

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 18/08/2021.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



PG-BGA

SÍNTESE DE NANOEMULSÃO E NANOPARTÍCULA DE OURO
(AuNPs) CONTENDO NISINA E SEUS EFEITOS SOBRE OS
FATORES DE VIRULÊNCIA DE *Staphylococcus aureus*

ALESSANDRA FURLANETTO

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências,
Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título
de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia
Geral e Aplicada, Área de concentração: Biologia de
parasitas e micro-organismos

Professor Associado Ary Fernandes Junior

**BOTUCATU – SP
2020**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Julio de Mesquita Filho”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

SÍNTESE DE NANOEMULSÃO E NANOPARTÍCULA DE OURO
(AuNPs) CONTENDO NISINA E SEUS EFEITOS SOBRE OS
FATORES DE VIRULÊNCIA DE *Staphylococcus aureus*

ALESSANDRA FURLANETTO

PROF. ASSOCIADO ARY FERNANDES JUNIOR

DRA. FERNANDA CRISTINA BÉRGAMO ALVES

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências,
Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título
de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biologia
Geral e Aplicada, Área de concentração: Biologia de
parasitas e micro-organismos

Professor Associado Ary Fernandes Junior

**BOTUCATU – SP
2020**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Furlanetto, Alessandra.

Síntese de nanoemulsão e nanopartícula de ouro (AuNPs) contendo nisina e seus efeitos sobre os fatores de virulência de *Staphylococcus aureus* / Alessandra Furlanetto. - Botucatu, 2020

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Ary Fernandes Júnior

Coorientador: Fernanda Cristina Bérghamo Alves

Capes: 20100000

1. *Staphylococcus aureus*. 2. Nanotecnologia. 3. Farmacorresistência bacteriana. 4. Antibióticos peptídios. 5. Fatores de virulência.

Palavras-chave: Fatores de virulência; Nanotecnologia; Peptídeos antimicrobianos; Resistência bacteriana; *Staphylococcus aureus*.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter permitido que eu tivesse essa oportunidade, me ajudando a alcançar meus objetivos e que com certeza me ajudou nas minhas dificuldades.

Aos meus pais, Cyntia Maria Diehl e Antonio Furlanetto, que são a minha base e minha inspiração. Sem o apoio deles, com certeza não teria chegado onde cheguei e não teria me tornado a pessoa que me tornei. Nenhum agradecimento será o suficiente para expressar a gratidão que eu sinto por eles.

Ao meu namorado, Luís Felipe da Silva, que nunca deixou de estar do meu lado e me apoiar nesses 2 anos e 7 meses que estamos juntos. Por mais que tenhamos nossos altos e baixos, nunca deixou de me ajudar, de me apoiar, de me AMAR. Não sei o que seria de mim sem o seu companheirismo e amor. Eu te amo!

Aos meus amigos de laboratório: Ana Flávia, Alessandra Sani, Luciana Lyra e Pedro Bernardino. Com certeza sem vocês eu não teria realizado um terço do meu trabalho. Principalmente à Ana Flávia, obrigada por toda a ajuda desses anos, por todas as risadas (que não foram poucas), pela nossa viagem pro Chile, pelos docinhos do Giga e principalmente por toda a paciência, não deve ter sido fácil!

À Mariana Albano, que mesmo que eu não tenha tido muito tempo de convívio no laboratório como as outras meninas tiveram, me ensinou muito, tanto da área acadêmica quanto da vida. Desejo sempre muito sucesso pra você independentemente de onde estiver, seja nos Estados Unidos, no Brasil ou em qualquer outro lugar do mundo! Obrigada por tudo, Mari.

