 2014; NEWMAN et al., 2003).

A fitoterapia é um campo da medicina que usa plantas e seus princípios ativos para tratar doenças ou como agentes promotores de saúde. O seu uso, geralmente, preserva a composição e integridade da planta original, então é usada toda a planta ou a porcentagem desejada e minimamente alterada em preparações medicinais. Existem várias formas de uso dos fitoterápicos (FALZON; BALABANOVA, 2017).

A castanha de caju (*Anacardium occidentale*) fruta típica do Brasil e foi introduzida em outras partes do mundo com a intenção de conservação do solo. A plantação, atualmente, tem visado a extração da castanha, que tem um mercado já bem estabelecido nos Estados Unidos e na Europa e sua produção vem crescendo todos os anos. Em 2013, chegou a 4.44 milhões de toneladas. O pseudofruto é consumido *in natura*, ou sob a forma de sucos, chás e geleias (RABANY, 2015). Mais especificamente, é uma importante fonte de renda para a Região Nordeste do Brasil, com fazendas de plantio cobrindo cerca de 670.000 hectares, representando 99,5% do cultivo brasileiro. Sua produção ocorre na estação predominantemente seca, o que a favorece estrategicamente (OLIVEIRA, 2008).

A castanha de caju é composta de 35 a 45% pelo núcleo e 55 a 65 % da casca, que contém entre 15 a 30% um líquido viscoso de cor amarronzada chamado líquido da casca da castanha (LCC), que pode ser aproveitado pela indústria para diversas finalidades, ressaltando-se o fato que essa porção do fruto (casca) é geralmente descartado (MUBOFU; MGAYA, 2018). O LCC é um produto ainda pouco comercial, mas com grande potencial de exploração devido a sua constituição e diversos poderes biológicos como, antimicrobiano, anti-inflamatório, antitumoral, antioxidante e propriedade inseticidas (OLIVEIRA, 2010).

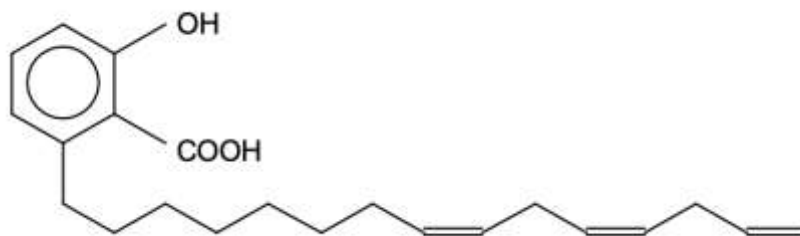
O LCC tem vários componentes, porém o ácido anacárdico (AA) é o elemento associado aos efeitos benéficos já descritos. A extração do LCC requer alguns cuidados pela presença de componentes tóxicos, uma vez que tipo de extração influencia em sua constituição. Quando realizado extração à frio contém aproximadamente 60 a 65 % de



AA, 15 a 20% de cardol, 10% de cardanol e outras substâncias em menores proporções. Quando realizada sob calor, o processo térmico conduz a descarboxilação do ácido anacárdico, o que no final do processo confere graus diferentes de dessaturação, sendo em torno de 5% saturado, 49% monoeno, 16% dieno e 30% trieno (SETIANTO et al., 2009).

O AA (Figura 2) consiste em uma molécula com regiões hidrofílicas e hidrofóbicas, e sua atividade antimicrobiana é descrita através da interação entre o comprimento da cadeia lateral hidrofóbica com o grupo hidroxila hidrofílico – a porção hidrofílica se liga a um hidrogênio intermolecular da membrana plasmática da célula-alvo e, logo após, a porção hidrofóbica é hábil a entrar na bicamada lipídica da membrana celular, causando seu rompimento (GREEN et al., 2007). Há alguns anos evidenciou-se que o AA é ativo contra bactérias gram-positivas, como *S. aureus*, *Streptococcus mutans* e *Brevibacterium ammoniagenes* (HIMEJIMA; KUBO, 1991). Em adição a isso, ainda foi observada atividade bactericida do AA contra cepas de *S. aureus* suscetíveis e resistentes a meticilina (FATMA; 2015). Em estudo combinado, onde o AA foi usado com bactericidas de uso padrão, revelou efeito sinérgico de ambos contra cepas de *S. aureus* (MUROI; KUBO, 1996).

Figura 2. Estrutura química do ácido anacárdico tri insaturado



Fonte: AGOSTINI-COSTA et al., 2005.

A prevenção contra a formação do biofilme pelo *S. aureus* é mais desejável que tratar a infecção já instalada. Apesar de já existirem vários antibióticos e antissépticos, como clindamicina, rifampicina, sulfadiazina de prata e clorexidina, que são usados contra a formação do biofilme, o processo de resistência microbiana já extensamente descrito na literatura, evidencia a necessidade de novos ativos que possam ser

empregados com a mesma finalidade (ZHOU et. al 2012 e SCHLETT et. al 2014). Mais recentemente, evidenciou-se a ação de AA contra a formação de biofilme pelo *S. aureus* (SAJEEVAN et al., 2018).

O campo da nanomedicina engloba a utilização de nanopartículas para diagnóstico e tratamento. Em geral, as nanopartículas são usadas como veículos para agentes com as mais diversas finalidades. Inúmeros materiais têm sido empregados nesta função como lipídeos, metais, silicone, polímeros, proteínas e outros. Eles podem resguardar a partícula ativa de barreiras impostas pelo próprio organismo, diminuir a sua depuração e aumentar a concentração da droga no tecido alvo (PAOLINO et al., 2014; SHEN et al., 2014). Nanopartículas são estruturas moleculares numa escala de 1-1000 nanômetros (1 nanômetro =  $10^{-9}$  metros), com o principal objetivo de transpor barreiras biológicas e servir como carreador para outras substâncias.

Como já descrito anteriormente, muitos antibióticos se mostram ineficientes ao tratamento de infecções causadas pelo *S. aureus* devido à suas estratégias de desenvolvimento de resistência, e a nanomedicina tem se mostrado uma emergente forma terapêutica para superar tais mecanismos, por suas habilidades de inibir a formação do biofilme, penetração na matriz do biofilme e ainda potencializar a atividade antimicrobiana do agente antibacteriano por ela carregado. As nanopartículas têm ainda a capacidade de se acumular passivamente em órgãos e sítios de infecção por suas características especiais como a nano dimensão (PARK et al., 2018; YAZAR et al., 2012).

A zeína é a maior proteína de armazenamento do milho (*Zeamays L.*), insolúvel em água e consiste em quatro frações alfa, beta, gama e delta. A presença de mais de 50% de resíduos apolares como leucina, alanina e fenilalanina conferem sua característica hidrofóbica. Suas nanopartículas têm sido descritas como superiores a diversas outras nanopartículas proteicas para carreamento de drogas lipofílicas e nutrientes, principalmente pela não solubilidade em água, fácil preparação, alta reprodutibilidade, com elevado potencial biodegradável e biocompatível. A zeína tem solubilidade de 50 a 90% em solução aquosa-alcoólica portanto nanopartículas podem ser facilmente formadas, por manipulação de sua solubilidade pelo método de dispersão líquido- líquido. Como carreadora de drogas, a zeína tem ainda as vantagens de baixo custo, de sua origem vir de recursos renováveis, e de seu grande potencial de interação com diversos componentes das mais diferentes formas (LUO; WANG, 2014).

### 3. JUSTIFICATIVA

Uma das complicações mais sérias da infecção relacionada ao cateter de hemodiálise é a infecção de corrente sanguínea que pode levar a sepse e conseqüentemente a morte. No censo brasileiro de diálise 2021 encontramos um aumento do número de pacientes em diálise, estimado em 148.363 pacientes e taxa bruta de mortalidade em diálise de 22,3%. Dos pacientes em terapia dialítica 23,9% utilizavam cateter (NERBASS, 2022).

É importante que sejam pesquisadas substâncias que tenham efeito biológico para evitar a formação do biofilme bacteriano através do revestimento do cateter de hemodiálise.

O ácido anacárdico tem efeito bactericida já demonstrado, assim como a potencialização do efeito antimicrobiano com o uso de nanopartículas carreadoras. É necessária a investigação da ação de nanopartículas de zeína carregadas com ácido anacárdico em biofilme de *S. aureus*, em cateteres de hemodiálise.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1. Objetivo geral

O objetivo deste estudo é analisar a ação antimicrobiana, *in vitro*, de uma solução de nanopartículas de zeína carregadas com ácido anacárdico impregnada em cateteres de poliuretato de hemodiálise frente à *Staphylococcus aureus*.

### 4.2. Objetivos específicos

- Analisar o halo de inibição utilizando cateteres de poliuretano retidos com nanopartículas de zeína carregadas com ácido anacárdico em placas de cultura bacteriana de *Staphylococcus aureus*.
- Analisar a atividade anti biofilme de nanopartículas de zeínas carregadas com ácido anacárdico frente a formação de biofilmes de *S. aureus* formados em cateteres de hemodiálise *in vitro*.
- Confeccionar um manual de boas práticas ao paciente com doença renal crônica em hemodiálise

## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1. Tipo de estudo e aspectos éticos

Este estudo trata-se de uma pesquisa experimental, laboratorial, *in vitro*. Esta pesquisa não utilizou seres vivos (ou partes de seres vivos).

### 5.2. Delineamento experimental

Os seguintes grupos experimentais foram testados nesse experimento:

- Grupo 1: solução hidroetanólica 35%
- Grupo 2: nanopartículas de zeína não carregadas com ácido anacárdico (AA)
- Grupo 3: nanopartículas de zeína carregadas com AA (9,337 µg/mL)
- Grupo 4: controle positivo com vancomicina 2,5mg/mL (MERMEL 2009)

Para o experimento que objetiva a avaliação da possível formação de halos de inibição (*screening*), três amostras de cada grupo foram utilizadas.

Para os experimentos em biofilmes, estes foram realizados em triplicata (três momentos experimentais diferentes), sendo 9 amostras para cada grupo (3 amostras para cada repetição).

### 5.3. Obtenção do ácido anacárdico (AA) e nanopartículas

As nanopartículas de zeína (Sigma-aldrich®, Saint Louis, Missouri) contendo AA (9,337 µg/ml) foram preparadas pela nanoprecipitação da proteína (ARAÚJO e SOUZA, 2020). Nanopartículas não carregadas com o ácido foram preparadas da mesma maneira, exceto pela ausência deste. A patente número BR n 10201701193 apresenta as características dessa formulação. O tamanho, índice de polidispersão (pdI), potencial z e pH para as nanopartículas carregadas com ácido são: 381,6nm ± 2,122, 0,067, -15,9mV e 4.95, respectivamente (LIMA et al, 2020).

### 5.4. Preparo dos cateteres e impregnação nas soluções

Segmentos do cateter de poliuretano (Biomedical Equipamentos e Produtos Médico-cirúrgicos, São Paulo, SP, Brasil) foram cortados em seções de 1 mm de diâmetro por 6 mm de comprimento. Em seguida, estes foram submetidos à esterilização em autoclave (121°C por 15 minutos). Os cateteres foram imersos nas soluções descritas

no item anterior por 5 minutos. Após a imersão, os cateteres foram imediatamente utilizados nos experimentos detalhados a seguir.

### **5.5.Preparo do inóculo**

*Staphylococcus aureus*, cepa ATCC 25923, foi utilizado como inóculo para os experimentos. Para tanto, *S. aureus* previamente estocados em BHI (brain heart infusion) glicerol 15% a  $-70^{\circ}\text{C}$ , foram primeiramente semeados em ágar sangue por 24h a  $37^{\circ}\text{C}$ , constituindo a placa estoque. Da placa estoque, foram retiradas 8-10 unidades formadoras de colônia (UFC) e estas foram transferidas para um tubo contendo 10 mL de BHI glicosado (glicose concentração final 1%). Os tubos permaneceram por 24h em estufa bacteriológica a  $37^{\circ}\text{C}$  (Adaptado de SIDRIM et al, 2017).

### **5.6.Ensaio de retenção das atividades antimicrobianas do AA impregnado em cateter em teste de ágar difusão (Screening)**

Após o preparo do inóculo, conforme descrito anteriormente, a suspensão de *S. aureus* foi ajustada para a concentração de  $1-2 \times 10^8$  UFC/mL, com auxílio de espectrofotômetro. Em seguida, 100  $\mu\text{l}$  dessa suspensão foram estriados em placas de BHI Ágar (Difco, Detroit, Michigan, USA). Os cateteres impregnados com as formulações descritas foram cuidadosamente colocados sobre a superfície do meio em posição horizontal. As placas foram então incubadas 24h a 144h (6 dias) a  $37^{\circ}\text{C}$  sob condições estáticas. Nos dias 1, 2, 3 e 6, as zonas de inibição foram medidas. (SHERERTZ et al. 1993; BASSETTI et al. 2001).

### **5.7.Ensaio de ação antimicrobiana do AA em biofilmes**

Após o preparo do inóculo (descrito no item 3.5), a suspensão de *S. aureus* foi ajustada para a concentração de  $15 \times 10^8$  UFC/mL.

Para a formação do biofilme, 875  $\mu\text{L}$  de caldo BHI glicosado (concentração final de glicose 1%) foi distribuído em cada poço de uma placa de 24 poços (12 poços por experimento) e em seguida foi adicionado, a cada poço, 125  $\mu\text{L}$  da suspensão previamente ajustada (dessa forma, a concentração final de microorganismos foi  $1-2 \times 10^8$  UFC/mL).

Em seguida, os cateteres (previamente imersos nas soluções teste conforme descrito no item 3.4) foram imersos nos poços contendo o caldo de cultura e essas placas foram armazenadas em estufa bacteriológica a 37 °C por 48h, sob agitação orbital.

Após este período, os cateteres foram delicadamente removidos da placa de 24 poços e transferidos para tubos de microcentrífuga contendo 1mL de solução salina 0,89%. Após agitação, a suspensão obtida foi diluída serialmente em solução salina 0,89% (1/10; 1/100; 1/1000; 1/10000; 1/100000) e semeadas em placas de BHI agar. Estas placas permaneceram em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas, para posterior contagem das UFC/mL.

### **5.8.Análise dos dados**

Os dados foram expressos em médias e desvios-padrões. Os dados do teste de ágar difusão foram expressos em milímetros. Estes dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, e foi realizado o teste ANOVA seguido de Tukey. Os dados dos experimentos em biofilme foram expressos em UFC/mL e transformados para logaritmo na base 10. Estes dados foram submetidos ao teste de normalidade Kolmogorov-Sminorf e foi realizado o teste ANOVA seguido de Tukey. Foi considerado o nível de significância  $p < 0,05$  e intervalo de confiança de 95%.

## 6. RESULTADOS

### 6.1. Análise da retenção das atividades antimicrobianas do AA impregnado em cateter em teste de ágar difusão (*screening*)

As medições dos halos de inibição foram realizadas após incubação das placas por 24h (D1), 48h (D2), 72h (D3) e 144h (D6). Os resultados estão detalhados nas tabelas abaixo. As imagens das placas dos testes de ágar difusão podem ser visualizadas no apêndice A.

Quadro 1. Análise da média dos halos de inibição formados após 24h (D1) de contato dos cateteres com as placas de *S. aureus* (dados expressos em mm).

|               | <b>Etanol</b> | <b>Nano branca</b> | <b>Ácido anacárdico</b> | <b>Vancomicina</b> |
|---------------|---------------|--------------------|-------------------------|--------------------|
| Amostra 1     | 0             | 0                  | 12                      | 18,5               |
| Amostra 2     | 0             | 0                  | 15                      | 12,5               |
| Amostra 3     | 0             | 0                  | 12,5                    | 14                 |
| <b>Média</b>  | 0             | 0                  | 13,75                   | 15                 |
| <b>Desvio</b> | 0             | 0                  | 1,25                    | 1,258              |
| <b>Padrão</b> |               |                    |                         |                    |

Legenda: **Etanol** – solução hidroetanólica a 35%; **Nano Branca** – nanopartículas de zeína não carregadas com ácido anacárdico; **Ácido Anacárdico** – nanopartículas de zeína carregadas com ácido anacárdico; **Vancomicina** – solução de vancomicina a 2,5mg/mL.

Apesar dos cateteres impregnados com vancomicina apresentarem um halo de inibição maior do que os halos apresentados pelo grupo ácido anacárdico (diferença de 1,25 mm), esta diferença não foi estatisticamente significativa ( $p=0.5996$ , teste ANOVA seguido de Tukey).



Quadro 2. Análise dos halos de inibição formados após 48h (D2) de contato dos cateteres com as placas de *S. aureus* (dados expressos em mm).

|                      | <b>Etanol</b> | <b>Nano branca</b> | <b>Ácido anacárdico</b> | <b>Vancomicina</b> |
|----------------------|---------------|--------------------|-------------------------|--------------------|
| Amostra 1            | 0             | 0                  | 12,5                    | 19                 |
| Amostra 2            | 0             | 0                  | 15                      | 12                 |
| Amostra 3            | 0             | 0                  | 12,5                    | 15                 |
| <b>Média</b>         | 0             | 0                  | 13,33                   | 15,33              |
| <b>Desvio padrão</b> | 0             | 0                  | 1,27                    | 1,83               |

Legenda: **Etanol** – solução hidroetanólica a 35%; **Nano Branca** – nanopartículas de zeína não carregadas com ácido anacárdico; **Ácido Anacárdico** – nanopartículas de zeína carregadas com ácido anacárdico; **Vancomicina** – solução de vancomicina a 2,5mg/mL

Apesar dos cateteres impregnados com vancomicina apresentarem um halo de inibição superior (maior) do que os halos apresentados pelo grupo ácido anacárdico (diferença de 2 mm), esta diferença não foi estatisticamente significativa ( $p=0.5932$ , teste ANOVA seguido de Tukey).

Quadro 3. Análise dos halos de inibição formados após 72h (D3) de contato dos cateteres com as placas de *S. aureus* (dados expressos em mm).

|                      | <b>Etanol</b> | <b>Nano branca</b> | <b>Ácido anacárdico</b> | <b>Vancomicina</b> |
|----------------------|---------------|--------------------|-------------------------|--------------------|
| Amostra 1            | 0             | 0                  | 13                      | 20                 |
| Amostra 2            | 0             | 0                  | 16                      | 12,5               |
| Amostra 3            | 0             | 0                  | 12,5                    | 15                 |
| <b>Média</b>         | 0             | 0                  | 13,83                   | 15,83              |
| <b>Desvio Padrão</b> | 0             | 0                  | 1,76                    | 1,73               |

Legenda: **Etanol** – solução hidroetanólica a 35%; **Nano Branca** – nanopartículas de zeína não carregadas com ácido anacárdico; **Ácido Anacárdico** – nanopartículas de zeína carregadas com ácido anacárdico; **Vancomicina** – solução de vancomicina a 2,5mg/mL

Apesar dos cateteres impregnados com vancomicina apresentarem um halo de inibição superior (maior) do que os halos apresentados pelo grupo ácido anacárdico (diferença de 2 mm), esta diferença não foi estatisticamente significativa ( $p=0.6720$ , teste ANOVA seguido de Tukey).

Quadro 4. Análise dos halos de inibição formados após 144h (D6) de contato dos cateteres com as placas de *S. aureus* (dados expressos em mm).

|                      | <b>Etanol</b> | <b>Nano branca</b> | <b>Ácido anacárdico</b> | <b>Vancomicina</b> |
|----------------------|---------------|--------------------|-------------------------|--------------------|
| Amostra 1            | 0             | 0                  | 12,5                    | 20                 |
| Amostra 2            | 0             | 0                  | 15                      | 12,5               |
| Amostra 3            | 0             | 0                  | 12,5                    | 14                 |
| <b>Média</b>         | 0             | 0                  | 13,33                   | 15,5               |
| <b>Desvio Padrão</b> | 0             | 0                  | 1,27                    | 1,5                |

Legenda: **Etanol** – solução hidroetanólica a 35%; **Nano Branca** – nanopartículas de zeína não carregadas com ácido anacárdico; **Ácido Anacárdico** – nanopartículas de zeína carregadas com ácido anacárdico; **Vancomicina** – solução de vancomicina a 2,5mg/mL

Apesar dos cateteres impregnados com vancomicina apresentarem um halo de inibição superior (maior) do que os halos apresentados pelo grupo ácido anacárdico (diferença de 2,17 mm), esta diferença não foi estatisticamente significativa ( $p=0.6118$ , teste ANOVA seguido de Tukey).