Aos meus amigos de Botucatu e da vida: Júlia Abbade, Bárbara Campos Jorge, Rafael Belleti, Carolina Campos e Isabela Ferraz. Ter vocês comigo aqui em Botucatu desde 2014 é um dos maiores presentes que a vida pôde ter me dado. Por mais que na Pós-Graduação cada um tenha seguido um caminho diferente e por isso seja difícil nos vermos sempre que nem antes, ter vocês aqui em Botucatu ainda já me traz um alívio e uma segurança por saber que vocês sempre estarão aqui por mim, e eu sempre estarei aqui por vocês. Em Botucatu ou em qualquer outro lugar do mundo! Eu amo vocês.

Aos meus colegas de trabalho do CDI do Hospital das Clínicas, tanto os biomédicos como a equipe de enfermagem, obrigada pela parceria e pela amizade que construímos. A gente trabalha pra caramba, mas sempre dá tempo de rirmos um pouco e de nos divertirmos. O trabalho é cansativo, mas ter a companhia de vocês deixa as coisas mais fáceis (mas tem dias que nem Deus ajuda!).

À minha co-orientadora Fernanda C. Bérghamo Alves, que desde antes do mestrado me ensinou tanto, e agora mesmo não estando mais no nosso laboratório, não mede esforços para me ajudar. Obrigada, Fer, por todo o ensinamento (que não foi pouco), por toda a ajuda, seja do mestrado ou mesmo da vida, e principalmente por toda a paciência. Sem você do meu lado nessa fase eu não teria realizado o meu trabalho, com certeza. Você é um anjo em forma de gente!

À Prof^a Carla dos Santos Riccardi, que entrou nesse desafio junto comigo para me ajudar e ensinar sobre nanoemulsões e nanopartículas, assunto que eu nunca nem tinha ouvido falar antes do mestrado. Obrigada por toda a ajuda, ensinamento, paciência e por ter escutado inúmeras vezes as minhas angústias pelos meus resultados não estarem saindo como eu desejava. Nunca vou esquecer de uma dessas vezes, em que me acalmou e disse que tudo daria certo, era só questão de tempo e paciência. E no fim, estava certa. Obrigada por tudo, Professora!

Ao meu orientador, Prof^o Ary Fernandes Júnior, por toda a amizade desses anos, desde o ano de 2015 quando nos conhecemos e quando resolvi que queria fazer Iniciação Científica no laboratório. Um orientador e um amigo que com certeza nunca esquecerei! Obrigada Professor, por toda a ajuda acadêmica e também da vida, obrigada por sempre me escutar (mais uma vez, minhas angústias) e me aconselhar. Não teria como eu ter sido orientada por outro professor. Muito obrigada por tudo, todos esses anos!

A todos os funcionários do Departamento de Microbiologia e Imunologia do IB e aos funcionários do Laboratório Central da FCA, muito obrigada por fazerem com que tenha sido possível eu realizar o meu trabalho! Vocês foram essenciais para essa conquista.