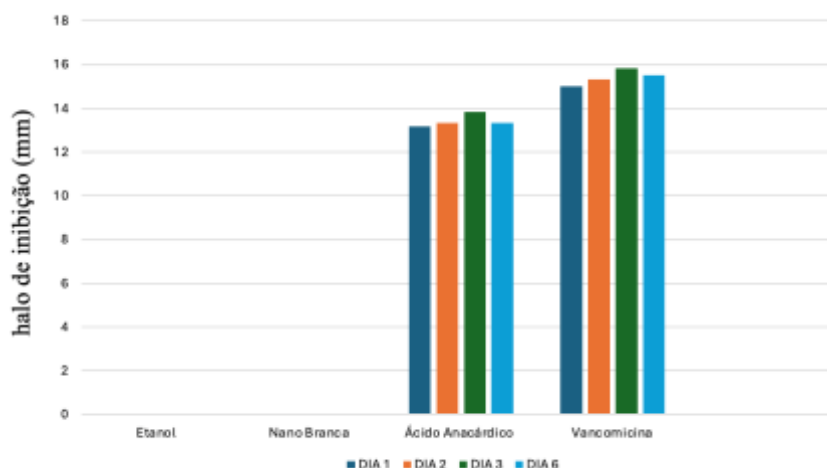
Quadro 5. Média dos valores das medições da leitura do halo de inibição nos dias D1, D2, D3 e D6 (dados expressos em mm).

|              | <b>Etanol</b> | <b>Nano Branca</b> | <b>Ácido Anacárdico</b> | <b>Vancomicina</b> |
|--------------|---------------|--------------------|-------------------------|--------------------|
| <b>DIA 1</b> | 0             | 0                  | 13,16                   | 15                 |
| <b>DIA 2</b> | 0             | 0                  | 13,33                   | 15,33              |
| <b>DIA 3</b> | 0             | 0                  | 13,83                   | 15,83              |
| <b>DIA 6</b> | 0             | 0                  | 13,33                   | 15,5               |

Legenda: **Etanol** – solução hidroetanólica a 35%; **Nano Branca** – nanopartículas de zeína não carregadas com ácido anacárdico; **Ácido Anacárdico** – nanopartículas de zeína carregadas com ácido anacárdico; **Vancomicina** – solução de vancomicina a 2,5mg/mL

Os resultados da retenção da atividade antimicrobiana em cateteres impregnados com nanopartículas de ácido anacárdico e vancomicina, ao longo de 6 dias, estão mostrados na Figura 3.

Figura 3. Análise da retenção, ao longo de 6 dias, da atividade antimicrobiana de cateteres após uma única imersão nas formulações, frente à *S. aureus*



Legenda: **Etanol** – solução hidroetanólica a 35%; **Nano Branca** – nanopartículas de zeína não carregadas com ácido anacárdico; **Ácido Anacárdico** – nanopartículas de zeína carregadas com ácido anacárdico; **Vancomicina** – solução de vancomicina a 2,5mg/mL

## 6.2. Análise da atividade antimicrobiana do AA impregnado em cateter na inibição da formação de biofilmes de *S. aureus*.

Para os resultados do efeito das formulações na viabilidade celular de biofilmes de *S. aureus*, observamos que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos que usaram etanol, nano branca e ácido anacárdico na contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC/mL) ( $p > 0,05$ ). Entretanto, o grupo que usou vancomicina, foi diferente dos demais grupos ( $p < 0,0001$ ).

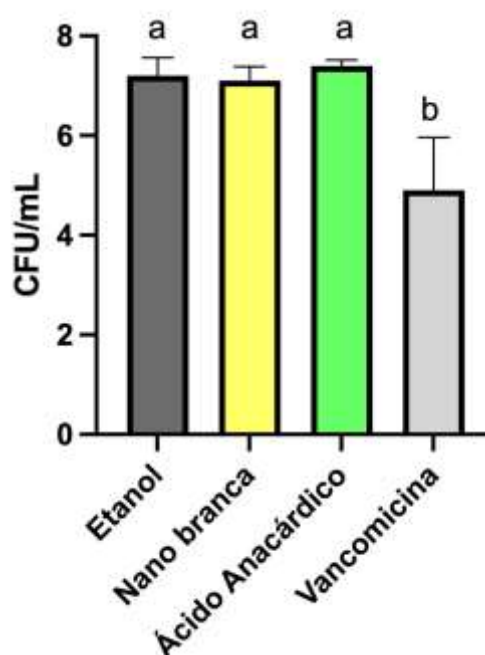
Quadro 6. Viabilidade celular (UFC/mL) de *S. aureus* em biofilmes formados em cateteres de poliuretano após contato com as formulações. Dados expressos em logaritmo na base 10.

|           | <b>Etanol</b> | <b>Nano branca</b> | <b>Ácido anacárdico</b> | <b>Vancomicina</b> |
|-----------|---------------|--------------------|-------------------------|--------------------|
| Amostra 1 | 7,322         | 7,028              | 7,361                   | 6,753              |
| Amostra 2 | 7,583         | 7,204              | 7,568                   | 5,414              |
| Amostra 3 | 7,462         | 6,636              | 7,374                   | 4,937              |
| Amostra 4 | 7,263         | 7,113              | 7,467                   | 4,204              |
| Amostra 5 | 6,985         | 7,176              | 7,392                   | 4,028              |
| Amostra 6 | 6,602         | 7,477              | 7,204                   | 4,091              |

|                      |       |       |       |       |
|----------------------|-------|-------|-------|-------|
| <b>Média</b>         | 7,203 | 7,106 | 7,394 | 4,905 |
| <b>Desvio Padrão</b> | 0,357 | 0,275 | 0,121 | 1,058 |

Legenda: **Etanol** – solução hidroetanólica a 35%; **Nano branca** – nanopartículas de zeína não carregadas com ácido anacárdico; **Ácido anacárdico** – nanopartículas de zeína carregadas com ácido anacárdico; **Vancomicina** – solução de vancomicina a 2,5mg/mL

Figura 4. Gráfico com os resultados de viabilidade celular de *S. aureus* em biofilmes (média e desvio-padrão). Dados expressos em logaritmo na base 10. Letras iguais representam grupos estatisticamente iguais. Nível de significância  $p < 0,05$ .



Legenda: **Etanol** – solução hidroetanólica a 35%; **Nano branca** – nanopartículas de zeína não carregadas com ácido anacárdico; **Ácido anacárdico** – nanopartículas de zeína carregadas com ácido anacárdico; **Vancomicina** – solução de vancomicina a 2,5mg/mL

## 7. DISCUSSÃO

No presente estudo, observamos a ação antimicrobiana *in vitro* de nanopartículas de zeína carregadas com ácido anacárdico (AA) impregnadas em cateteres de hemodiálise. Para este propósito, dois estudos foram conduzidos – um teste de halo de inibição e um modelo de biofilme. Os efeitos desta formulação foram testados contra *Staphylococcus aureus*, frequentemente associado a infecções relacionadas a cateteres e ao desenvolvimento de resistência bacteriana (ESPOSITO, 2013).

A escolha do material cateter de hemodiálise neste estudo se deu pelo impacto da utilização de cateter venoso central (CVC) em infecções hematológicas e os desafios impostos pela resistência antimicrobiana no tratamento dessas infecções são significativos, levando ao aumento dos riscos de sepse e desfechos adversos para os pacientes. CVCs são essenciais no manejo de pacientes com condições hematológicas, mas também representam um risco substancial para infecções da corrente sanguínea (PANSE et al, 2022). Além disso, a presença de CVCs foi identificada como um fator significativo associado à mortalidade em pacientes com doenças hematológicas, onde 90% das infecções primárias decorrem da presença desses dispositivos, e a resistência antimicrobiana complica sobremaneira o tratamento, elevando o risco de sepse e a morbimortalidade do paciente (GÖKÇEBAY et al, 2016).

Nesse sentido, a resistência antimicrobiana representa um desafio substancial para a comunidade de saúde global, particularmente quando associada à utilização de CVCs. Essa resistência pode surgir de tendências globais de resistência microbiana, profilaxia inadequada ou não adesão do paciente às práticas de cuidados adequados (MENEGUETI et al., 2017).

Nesta investigação, cateteres impregnados com nanopartículas de AA demonstraram zonas de inibição bacteriana até 6 dias após a impregnação, sem diferenças estatisticamente significativas em comparação aos cateteres revestidos com vancomicina, destacando suas propriedades antimicrobianas. Quanto a essa atividade do ácido anacárdico, resultados semelhantes também foram observados contra cepas de *S. aureus* resistentes à metilicina (SAMR) (MUROI e KUBO, 1996).

O AA, derivado da castanha de caju (*Anacardium occidentale*), tem sido objeto de intensa investigação nas diversas áreas da medicina, devido aos efeitos medicinais identificados em várias enfermidades e sistemas orgânicos. Além de sua capacidade de inibição de histonas acetiltransferases e propriedades antioxidantes, relatos indicam

atividade anti-carcinogênica, inibição da via NF- $\kappa$ B, propriedades anti-inflamatórias, bem como efeitos antimicrobianos e antiparasitários. Essas últimas propriedades têm sido particularmente evidenciadas em relação ao SAMR, diversas bactérias cutâneas, incluindo *S. aureus*, o fungo *Pythium vexans* e o *Mycobacterium tuberculosis* (SUNG et al., 2008). Ademais, o AA já demonstrou inibição da bomba de efluxo NorA de *S. aureus*, envolvida na resistência a antibióticos (LIMA et al, 2023).

Uma distinção notável do presente estudo reside na utilização de nanopartículas de zeína carregadas com AA. Isso pode ter conferido maior durabilidade ao efeito antimicrobiano dos cateteres impregnados com ácido anacárdico no presente estudo. Um estudo anterior, que utilizou uma concentração de ácido anacárdico 25 vezes maior (não incorporada em nanopartículas), observou um efeito sustentado da droga apenas até o 4º dia, diferentemente do presente estudo, onde este efeito foi observado até o 6º dia (SAJEEVAN et al, 2018). As nanopartículas de zeína têm sido amplamente pesquisadas e empregadas como carreadores de vários medicamentos antimicrobianos, incluindo remédios herbais (KAMALEDDIN et al, 2017).

Uma preocupação em relação à impregnação de ácido anacárdico em cateteres é a potencial toxicidade, especialmente para as células sanguíneas. Cateteres de silicone impregnados com ácido anacárdico não revelaram atividade hemolítica significativa e foram citocompatíveis com a linha celular de fibroblastos (L929) (SAJEEVAN et al, 2018). A toxicidade das nanopartículas de zeína carregadas com ácido anacárdico já foi analisada anteriormente, e nenhuma alteração histopatológica relevante ou genotoxicidade foi observada quando administradas por 7 dias consecutivos (ARAUJO et al, 2020).

Este estudo demonstrou que cateteres revestidos com ácido anacárdico não exibiram resultados significativos na inibição da formação de unidades formadoras de colônias (UFC) em biofilmes maduros de *S. aureus* quando comparados aos grupos tratados com solução hidroetanólica 35% ou nanopartículas de zeína não carregadas com AA. Apenas cateteres revestidos com vancomicina exibiram uma redução estatisticamente significativa na viabilidade bacteriana de *S. aureus*. Vale destacar que os cateteres foram imersos nas soluções uma única vez, logo antes da formação do biofilme. Este resultado contrasta com um estudo anterior, que observou um efeito antibiofilme do AA impregnado em cateteres de silicone, embora utilizando concentrações de ácido de 0,25 g/mL (25 vezes maior que a concentração usada no presente estudo) (SAJEEVAN et al. 2018). No caso de infecções envolvendo biofilmes de *S. aureus*, um desafio

específico reside na penetração limitada de antibióticos devido a mecanismos intrínsecos da bactéria. O *S. aureus* utiliza exopolissacarídeos como barreira de difusão, diminuindo a taxa de absorção de antibióticos (ESPOSITO et al., 2013). Também foi observado que o biofilme contribui para a sobrevivência intracelular de *S. aureus* e, portanto, pode contribuir para infecções crônicas (OYAMA et al, 2016).

O AA apresenta maior eficácia contra a forma planctônica, mas exerce influência limitada em biofilmes pré-existentes. Consequentemente, sua aplicabilidade clínica pode ser mais adequada para a profilaxia antimicrobiana em CVCs, enfatizando o papel fundamental dos fatores de risco modificáveis na prevenção de infecções sistêmicas relacionadas a cateteres.

## 8. CONCLUSÃO

Concluimos que o ácido anacárdico incorporado em nanopartículas de zeína apresenta atividade antimicrobiana frente à *Staphylococcus aureus*, e que cateteres impregnados com esta solução apresentaram retenção de suas propriedades antimicrobianas. Entretanto, o mesmo efeito não foi observado em biofilmes de *S. aureus* formados em cateteres de poliuretano. Mais estudos devem ser realizados, a fim de analisar o efeito dessa formulação em regimes de múltiplas imersões, uma vez que no presente estudo, os cateteres entraram em contato com as formulações em apenas um único momento.



## REFERÊNCIAS

ARAÚJO, J. T. C. *et al.* Toxicological and genotoxic evaluation of anacardic acid loaded-zein nanoparticles in mice. **Toxicology Reports**, [s.l.], v. 7, p. 1207-1215, 2020.

ARCHER, Nathan K; ARCHER, N.K., MAZAITIS, M.J., COSTERTON, J.W., LEID, J.G., POWERS, M.E. and SHIRTLIFF, M.E. Staphylococcus aureus biofilms: properties, regulation, and roles in human disease. **Virulence**, [s.l.], v. 2, n. 5, p. 445-459, 2011.

ATHERIKUL, Kraikerk; SCHWAB, Steve J.; CONLON, Peter J. Adequacy of haemodialysis with cuffed central-vein catheters. **Nephrology, dialysis, transplantation: official publication of the European Dialysis and Transplant Association-European Renal Association**, [s.l.], v. 13, n. 3, p. 745-749, 1998.

BASSETTI, Stefano *et al.* Prolonged antimicrobial activity of a catheter containing chlorhexidine-silver sulfadiazine extends protection against catheter infections in vivo. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, [s.l.], v. 45, n. 5, p. 1535-1538, 2001.

BOUCHILLON, Sam *et al.* Fluoroquinolone resistance among gram-negative urinary tract pathogens: global smart program results, 2009-2010. **The open microbiology journal**, [s.l.], v. 6, p. 74, 2012.

DAUGIRDAS, John T. Dialysis dosing for chronic hemodialysis: beyond Kt/V. In: **Seminars in Dialysis**, [s.l.], 2014. p. 98-107.

DRENKARD, Eliana. Antimicrobial resistance of Pseudomonas aeruginosa biofilms. **Microbes and infection**, [s.l.], v. 5, n. 13, p. 1213-1219, 2003.

ENEGUETI, Mayra Gonçalves; BETONI, Natália Cristina; BELLISSIMO-RODRIGUES, Fernando; ROMÃO, Elen Almeida. Central venous catheter-related infections in patients receiving short-term hemodialysis therapy: incidence, associated factors, and microbiological aspects. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s.l.], v. 50, n. 6, p. 783-787, dez. 2017.

ENE-IORDACHE, Bogdan *et al.* Chronic kidney disease and cardiovascular risk in six regions of the world (ISN-KDDC): a cross-sectional study. **The Lancet Global Health**, [s.l.], v. 4, n. 5, p. e307-e319, 2016.

ESPOSITO, S. *et al.* Central venous catheter-related biofilm infections: An up-to-date focus on meticillin-resistant Staphylococcus aureus. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, [s.l.], v. 1, n. 2, p. 71-78, 2013.

GALLIENI, Maurizio *et al.* Dialysis central venous catheter types and performance. **The Journal of Vascular Access**, [s.l.], v. 15, supl. 7, p. 140-146, 2014.

GOKCEBAY, Dilek Gurlek *et al.* CANDIDA ASSOCIATED BLOODSTREAM INFECTIONS IN PEDIATRIC HEMATOLOGY PATIENTS: single center experience. **Mediterranean Journal Of Hematology And Infectious Diseases**, [s.l.], v. 8, p. 2016018, 1 mar. 2016.

GREEN, I. R *et al.* Molecular design of anti-MRSA agents based on the anacardic acid scaffold. **Bioorg Med Chem**, [s.l.], v.15. p. 6236–6241. 2007.

HAMAD, Fatma B.; MUBOFU, Egid B. Potential biological applications of bio-based anacardic acids and their derivatives. **International Journal of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 16, n. 4, p. 8569-8590, 2015.

HANNA, Hend *et al.* Comparative in vitro efficacies and antimicrobial durabilities of novel antimicrobial central venous catheters. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [s.l.], v. 50, n. 10, p. 3283-3288, 2006

HETEM, David J. *et al.* Preventing *Staphylococcus aureus* bacteremia and sepsis in patients with *Staphylococcus aureus* colonization of intravascular catheters: a retrospective multicenter study and meta-analysis. **Medicine**, [s.l.], v. 90, n. 4, p. 284-288, 2011.

HILL, Nathan R. *et al.* Global prevalence of chronic kidney disease—a systematic review and meta-analysis. **PLoS one**, [s.l.], v. 11, n. 7, p. e0158765, 2016

HIMEJIMA, Masaki; KUBO, Isao. Antibacterial agents from the cashew *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) nut shell oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s.l.], v. 39, n. 2, p. 418-421, 1991.

HOLLAND, Thomas L.; ARNOLD, Christopher; FOWLER, Vance G. Clinical management of *Staphylococcus aureus* bacteremia: a review. **Jama**, [s.l.], v. 312, n. 13, p. 1330-1341, 2014.

JHA, Vivekanand *et al.* Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. **The Lancet**, [s.l.], v. 382, n. 9888, p. 260-272, 2013.

JHEE, Jong H. *et al.* Prevalence of depression and suicidal ideation increases proportionally with renal function decline, beginning from early stages of chronic kidney disease. **Medicine**, [s.l.], v. 96, n. 44, 2017

KAMALEDDIN, Mohammad Amin. Nano-ophthalmology: applications and considerations. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, [s.l.], v. 13, n. 4, p. 1459-1472, 2017.

KOSA, S. Daisy; LOK, Charmaine E. The Economics of Hemodialysis Catheter-Related Infection Prophylaxis. In: **Seminars in dialysis**, [s.l.], 2013. p. 482-493.

LEVEY, Andrew S. *et al.* A new equation to estimate glomerular filtration rate. **Annals of internal medicine**, [s.l.], v. 150, n. 9, p. 604-612, 2009

LIMA, P. *et al.* Inhibition of NorA efflux pump of *Staphylococcus aureus* by anacardic acids isolated from the cashew nutshell liquid of *Anacardium occidentale* L. **Fundamental and Clinical Pharmacology**, [s.l.], v.37, n. 4, p. 824-832, 2023.

LIMA, R. A. *et al.* Antimicrobial effect of anacardic acid-loaded zein nanoparticles loaded on *Streptococcus mutans* biofilms. **Brazilian Journal of Microbiology**, [s.l.], v. 51, n. 4, p. 1623-1630, 2020.

LISTER, Jessica L.; HORSWILL, Alexander R. Staphylococcus aureus biofilms: recent developments in biofilm dispersal. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, [s.l.], v. 4, p. 178, 2014

LIU, Xiaoyang; IBARRA-SÁNCHEZ, Laura; MILLER, Maricel; LEE, Yonghui. Fabrication of zein-modified starch nanoparticle complexes via microfluidic chip and encapsulation of nisin. **Current Research in Food Science**, [s.l.], v. 5, p. 1110-1117, 2022.

LOK, Charmaine E. et al. KDOQI clinical practice guideline for vascular access: 2019 update. **American Journal of Kidney Diseases**, [s.l.], v. 75, n. 4, p. S1-S164, 2020.

LUO, Yangchao; TENG, Zhaoyang; WANG, Qin. Development of zein nanoparticles coated with carboxymethyl chitosan for encapsulation and controlled release of vitamin D3. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s.l.], v. 60, n. 3, p. 836-843, 2012.

LUO, Yangchao; WANG, Qin. Zein-based micro-and nano-particles for drug and nutrient delivery: A review. **Journal of Applied Polymer Science**, [s.l.], v. 131, n. 16, 2014

MERMEL, Leonard A. *et al.* Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Intravascular Catheter-Related Infection: 2009 update by the infectious diseases society of america. **Clinical Infectious Diseases**, [s.l.], v. 49, n. 1, p. 1-45, 1 jul. 2009.

MILLER, D. L.; O'GRADY, N. P. Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections: Recommendations relevant to interventional radiology for venous catheter placement and maintenance. **J Vasc Interv Radiol**, [s.l.], v.23. p.997–1007. 2012.

MUROI, H.; KUBO, I. Antibacterial activity of anacardic acid and totarol, alone and in combination with methicillin, against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. **J Appl Bacteriol**, [s.l.], v.80. p.387–394. 1996.

NERBASS FB, Lima H do N, Moura-Neto JA, Lugon JR, Sesso R. Brazilian Dialysis Survey 2022. **Braz J Nephrol**, [s.l.], 2024;46(2):e20230062.

NERBASS, F. B., Lima, H. do N., MOURA-NETO, J. A., LUGON, J. R., & Sesso, R.. (2024). Brazilian Dialysis Survey 2022. **Brazilian Journal of Nephrology**, [s.l.], 46(2), e20230062.

NOMURA, Sadahiro et al. Adhesion of staphylococci to polymers with and without immobilized heparin in cerebrospinal fluid. **Journal of biomedical materials research**, [s.l.], v. 38, n. 1, p. 35-42, 1997.

OTTO, M. Staphylococcal biofilms. **Curr Top Microbiol Immunol**, [s.l.], v.322. p.207–228. 2008.

OYAMA, T. *et al.* Biofilm-Forming Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Survive in Kupffer Cells and Exhibit High Virulence in Mice. **Toxins**, [s.l.], v. 8, n. 7, p. 198, 30 jun. 2016.