Resumo

O aumento no número de bactérias multirresistentes aos fármacos antibacterianos tradicionais é preocupação de saúde pública e tem motivado pesquisas na busca por antimicrobianos alternativos para minimizar este problema, e na obtenção de substâncias com capacidade de matar bactérias e/ou interferir com a sua patogenicidade. O *Staphylococcus aureus* é capaz de causar inúmeras doenças, incluindo intoxicações alimentares. Esta bactéria se tornou resistente aos diversos antimicrobianos ao longo dos anos com destaque para o *S. aureus* meticilina-resistente (MRSA). O peptídeo antimicrobiano (AMP) nisina, bacteriocina produzida por *Lactococcus lactis* é um que vem sendo estudado na forma de nanoemulsões e nanopartículas. O objetivo desse estudo foi sintetizar, caracterizar e testar nanoemulsões e nanopartículas de ouro (AuNPs) de nisina, para a verificação da ação antibacteriana, através da Concentração Inibitória Mínima (CIM), atividade antibiofilme, antienterotoxina, atividade hemolítica, ação sobre a membrana bacteriana determinada pelo extravasamento de proteínas, sobre linhagens padrões ATCC de *S. aureus*, e teste de viabilidade celular em linhagem HCT-116 por citometria de fluxo. Os tratamentos utilizados foram nisina, cinco nanoemulsões com nisina (Nano-Nis), AuNPs com nisina (AuNPs-Nis), AuNPs com Nano-Nis (AuNPs + Nano-Nis) e AuNPs-Nis com nanoemulsão (AuNPs-Nis + Nano). De acordo com os resultados obtidos para CIM, observou-se que para a cepa ATCC 33591 de MRSA, a nanoemulsão denominada número 1, foi a mais eficiente entre as 5 testadas incluindo também a própria nisina. Por outro lado, sobre as linhagens também ATCC enterotoxigênicas, a nanoemulsão número 5 foi a mais eficiente sobre SEA e SEB com valores inferiores comparativos ao obtidos com a nisina e demais nanoemulsões. Considerando que a nanoemulsão número 1 foi a mais eficiente sobre a cepa MRSA, foi dada continuidade dos estudos utilizando combinações desta nanoemulsão juntamente com as AuNPs. Observou-se que as AuNPs-Nis, apresentaram mesma ação que a nisina isoladamente enquanto a do tratamento AuNPs + Nano-Nis apresentou menor valor. Os testes antienterotoxinas foram realizados utilizando kit SET-RPLA, entretanto, todas as cepas se mostraram fortes produtoras de enterotoxinas com uso de concentrações correspondentes a 70% do valor de CIM nos ensaios, com exceção das AuNPs-Nis que resultaram em moderada produção de SEA e SEB. O teste antibiofilme foi realizado com concentrações subinibitórias de 25% a 90% do valor de CIM dos tratamentos incubando-as por 48 horas. Todos os tratamentos apresentaram redução da produção de biofilme, em todas as concentrações testadas. A atividade hemolítica foi determinada para tratamentos com concentrações variando desde 1/4 até 4 vezes o CIM. No valor de CIM, dois tratamentos apresentaram-se hemolíticos enquanto no valor de 4xCIM, quatro tratamentos apresentaram-se hemolíticos. O teste de extravasamento protéico foi realizado, tendo as concentrações protéicas determinadas de acordo com protocolo de Bradford, e utilizando concentrações de 1 e 2 vezes a CIM para MRSA. O tratamento que resultou em maior concentração de proteínas extravasadas foi a Nano-Nis. Os tratamentos, com exceção da nanoemulsão, não apresentaram efeito citotóxico sobre a linhagem HCT-116. Assim, pode-se dizer que as nanoemulsões e AuNPs, quando conjugados à nisina, foram eficazes contra *S. aureus*, com potencial antibacteriano otimizados quando utilizando-a na forma pura.

Palavras-chave: fatores de virulência, nanotecnologia, peptídeos antimicrobianos, resistência bacteriana, *Staphylococcus aureus*