PANSE, J. *et al.* Scheduled removal of central venous catheters (CVC) to prevent CVC-related bloodstream infections in patients with hematological disease or autologous stem cell transplantation: a registry-based randomized simulation-study. **Annals Of Hematology**, [s.l.], v. 101, n. 10, p. 2317-2324, 17 ago. 2022.

PAOLINO, D.; COSCO, D.; GASPARI, M *et al.* Targeting the thyroid gland with thyroid stimulating hormone (TSH)-nanoliposomes. **Biomaterials**, [s.l.], v. 35. p.7101–7109. 2014.

PARK, S. B *et al.* Proteomic analysis of antimicrobial effects of pegylated silver coated carbon nanotubes in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. **J Nanobiotechnology** [s.l.], v. 16. p.1. 2018.

RAVANI, Pietro *et al.* Associations between hemodialysis access type and clinical outcomes: a systematic review. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 24, n. 3, p. 465-473, 2015.

SAJEEVAN, S. E *et al.* Impregnation of catheters with anacardic acid from cashew nut shell prevents *Staphylococcus aureus* biofilm development. **J Appl Microbiol**, [s.l.], 2018.

SCHWARTZ, Kelly *et al.* Extracellular DNA facilitates the formation of functional amyloids in *S taphylococcus aureus* biofilms. **Molecular microbiology**, [s.l.], v. 99, n. 1, p. 123-134, 2016.

SHEN, J.; KIM, H. C.; SU, H *et al.* Cyclodextrin and polyethylenimine functionalized mesoporous silica nanoparticles for delivery of siRNA cancer therapeutics. **Theranostics**, [s.l.], v. 4. p. 487–497. 2014.

SHERERTZ, Robert J. *et al.* Efficacy of antibiotic-coated catheters in preventing subcutaneous *Staphylococcus aureus* infection in rabbits. **Journal of Infectious Diseases**, [s.l.], v. 167, n. 1, p. 98-106, 1993.

SIDRIM, José Júlio Costa *et al.* Promethazine improves antibiotic efficacy and disrupts biofilms of *Burkholderia pseudomallei*. **Biofouling**, [Abingdon], v. 33, n. 1, p. 88-97, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27936915/> . Acesso em 14 Dez. 2023.

SINGHA, P.; LOCKLIN, J.; HANDA, H. A review of the recent advances in antimicrobial coatings for urinary catheters. **Acta Biomater.** [s.l.], v.50. p.20-40. 2017.

SOHAIL, Mohammad Ahsan; VACHHARAJANI, Tushar J.; ANVARI, Evamaria. Central venous catheters for hemodialysis—the myth and the evidence. **Kidney International Reports**, [s.l.], v. 6, n. 12, p. 2958-2968, 2021

SOUSA, F; ARAÚJO, J. Nanopartículas de ácido anacárdico extraído do caju e seu uso como agente bactericida e larvicida. *Número do registro: BR n 10201701193*. **Universidade Federal do Amapá**. 2017.

STEVENS, Paul E.; LEVIN, Adeera; Kidney disease: improving global outcomes chronic kidney disease guideline development work group members. Evaluation and management of chronic kidney disease: synopsis of the kidney disease: improving

global outcomes 2012 clinical practice guideline. **Annals of internal medicine**, [s.l.], v. 158, n. 11, p. 825-830, 2013

SUN, Yuchen; FREEMAN, Katrina; MCHENRY, Matthew; WANG, Cheng; GUO, Mingruo. Enhanced stability and oral bioavailability of cannabidiol in zein and whey protein composite nanoparticles by a modified anti-solvent approach. **Foods**, [s.l.], v. 11, n. 3, p. 376, 2022.

SUNG, B.; PANDEY, M. K.; AHN, K. S. et al. Anacardic acid (6-nonadecyl salicylic acid), an inhibitor of histone acetyltransferase, suppresses expression of nuclear factor-kappaB-regulated gene products involved in cell survival, proliferation, invasion, and inflammation through inhibition of the inhibitory subunit of nuclear factor-kappaBalpha kinase, leading to potentiation of apoptosis. **Blood**, [s.l.], v. 111, n. 10, p. 4880-4891, 2008.

THOMER, Lena; SCHNEEWIND, Olaf; MISSIAKAS, Dominique. Pathogenesis of Staphylococcus aureus bloodstream infections. **Annual review of pathology**, [s.l.], v. 11, p. 343, 2016

WEBSTER, Angela C. et al. Chronic kidney disease. **The Lancet**, [s.l.], v. 389, n. 10075, p. 1238-1252, 2017.

YAZAR, E. et al. Determination of intracellular (neutrophil and monocyte) concentrations of free and liposome encapsulated ampicillin in sheep. **Veterinarni Medicina**, [s.l.], v. 51, n. 2, p. 51, 2006

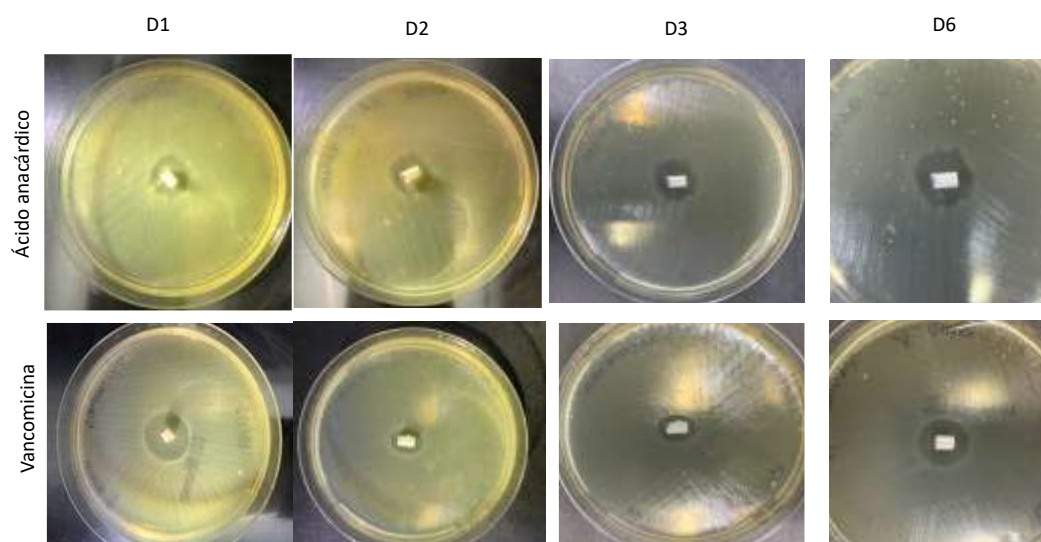
ZHANG, Bo; LUO, Yangchao; WANG, Qin. Development of silver-zein composites as a promising antimicrobial agent. **Biomacromolecules**, [s.l.], v. 11, n. 9, p. 2366-2375, 2010.

ZHANG, Li; KEOGH, Samantha; RICKARD, Claire M. Reducing the risk of infection associated with vascular access devices through nanotechnology: a perspective. **International journal of nanomedicine**, [s.l.], v. 8, p. 4453, 2013

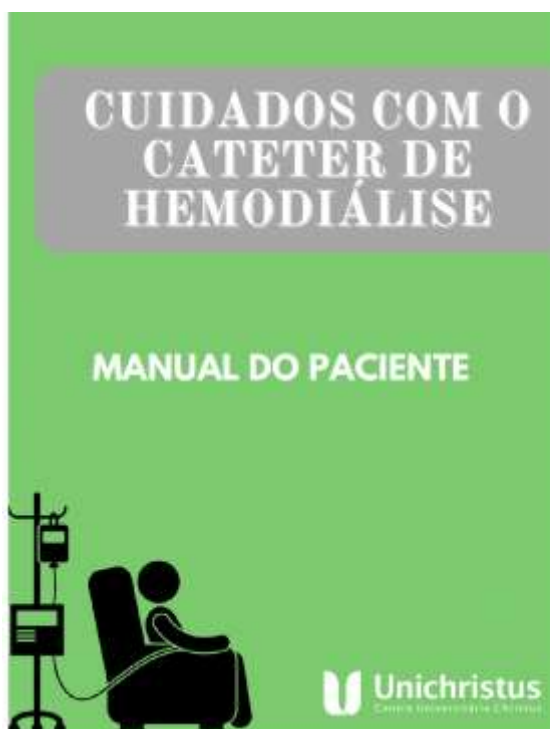
## APÊNDICES

APÊNDICE A - Imagens do teste de ágar-difusão (Screening) após 1 (D1), 2 (D2), 3 (D3) e 6 (D6).

Imagens do teste de ágar-difusão (Screening) após 1 (D1), 2 (D2), 3 (D3) e 6 (D6) dias de contato dos cateteres com as placas de *S. aureus*, para os grupos Ácido anacárdico e Vancomicina (Os grupos Etanol e Nano Branca não evidenciaram halo de inibição).



## APÊNDICE B - CUIDADOS COM O CATETER DE HEMODIÁLISE – MANUAL DO PACIENTE



Neste manual você encontrará orientações gerais de como você deve cuidar do seu cateter de hemodiálise. A sua saúde depende não só dos profissionais de saúde, mas é necessário sua ajuda e cooperação para que seu tratamento seja o melhor possível. O cuidado exige uma atenção especial ao manejo do cateter

5

## INTRODUÇÃO

A hemodiálise permite que as toxinas do seu corpo e o excesso de água sejam retirados, sendo responsável por dar ao paciente uma boa qualidade de vida

O cateter de hemodiálise é a porta de entrada e saída do sangue durante o tratamento. Neste momento em que ele é utilizado é necessário uma atenção especial a fim de evitar infecções, não apresente complicações e tenha uma maior durabilidade

6

## INTRODUÇÃO

A **infecção** é uma das principais complicações de quem realiza hemodiálise. Infecção grave pode levar a **internamentos**, **sepse** e até o risco de **morte**

São necessários cuidados especiais para um bom **tratamento**

7

## SUMÁRIO

|                                 |    |
|---------------------------------|----|
| CURATIVO                        | 9  |
| HIGIENE PESSOAL                 | 10 |
| SANGRAMENTO                     | 11 |
| DESLOCAMENTO DO CATETER         | 12 |
| CUIDADOS GERAIS                 | 13 |
| BUSCA POR AJUDA                 | 14 |
| AO DORMIR                       | 15 |
| MOVIMENTOS COM O CATÉTER        | 16 |
| VESTIMENTAS ADEQUADAS           | 17 |
| OBJETIVOS DO CATÉTER            | 18 |
| O QUE NÃO UTILIZAR              | 19 |
| MISSÃO                          | 20 |
| OBSERVAÇÃO DE SINAIS E SINTOMAS | 21 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS      | 23 |

8



**1** **FOCO NO CURATIVO!**

DEVE SEMPRE ESTAR SECO, LIMPO E FECHADO



9

**2** **MANTENHA A HIGIENE PESSOAL**

PENSOU EM MANIPULAR O CATETER? LAVE BEM AS MÃOS ANTES E POSTERIORMENTE APÓS O TOQUE NO MATERIAL



10

**3** **EM CASO DE SANGRAMENTO**

LIGUE PARA OS PROFISSIONAIS DA CLÍNICA EM QUE VOCÊ É CADASTRADO SOLICITANDO A TROCA IMEDIATA DO CURATIVO



11

**4** **EM CASO DE DESLOCAMENTO DO CATETER**

NÃO REINTRODUZA. PROCURE IMEDIATAMENTE O SERVIÇO MÉDICO



12

**5** NÃO MOLHAR

NÃO DEIXE ENTRAR EM CONTATO COM A ÁGUA DURANTE OS BANHOS, SEJA DE MAR, RIO OU PISCINA



13

**6** PROCURE O SERVIÇO DE SAÚDE

CASO MOLHE O CURATIVO, COMUNIQUE AOS PROFISSIONAIS HABILITADOS PARA REALIZAR A TROCA



14

**7** CUIDADOS DURANTE O SONO

EVITE DORMIR SOBRE E DO DO MESMO LADO QUE SE ENCONTRA O CATETER



15

**8** NÃO REALIZE MANOBRAS

NÃO APERTE, NÃO PUXE, NÃO DOBRE



16

**9** **VESTIMENTA IDEAL**

EVITE ROUPAS APERTADAS E ACESSÓRIOS SOBRE O CATETER, POIS PODEM AUMENTAR A CHANCE DE PUXAR, DOBRAR OU MUDAR A POSIÇÃO ADEQUADA E OCASIONAR SANGRAMENTO



17

**10** **CATETER DE HEMODIÁLISE**

O CATETER NÃO DEVE SER UTILIZADO PARA COLETA DE SANGUE LABORATORIAL OU INFUSÃO DE MEDICAMENTOS EM LOCAIS QUE NÃO SEJA A CLÍNICA EM QUE REALIZA O PROCEDIMENTO



18

**11** **SE DÚVIDAS, BUSQUE POR RECOMENDAÇÕES**

NÃO COLOQUE MEDICAMENTO, POMADA, CREME, LOÇÃO OU GEL, INADEQUADAS NO CURATIVO

**INADEQUADAS**



19

**12** **MISSÃO !**

TODOS OS DIAS OBSERVE O ASPECTO DO CATETER E DA PELE AO REDOR. FIQUE ATENTO A SINAIS DE INFECÇÃO COMO VERMELHIDÃO, INCHAÇO, DOR, CALOR OU SECREÇÃO



20

**13** **ATENÇÃO!**

TEMPERATURA AFERIDA COM O TERMÔMETRO  $\geq 37,8$ -FEBRE

CALAFRIOS MAL ESTAR

LIGUE PARA A CLÍNICA DE HEMODIÁLISE

21

**FIM!!!!**

22

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- LOK, CHARMINE E. ET AL. KDOQI CLINICAL PRACTICE GUIDELINE FOR VASCULAR ACCESS: 2019 UPDATE. AMERICAN JOURNAL OF KIDNEY DISEASES, V. 75, N. 4, P. 51-5164, 2020.
- MILLER, D. L.; O'GRADY, N. P. GUIDELINES FOR THE PREVENTION OF INTRAVASCULAR CATHETER-RELATED INFECTIONS: RECOMMENDATIONS RELEVANT TO INTERVENTIONAL RADIOLOGY FOR VENOUS CATHETER PLACEMENT AND MAINTENANCE. J VASC INTERV RADIOL. V.23. P.997-1007. 2012.
- RAVANI, PIETRO ET AL. ASSOCIATIONS BETWEEN HEMODIALYSIS ACCESS TYPE AND CLINICAL OUTCOMES: A SYSTEMATIC REVIEW. JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF NEPHROLOGY, V. 24, N. 3, P. 465-473, 2013.
- SOHAIL, MOHAMMAD AHSAN; VACHHARAJANI, TUSHAR J.; ANVARI, EVAMARIA. CENTRAL VENOUS CATHETERS FOR HEMODIALYSIS—THE MYTH AND THE EVIDENCE. KIDNEY INTERNATIONAL REPORTS, V. 6, N. 12, P. 2958-2968, 2021.
- NEVES JUNIOR MA DAS, MELO RC, GOES JUNIOR AM DE O, PROTTA TR, ALMEIDA CC DE, FERNANDES AR, ET AL.. INFECÇÕES EM CATETERES VENOSOS CENTRAIS DE LONGA PERMANÊNCIA: REVISÃO DA LITERATURA. J VASC BRAS [INTERNET]. 2010;9(1):46-50.
- CAIS DP, TURRINI RNT, STRABELLI TMV. INFECÇÕES EM PACIENTES SUBMETIDOS A PROCEDIMENTO HEMODIÁLITICO: REVISÃO SISTEMÁTICA. REV BRAS TER INTENSIVA [INTERNET]. 2009;JUL;21(3):269-75.
- CRÉDITOS IMAGENS:  
IMAGEM: FLATICON.COM

23

**DÚVIDAS?**

LIGUE PARA A SUA CLÍNICA DE HEMODIÁLISE

24

APÊNDICE C - MANUSCRITO ENVIADO PARA REVISTA ADVANCED  
HEALTHCARE MATERIALS

**Antimicrobial Activity of Zein Nanoparticles Loaded with Anacardic Acid in  
*Staphylococcus Aureus* Biofilm in Hemodialysis Catheters**

*Mário L Pontes, Melissa M P Nascimento, João V P Freitas, Érica P A Brasileiro,  
Francisco F O Sousa and Ramille A Lima\**

M. L. Pontes , M.S.

Christus University Center ,133 Adolfo Gurgel Street, Cocó, Fortaleza- CE, 60190-180,  
Brazil

Address line 1, Address line 2, postcode, Country

M. M P. Nascimento, M.S.

University of Fortaleza, 1321 Washington Soares Avenue, Edson Queiroz, Fortaleza -  
CE, 60811-905, Brazil

J.V. P. Freitas, Undergraduate Student

Christus University Center,133 Adolfo Gurgel Street, Cocó, Fortaleza- CE, 60190-180,  
Brazil

Érica P A Brasileiro, D.D.S

Christus University Center,133 Adolfo Gurgel Street, Cocó, Fortaleza- CE, 60190-180,  
Brazil

F.F.O. Sousa, PhD

Federal University of Amapa, Department of Biological and Health Sciences, 2  
Juscelino Kubitscheck Road, Jd. Marco Zero, 68903-419, Macapá - AP, Brazil

R.A Lima, DDS, PhD

Christus University Center - 133 Adolfo Gurgel Street, Cocó, Fortaleza- CE, 60190-180, Brazil

E-mail: [ramille.lima@unichristus.edu.br](mailto:ramille.lima@unichristus.edu.br)

**Keywords:** Staphylococcus aureus, Catheter-related infections, Phytotherapies, Anacardium occidentale, Nanomedicine.

**Abstract:** Catheter-related infections range from 1.1 to 5.5 episodes per 1000 days of usage, and *Staphylococcus aureus* is the most common agent. Anacardic acid (AA) is a phenolic lipid extracted from cashew nut shell oil, which has already demonstrated antimicrobial action against gram-positive bacteria. Zein nanoparticles have been described as superior to several others for carrying lipophilic drugs and nutrients. This study had analyzed the antimicrobial action of a zein nanoparticles solution loaded with anacardic acid impregnated in catheters against *S. aureus*, *in vitro*. Four groups were tested: 35% hydroethanolic solution; Zein nanoparticles + Hydroethanolic solution; Nanoparticle + Hydroethanolic solution + AA (9.337 µg/mL); and a positive control group (2.5mg/mL Vancomycin). As a result of the screening test, there was no statistical difference between the AA and Vancomycin groups (inhibition zones greater than 10mm, in all analyzed periods). Analysis of the antimicrobial activity in the inhibition of biofilm formation showed only the Vancomycin group was different from the other groups, with a statistically significant reduction ( $p < 0.0001$ ). In conclusion, AA incorporated into zein nanoparticles exhibits antimicrobial activity against *S. aureus* in screening tests, and catheters impregnated with this solution retain their antimicrobial properties.

## 1. Introduction

There is a concern regarding the morbidity, mortality and hospitalization rates resulting from catheter-related infections [1,2]. As for the risk of infection, catheter-related infection tends to be more prevalent than infection in other vascular access types used in hemodialysis, ranging from 1,1 to 5,5 episodes per 1000 days of access [3].

*Staphylococcus aureus* is the main bacteremia-causing microorganism, with a yearly rate of 4.3 to 38.2 cases per 100,000 people in the United States [4]. In the bloodstream, *S. aureus* is the major involved microorganism [5] and *S. aureus* biofilm is particularly related to antibiotic resistance and host defense molecules. In clinical practice, *S. aureus* biofilms are found on catheter surfaces, which are greatly resistant to antibiotics [6]. Catheters and other biomaterials, after being implanted in the organism, are coated with plasma and proteins from the extracellular matrix, such as fibrinogen, thrombospondin and vitronectin [7]. *S. aureus* is capable of bonding with proteins which coat the catheter, at which point the biofilm is formed through attachment, accumulation and dispersal [8].

The gradual appearance of multidrug-resistant strains of bacteria is a problem, creating the need to research new active substances, promoting novel approaches to treating different infectious diseases. Thus, natural products have become more notorious in this space [9].

The cashew nut (*Anacardium occidentale*) is native to Brazil and was introduced to other parts of the world with the goal of soil conservation. Between 35% and 45% of the cashew nut makes up the nucleus and 55% to 65% the shell. 15–30% of the shell contains a viscous, brownish liquid [10]. CNSL is still a weak commercial product, but has great potential for exploration due to its constitution and wide range of biological capabilities such as antimicrobial, anti-inflammatory, antitumor, antioxidant and insecticidal properties [11].

CNSL has multiple components, but anacardic acid (AA) is the element associated with the aforementioned beneficial effects. AA consists of a molecule with hydrophilic and hydrophobic regions, and its antimicrobial action is described through the interaction between the length of the hydrophobic lateral chain with the hydrophilic hydroxyl group — the hydrophilic portion bonds to an intermolecular hydrogen from the target cell's plasma membrane and, immediately after, the hydrophobic portion is able to enter the

lipid bilayer of the cell membrane, causing it to rupture [12]. It was shown that AA is active against gram-positive bacteria, such as *S. aureus*, *Streptococcus mutans* and *Brevibacterium ammoniagenes* [13]. Additionally, bactericidal activity of AA against *S. aureus* strains vulnerable to or resistant against medicine has been observed [14]. In a combined study in which AA was used alongside standard-use bactericides, a synergistic effect against *S. aureus* strains was revealed [15].