Abstract

The growth in the number of multiresistant bacteria resistant to traditional antimicrobial drugs is a public health concern which has been motivated researchs worldwide, seeking new antimicrobial drugs to minimize this problem besides getting new substances able to eradicate bacteria and/or interfere with their pathogenicity. *Staphylococcus aureus* is a highly virulent bacteria, able to cause countless diseases including food poisoning. This bacteria got resistant to many antimicrobials within the years, highlighting the *S. aureus* methicillin-resistant (MRSA). The antimicrobial peptide (AMP) nisin, bacteriocin synthesized by *Lactococcus lactis*, is one that has been studied in nanoemulsions and nanoparticles. The objective of this study was to synthesize, characterize and evaluate nanoemulsions and gold nanoparticles (AuNPs) with nisin, to verify their antibacterial action, using the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), antibiofilm activity, antienterotoxin activity, hemolytic activity, action on bacterial membrane determined by protein leakage, on MRSA ATCC strains, and cell viability in HCT-116 strain by flow cytometry. The treatments used were nisin, five nanoemulsions with nisin (Nano-Nis), AuNPs with nisin (AuNPs-Nis), AuNPs with Nano-Nis (AuNPs + Nano-Nis) and AuNPs-Nis with nanoemulsion (AuNPs-Nis + Nano). According to the results obtained for MIC, it was observed that for the MRSA strain ATCC 33591, the number 1 formulation of nanoemulsions was the more efficient between the five others, including nisin itself. However, when tested on enterotoxigenic strains, the number 5 nanoemulsion was the more efficient on SEA and SEB with lower values when compared to nisin itself and with other nanoemulsions. Whereas nanoemulsion 1 was the more efficient on MRSA strain, the study continued with this nanoemulsion, with the AuNPs. It was observed that AuNPs-Nis showed the same action than nisin itself while the AuNPs + Nano-Nis treatment showed a lower MIC. The antienterotoxin test was evaluated by SET-RPLA kit, however, all of the enterotoxigenic strains showed high enterotoxin production after the experiment with 70% of the treatments' MICs, except for AuNPs-Nis, which resulted in moderate production of SEA and SEB. The antibiofilm test was evaluated with six subinhibitory concentrations, from 25% to 90%, incubating them for 48 hours. All treatments showed biofilm reduction in all six concentrations. The hemolytic activity was evaluated for the treatments from ¼ to 4 times the values of MICs. In the MIC value, two treatments showed hemolytic activity while in 4xMIC, four treatments showed hemolytic activity. The test for proteins leakage was evaluated following Bradford protocol, with concentrations of one and two times the MICs value for MRSA strain. The treatment that showed the higher concentration of leaked proteins was Nano-Nis. The treatments, except for the ones with nanoemulsion, didn't show cytotoxicity on HCT-116 strain. Then, it can be concluded that the nanoemulsions and the gold nanoparticles, when conjugated with nisin, were efficient against different strains of *S. aureus*, with antibacterial potential higher than the potential of nisin itself.

Key-words: virulence factors, nanotechnology, antimicrobial peptides, bacterial resistance, *Staphylococcus aureus*

Lista de abreviaturas:

Abu: ácido 2-aminobutírico

AHL: acylhomoserine lactones

AMPs: Peptídeos Antimicrobianos

ATCC: American Type Culture Collection

AgNPs: Nanopartículas de Prata

AgNPs-Nis: Nanopartículas de Prata acopladas à Nisina

AuNPs: Nanopartículas de Ouro

AuNPs-Nis: Nanopartículas de Ouro acopladas à Nisina

BHI: infusão de cérebro e coração

A/O: Emulsão água em óleo

CIM: Concentração Inibitória Mínima

CBM: Concentração Bactericida Mínima

Dha: deidroalanina

Dhb: deidroaminobutírico

DLS: Dynamic Light Scattering

DO: Densidade Óptica

EHL: Equilíbrio Hidrofílico-Lipofílico

FAO: Food and Agriculture Organization

FDA: Food and Drug Administration

GRAS: Generally Recognized As Safe

HGT: Transferência Horizontal de Genes

MHC: Mueller Hinton Caldo

MRSA: *S. aureus* meticilina-resistente

Nano: Nanoemulsão

Nano-Nis: Nanoemulsão conjugada à nisina

O/A: Emulsão óleo em água

OMS: Organização Mundial da Saúde

PBS: Phosphate buffer saline

PDI: Índice de Polidispersividade

PMF: força motriz do próton

PZ: Potencial Zeta

REMA: Resazurin Microtiter Assay

SAg: Genes Produtores de Enterotoxinas

SEs: Enterotoxinas Estafilocócicas

SEA: Enterotoxinas Estafilocócica A

SEB: Enterotoxina Estafilocócica B

SEC: Enterotoxina Estafilocócica C

SED: Enterotoxina Estafilocócica D

SEL: Proteínas Semelhantes à Enterotoxina Estafilocócica

SCCs: Cassete Cromossômico Estafilocócico

SCVs: Pequenas Variantes de Colônia

UI: Unidades Internacionais

UTI: Unidade de Terapia Intensiva

TSB: Caldo Trípico de Soja

TSST-1: Toxina da Síndrome do Choque Tóxico 1

VISA: *S. aureus* Intermediário à Vancomicina

Lista de figuras:

- Figura 1.** Esquema para disseminação de resistência aos fármacos antimicrobianos. Fonte: De Linton, 2019 19
- Figura 2.** Esquema de uma transferência horizontal de genes entre duas células. Fonte: Domingues et al., 2017 20
- Figura 3.** Esquemas dos modelos conformacionais adquiridos pelos AMPs quando em contato com as células-alvo. Modelo de cano-stave (esquerda), modelo poro toroidal (centro) e modelo de carpete (direita). Fonte: Pasupuleti et al., 2012 26
- Figura 4.** Estrutura primária da nisina, onde os aminoácidos azuis são os positivamente carregados em pH neutro. Aminoácidos roxos são os modificados pós-traducionais, e os anéis estão nomeados de A à E. Fonte: Morales et al., 2019 31
- Figura 5.** Representação da estrutura das gotículas de nanoemulsão O/A, composto pelos dois líquidos imiscíveis e surfactantes. Fonte: McClements, 2012 33
- Figura 6.** Representação das ações antibacterianas intracelulares das AuNPs. Fonte: Ramalingam, 2019 36
- Figura 7.** Especificações dos tensoativos Tween 20 e Span 80. 39
- Figura 8.** Interpretação dos resultados do teste da produção de enterotoxinas. Fonte: THERMO SCIENTIFIC 46
- Figura 9.** Nanoemulsões de 1 à 5, sem a adição de nisina 50

Figura 10. Mudança de coloração durante o preparo da solução de AuNPs. Solução de H ₂ AuCl ₄ sob agitação magnética (a); momento T ₀ , onde ocorreu a adição da solução de citrato de sódio (b); 5 minutos após a adição da solução (c); 30 minutos após (d); 1 hora após (e); 2 horas após (f).	58
Figura 11. Bandas de absorção obtidas nas formulações de AuNPs e AuNPs-Nis.	58
Figura 12. Ilustração de ambas as hipóteses sugeridas por N. Terjung (2011), onde a hipótese 1 (acima) ilustra o sequestro dos fitofenóis pela interface das gotículas, agindo como surfactante, e sendo diminuída sua concentração no meio aquoso. A hipótese 2 (abaixo) ilustra a diminuição do número de micelas no meio aquoso com os menores tamanhos de gotículas.	63
Figura 13. Representações gráficas da porcentagem de redução de biofilme dos seis tratamentos realizados com as seis concentrações subinibitórias testadas.	70
Figura 14. Representação gráfica da porcentagem (%) de hemólise causada pelos tratamentos a diferentes concentrações: ¼ de CIM, ½ CIM, CIM, 2xCIM e 4xCIM	72
Figura 15. Representações gráficas dos 3 tempos (0h, 2h e 4h) quanto às concentrações (µg/ml) de proteínas liberadas no sobrenadante, quando expostas a concentrações equivalentes ao CIM e a 2xCIM dos cinco diferentes tratamentos.	76
Figura 16. Gráficos representando a viabilidade celular das células HCT-116 ao controle (A) e tratadas, a concentrações 1 e 2 vezes valor de CIM para MRSA da nisina (B), Nano-Nis (C), AuNPs-Nis 1xCIM (D), AuNPs-Nis 2XCIM (E) e Nanoemulsão 1 (F).	78

As células vivas estão representadas no quadrante 4 (Q4) onde Anexina (-) e 7-AAD (-), apoptose inicial no quadrante 1 (Q1) onde Anexina (+) e 7-AAD (-) e apoptose tardia/necrose no quadrante 2 (Q2) onde Anexina (+) e 7-AAD (+). Os gráficos *gate* mostram o tamanho (FSC, eixo x) e granulosidade (SSC, eixo y) das células.