The field of nanomedicine includes the use of nanoparticles for diagnostic and treatment purposes. In general, nanoparticles are used as carriers for agents with a variety of purposes. Many antibiotics are ineffective in treating infections caused by *S. aureus* due to its resistance-developing strategies, and nanomedicine has shown itself as a rising form of therapy to overcome such mechanisms due to its ability to inhibit the formation of biofilm, penetrate its matrix and increase antimicrobial activity of the antibacterial agent it carries [16,17]. Zein is the major storage protein of corn (*Zea mays* L.). Its protein nanoparticles have been described as superior to many others for carrying lipophilic drugs and nutrients, especially due to its non-solubility in water, easy preparation, high reproducibility, and high biodegradable and biocompatible potential. As a drug carrier, zein has yet the advantages of low cost, having a renewable source origin, and having great potential for interaction with various components in different ways [18].

The substantial economic and human burdens associated with *S. aureus* infections have underscored the necessity for researching and assessing potential novel strategies for prevention and prophylaxis in central venous catheters that are both more efficacious and thoroughly supported by scientific evidence. This way, the current study aims to evaluate the *in vitro* antimicrobial effect of AA loaded in zein nanoparticles impregnated in hemodialysis catheters against *S. aureus* [19].

## **2. Experimental Section**

### **2.1 Study Design**

This is an experimental *in vitro* study. The following experimental groups were tested: group 1 (hydroethanolic solution 35%), group 2 (zein nanoparticles), group 3 (zein nanoparticles + anacardic acid 9,337 µg/mL), and group 4 (positive control with vancomycin 2,5mg/mL) [20].



To evaluate the formation of inhibition zones (agar diffusion test), three samples from each group were used [21].

Experiments on biofilms were performed in three technical replicates, with 9 samples for each group (3 samples/group/replicate).

## **2.2 Obtention of Anacardic Acid and nanoparticles**

Anacardic Acid (AA) was obtained and purified from the oleoresin extracted by cold solvent from dried cashew shells of *A. occidentale* according to the method proposed by Trevisan et al. [22] and purity-checked using  $^1\text{H}$  (NMR).

The zein nanoparticles (Sigma-aldrich®, Saint Louis, Missouri) containing A (9.337  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) were prepared by nanoprecipitation of the protein [21]. Nanoparticles not containing the acid were prepared the same way except for its absence. Patent number BR 10201701193 presents the characteristics of this formula. Size, polydispersity (PI), zeta potential and pH for the acid-charged nanoparticles are  $381.6\text{nm} \pm 2.122$ , 0.067, -15,9mV and 4.95 respectively; and  $376.5 \pm 3.951$ , 0.137, +6.56mV, and 5.67 for zein nanoparticles not loaded. [23].

## **2.3 Preparation of catheters and immersion in solutions**

Segments of the polyurethane catheter (Biomedical Equipamentos e Produtos Médico-cirúrgicos, São Paulo, SP, Brazil) were sliced into 6 mm long sections with a diameter of 1 mm. Afterwards, these were submitted to steam sterilization sterilization ( $121^\circ\text{C}$  for 15 minutes). Catheters were immersed in the solutions described previously for 5 minutes. After immersion, the catheters were immediately used in the experiments.

## **2.4 Inoculum preparation**

*Staphylococcus aureus*, strain ATCC 25923, was used as inoculum. For this, *S. aureus* previously stored in BHI (brain heart infusion) broth with 15% glycerol ( $-80^\circ\text{C}$ ) were firstly seeded in blood agar plates for 24 hours at  $37^\circ\text{C}$ . From this plate, 8-10 colony-forming units (CFU) were removed and transferred to a tube containing 10 mL of BHI-glucose (final glucose concentration 1%). Tubes remained 24h in the incubator at  $37^\circ\text{C}$ .

## **2.5 Test of the retention of antimicrobial activity by AA coating in catheters in agar diffusion tests**

After preparation of the inoculum as previously described, the *S. aureus* suspension was adjusted to a concentration of  $1-2 \times 10^8$  UFC/mL. Afterward, 100  $\mu$ l of this suspension was streaked onto BHI agar plates (Difco, Detroit, Michigan, USA). Catheters coated in the described solutions were carefully placed over the medium surface in the horizontal position.

The plates were then incubated from 24 to 144 hours (6 days) at 37°C under static conditions. On days 1, 2, 3 and 6, the inhibition zones were measured [24,25]. An inhibition zone of  $\geq 14$  mm was considered to indicate that the inoculum was sensitive to the tested solution; in cases where the zones were  $\leq 12$  mm, it was considered that the inoculum was resistant to the solution [26].

## **2.6 Test of antimicrobial action by AA on biofilms**

After the inoculum preparation as described before, *S. aureus* suspension was adjusted to the concentration of  $15 \times 10^8$  CFU/mL. To form the biofilm, 875  $\mu$ l of BHI-glucose broth (final glucose concentration 1%) was distributed in each well of a 24-well plate (12 plates per experiment), then 125  $\mu$ l of the previously adjusted suspension was added to each well; this way, the final microorganism concentration was  $1-2 \times 10^8$  CFU/mL. Afterward, the catheters (previously immersed in the test solutions as described in item 3.4) were submerged in the wells containing the broth culture, and these plates were stored in an incubator at 37°C for 48 hours, under orbital agitation [21].

Following this period, the catheters were gently removed from the 24-well plate and transferred to microcentrifuge tubes containing 1mL of 0.89% saline solution. After agitation, the suspension obtained was serially diluted in 0.89% saline solution (1/10; 1/100; 1/1000; 1/10000; 1/100000) and planted in BHI agar plates. The plates remained in the incubator at 37°C for 24 hours for posterior counting of CFU/mL.

## 2.7 Data analysis

Data were expressed in averages and standard deviations. Data from the agar diffusion test were expressed in millimeters. These data were submitted to the Shapiro–Wilk test of normality, and ANOVA followed by Tukey’s test were performed. Data from the experiments on biofilm were expressed in CFU/mL and converted to  $\log_{10}$ . These data were submitted to the Kolmogorov–Smirnov test of normality, and ANOVA followed by Tukey’s test were performed. Significance level was considered  $p < 0.05$  and the confidence interval 95%.

## 3. Results

### 3.1 Analysis of the retention of antimicrobial activity by AA coating in catheters in agar diffusion tests

Zone of inhibition measurements were made after incubating the plates for 24 hours (Day 1), 48 hours (Day 2), 72 hours (Day 3) and 144 hours (Day 6) (Table 1).

The catheters previously immersed in hydroethanolic solution and zein nanoparticle solution (containing no anacardic acid) did not display any zone of bacterial growth inhibition on any of the analyzed days, indicating the lack of antimicrobial effect of these solutions against *S. aureus*.

Overall, Vancomycin group showed a larger inhibition halo throughout the days than Anacardic acid group but this difference was not statistical significant (24h,  $p=0.59$ ; 48h,  $p=0.59$ ; 72h,  $p=0.67$ ; 144h,  $p=0.61$ ).

Table 1. Analysis of inhibition zone after 24, 48, 72 and 144 hours of contact with the catheters on *S. aureus* plates.

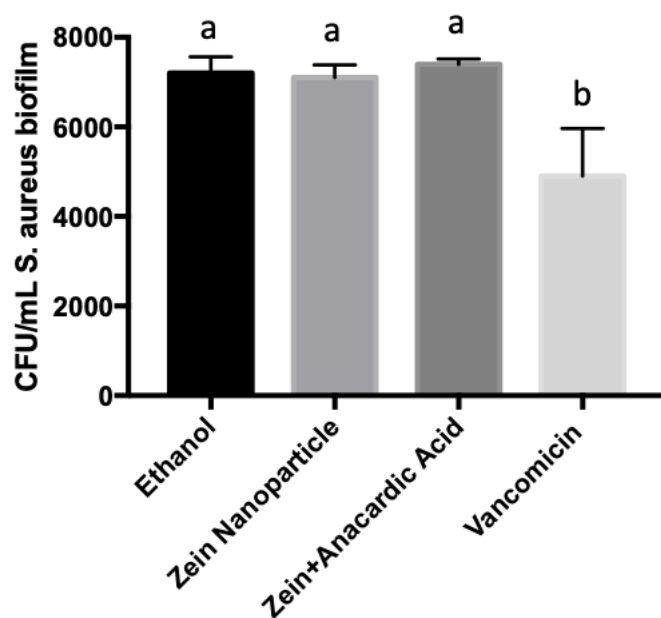
| Groups                | 24h              | 48h              | 72h              | 144h             |
|-----------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Ethanol               | $0 \pm 0$        | $0 \pm 0$        | $0 \pm 0$        | $0 \pm 0$        |
| Zein nanoparticles    | $0 \pm 0$        | $0 \pm 0$        | $0 \pm 0$        | $0 \pm 0$        |
| Zein + anacardic acid | $13,73 \pm 1,25$ | $13,33 \pm 1,27$ | $13,83 \pm 1,76$ | $13,33 \pm 1,27$ |
| Vancomycin            | $15 \pm 1,25$    | $15,33 \pm 1,83$ | $15,83 \pm 1,73$ | $15,55 \pm 1,50$ |

Ethanol: 35% hydroethanolic solution; Zein Nanoparticle: Zein nanoparticles + Hydroethanolic solution; Anacardic Acid: Nanoparticle + Hydroethanolic solution + Anacardic Acid (9.337  $\mu\text{g/mL}$ ); Vancomycin: 2.5mg/mL Vancomycin

### 3.2 Analysis of the antimicrobial action by AA covering catheters on the inhibition of biofilm formation by *S. aureus*

Regarding the impact of the solutions on the cellular viability of *S. aureus* biofilms, there was no significant difference in colony-forming units/mL (CFU/mL) analysis among the ethanol, zein nanoparticle, and zein nanoparticle + anacardic acid groups ( $p > 0.05$ ). However, the vancomycin group exhibited a distinct response compared to the other groups ( $p < 0.0001$ ) (Figure 1).

Figure 1. Cellular vitality (UFC/mL) of *S. aureus* biofilms formed in polyurethane catheters after exposure to the tested solutions (Data expressed in Log 10).



## 4. Discussion

In the present study, we observed the *in vitro* antimicrobial action of zein nanoparticles loaded with anacardic acid (AA) impregnated in hemodialysis catheters. For this purpose, two studies were conducted – a screening test and a biofilm model. The

effects of this formulation were tested against *Staphylococcus aureus*, often associated with catheter-related infections and the development of bacterial resistance [27]. This resistance can arise from global trends in microbial resistance, inadequate prophylaxis, or patient non-adherence to proper care practices [29]. In this context, AA has previously demonstrated inhibition of the NorA efflux pump of *S. aureus*, which is involved in antibiotic resistance [28].

The impact of central venous catheter (CVC) utilization on hematological infections and the challenges posed by antimicrobial resistance in treating these infections venous catheters are crucial in managing patients with hematological conditions but also represent a substantial risk for bloodstream infections [29]. Moreover, the presence of CVCs has been identified as a significant factor associated with mortality in patients with hematological diseases [30].

In the current study, catheters impregnated with AA nanoparticles demonstrated bacterial inhibition zones up to 6 days after impregnation, without statistically significant differences compared to catheters coated with vancomycin, underscoring their antimicrobial properties. Regarding this activity of anacardic acid, similar results were also observed against methicillin-resistant *S. aureus* strains [15].

A noteworthy distinction of the present study lies in the utilization of zein nanoparticles loaded with AA. This may have conferred greater durability of the antimicrobial effect to the catheters impregnated with anacardic acid in the present study. A previous study, which used a concentration of anacardic acid 25 times higher (not incorporated into nanoparticles), observed a sustained effect of the drug only up to the 4th day, unlike the present study, where this effect was observed up to the 6th day [21]. Zein nanoparticles have been extensively researched and employed as carriers for various antimicrobial medications, including herbal remedies [31].

A concern regarding the impregnation of anacardic acid in catheters is a potential toxicity, especially to blood cells. Anacardic acid-impregnated silicon catheters revealed no significant haemolytic activity and were cytocompatible against fibroblast cell line (L929) [21]. The toxicity of zein nanoparticles loaded with anacardic acid has been previously analyzed, and no relevant histopathological changes or genotoxicity were observed when administered for 7 consecutive days [32].

This study has demonstrated that catheters coated with anacardic acid do not exhibit significant outcomes in inhibiting colony-forming unit (CFU) formation within *S. aureus* mature biofilms when compared to groups treated with a 35% hydroethanolic

solution or zein nanoparticles not-loaded AA. Only catheters coated with vancomycin displayed a statistically significant reduction in the bacterial viability of *S. aureus*. It is noteworthy that the catheters were immersed in the solutions once, just before the formation of the biofilm.

The results of the biofilm assay in the present research contrast with a previous study, which observed an antibiofilm effect of AA impregnated in silicone catheters, albeit using acid concentrations of 0.25g/mL (25 times higher than the concentration used in the present study). [21]. In the case of infections involving *S. aureus* biofilms, a specific challenge lies in the limited penetration of antibiotics due to mechanisms intrinsic to the bacterium. *S. aureus* employs exopolysaccharides as a diffusion barrier, diminishing the absorption rate of antibiotics [27]. It was also seen that the biofilm contributes to intercellular survival of *S. aureus* and, therefore, may contribute to chronic infections [33].

AA exhibits greater efficacy against the planktonic form but exerts limited influence on pre-existing biofilms. Consequently, its clinical applicability may be more suited for prophylaxis and antimicrobial activity in CVCs, emphasizing the pivotal role of modifiable risk factors in preventing systemic catheter-related infections.

## 5. Conclusion

Anacardic acid incorporated into zein nanoparticles exhibits antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, and catheters coated with this solution retained their antimicrobial properties. However, the same effect was not observed in *S. aureus* biofilms formed on polyurethane catheters. Further studies are needed to analyze the effect of this formulation under multiple immersion regimes and higher concentrations.

## Acknowledgements

We thank The Foundation for the Support of Scientific and Technological Development in Ceará (FUNCAP) for the scholarship granted to the author J.V. P. Freitas.

Received: ((will be filled in by the editorial staff))

Revised: ((will be filled in by the editorial staff))

Published online: ((will be filled in by the editorial staff))

## References

- [1] Kosa SD, Lok CE. The Economics of Hemodialysis Catheter-Related Infection Prophylaxis. *Semin Dial.* **2013**, 26(4), 482-493.
- [2] Ziegler MJ, Pellegrini DC, Safdar N. Attributable mortality of central line associated bloodstream infection: systematic review and meta-analysis. *Infection.* **2015**, 43(1), 29-36. doi:10.1007/s15010-014-0689-y.
- [3] Ravani P, et al. Associations between hemodialysis access type and clinical outcomes: a systematic review. *J Am Soc Nephrol.* **2013**, 24 (3), 465-473.
- [4] Holland TL, Arnold C, Fowler VG. Clinical management of Staphylococcus aureus bacteremia: a review. *Jama.* **2014**, 312 (13), 1330-1341.
- [5] Thomer L, Schneewind O, Missiakas D. Pathogenesis of Staphylococcus aureus bloodstream infections. *Annu Rev Pathol.* **2016**, 11, 343.
- [6] Otto M. Staphylococcal biofilms. *Curr Top Microbiol Immunol.* **2008**, 322, 207-228.
- [7] Nomura S, et al. Adhesion of staphylococci to polymers with and without immobilized heparin in cerebrospinal fluid. *J Biomed Mater Res.* **1997**, 38 (1), 35-42.
- [8] Lister JL, Horswill AR. Staphylococcus aureus biofilms: recent developments in biofilm dispersal. *Front Cell Infect Microbiol.* **2014**, 4, 178.
- [9] Newman DJ, Cragg GM, Snader KM. Natural products as sources of new drugs over the period 1981–2002. *J Nat Prod.* **2003**, 66, 1022–1037.
- [10] Mubofu EB, Mgaya JE. Chemical valorization of cashew nut shell waste. *Top Curr Chem.* **2018**.
- [11] OLIVEIRA, M. S. C., et al. Antioxidant, larvicidal and antiacetylcholinesterase activities of cashew nut shell liquid constituents. *Acta Trop.* **2010**.
- [12] GREEN, I. R., et al. Molecular design of anti-MRSA agents based on the anacardic acid scaffold. *Bioorg Med Chem.* **2007**, 15, 6236–6241.

- [13] HIMEJIMA, Masaki; KUBO, Isao. Antibacterial agents from the cashew *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) nut shell oil. *J Agric Food Chem.* **1991**, *39* (2), 418-421.
- [14] HAMAD, Fatma B.; MUBOFU, Egid B. Potential biological applications of bio-based anacardic acids and their derivatives. *Int J Mol Sci.* **2015**, *16* (4), 8569-8590.
- [15] MUROI, H.; KUBO, I. Antibacterial activity of anacardic acid and totarol, alone and in combination with methicillin, against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J Appl Bacteriol.* **1996**, *80*, 387–394.
- [16] PARK, S. B., et al. Proteomic analysis of antimicrobial effects of pegylated silver coated carbon nanotubes in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *J Nanobiotechnology.* **2018**, *16*, 1.
- [17] YAZAR, E., et al. Determination of intracellular (neutrophil and monocyte) concentrations of free and liposome encapsulated ampicillin in sheep. *Vet Med.* **2006**, *51* (2), 51.
- [18] LUO, Yangchao; WANG, Qin. Zein-based micro-and nano-particles for drug and nutrient delivery: A review. *J Appl Polym Sci.* **2014**, *131*(16).
- [19] Cai Y, Zhu M, Sun W, Cao X, Wu H. Study on the cost attributable to central venous catheter-related bloodstream infection and its influencing factors in a tertiary hospital in China. *Health Qual Life Outcomes.* **2018**, *16* (1), 198.
- [20] Mermel LA, Allon M, Bouza E, Craven DE, Flynn P, O'Grady NP, Raad II, Rijnders BJ, Sherertz RJ, Warren DK. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* **2009**, Jul 1; *49*(1):1-45.
- [21] Sajeevan SE, et al. Impregnation of catheters with anacardic acid from cashew nut shell prevents *Staphylococcus aureus* biofilm development. *J Appl Microbiol.* **2018**.
- [22] Trevisan, M. T. S., Pfundstein, B., Haubner, R., Würtele, G., Spiegelhalder, B., Bartsch, H., & Owen, R. W. (2006). Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. *Food and Chemical toxicology*, *44*(2), 188-197.
- [23] Lima RA, et al. Antimicrobial effect of anacardic acid-loaded zein nanoparticles loaded on *Streptococcus mutans* biofilms. *Braz J Microbiol.* **2020**, *51*(4), 1623-1630.
- [24] Sherertz RJ, et al. Efficacy of antibiotic-coated catheters in preventing subcutaneous *Staphylococcus aureus* infection in rabbits. *J Infect Dis.* **1993**, *167*(1), 98-106.
- [25] Bassetti S, et al. Prolonged antimicrobial activity of a catheter containing chlorhexidine-silver sulfadiazine extends protection against catheter infections in vivo. *Antimicrob Agents Chemother.* **2001**, *45* (5), 1535-1538.
- [26] B. Premanand, S. Thiyagarajan, S. Thangavelu, S. Mohammed Ali, FSA George, *Cureus*, **2023**, Oct.



bal Antimicrob Resist, **2013**, *1*(2), 71-78.

[28] P. Lima, H. Nascimento, J. Sousa, F. Oliveira, G. Lemos, J. Barreto, H. Barreto, *Fundamental and Clinical Pharmacology*, **2023**, *37* (4), 824-832. <https://doi.org/10.1111/fcp.12887>

[29] J. Panse, D. Tölle, E. Fiegle, J. Naendrup, M. Schmidt-Hieber, B. Böll, E. Schalk, *Annals of Hematology*, **2022**, *101*(10), 2317-2324. <https://doi.org/10.1007/s00277-022-04958-w>

[30] D. G. Gökçebay, N. Yaralı, P. Işık, C. Bayram, A. Özkaya-Parlakay, A. Kara, B. Tunç, *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*, **2016**, *8*, 2016018. <https://doi.org/10.4084/mjhid.2016.018>

[31] M. A. Kamaledin, *Nanomedicine: Nanotechnology Biology and Medicine*, **2017**, *13*(4), 1459-1472.

[32] J. T. C. Araújo, L. A. Lima, E. P. Vale, M. Martin-Pastor, R. A. Lima, P. G. B. Silva, F. F. O. Sousa, *Toxicol Rep*, **2020**, *7*, 1207-1215. doi: 10.1016/j.toxrep.2020.08.024. PMID: 32995295; PMCID: PMC7502790.

[33] T. Oyama, M. Miyazaki, M. Yoshimura, T. Takata, H. Ohjimi, S. Jimi, *Toxins (Basel)*, **2016**, *8*(7), 198. doi: 10.3390/toxins8070198. PMID: 27376326; PMCID: PMC