Figura 17. Porcentagem de morte celular de HCT-116 quando submetidas aos tratamentos nisina, Nano-Nis, nanoemulsão e AuNPS-Nis.

79

Lista de tabelas:

Tabela 1. Cinco formulações das nanoemulsões com seus respectivos valores de EHL.	39
Tabela 2. Valores de EHL dos tensoativos Tween 20 e Span 80	40
Tabela 3. Representados com asterisco (*) os diferentes tratamentos utilizando-se nisina, adicionada de nanoemulsões e/ou nanopartículas de ouro (AuNPs), realizadas sobre as diferentes cepas ATCC de <i>S. aureus</i> (MRSA e enterotoxigênicas A-D).	45
Tabela 4. Valores do tamanho das gotículas (nm), do Potencial Zeta (mV) e do Índice de Polidispersividade para as cinco nanoemulsões, puras e com nisina.	51
Tabela 5. Aspecto visual das cinco nanoemulsões nas diferentes temperaturas, desde o tempo zero do seu preparo até 1 mês após.	54
Tabela 6. Avaliação macroscópica das cinco nanoemulsões após 5 minutos em cada temperatura.	55
Tabela 7. Valores de pH antes e depois das amostras de nanoemulsões serem submetidas ao teste de estresse térmico.	56
Tabela 8. Valores de CIM e CBM ($\mu\text{g/ml}$) da nisina e suas nanoemulsões frente às cepas de <i>S. aureus</i> enterotoxigênicos (A-D) e MRSA	60
Tabela 9. Valores de CIM e CBM, em $\mu\text{g/ml}$, para as AuNPs e suas combinações com a nanoemulsão e nisina sobre as cepas enterotoxigênicas (A-D) e MRSA.	64
Tabela 10. Resultados obtidos para a produção de enterotoxinas A, B, C e D	67

por *S. aureus* quando submetidas a 70% MIC da nisina, nanomeulsão 5 com nisina e AuNPs-Nis.

Tabela 11. Valores da redução (em porcentagem) da formação de biofilme pela cepa MRSA ATCC 33591. Valor calculado em relação ao controle da bactéria. 69

Tabela 12. Valores, em porcentagem (%), da atividade hemolítica causada pelos tratamentos nas cinco diferentes concentrações testadas. 72

Tabela 13. Concentrações ($\mu\text{g/ml}$) de proteínas extravasadas de MRSA no tempo 0h, após 2h e 4h desde o início dos tratamentos em concentrações equivalentes ao CIM e duas vezes o seu valor. 76

SUMÁRIO

1. Introdução	15
2. Revisão de literatura	17
2.1 Resistência bacteriana	17
2.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	21
2.3 Fatores de virulência	22
2.4 Peptídeos Antimicrobianos (AMPs)	25
2.4.1 Bacteriocinas	29
2.5 Nanotecnologia	32
2.5.1 Nanoemulsões	32
2.5.2 Nanopartículas de ouro (AuNPs)	35
3. Objetivo	37
3.1 Objetivo geral	37
4. Material e Métodos	38
4.1 Linhagens bacterianas e antimicrobianos	38
4.2 Preparo das nanoemulsões	38
4.2.1 Tensoativos utilizados	38
4.2.2 Incorporação da nisina às nanoemulsões	40
4.3 Caracterização das nanoemulsões	40
4.3.1 Avaliação macroscópica	41
4.3.2 Cor	41
4.3.3 Estresse térmico	41
4.3.4 Estabilidade em temperatura de armazenamento	41
4.3.5 Tamanho médio das partículas (DLS)/Potencial Zeta	41
4.3.6 Determinação pH	42
4.4 Preparo das Nanopartículas de Ouro (AuNPs)	42
4.4.1 Síntese das AuNPs estabilizadas por citrato	42
4.4.2 Incorporação da nisina às AuNPs	43
4.4.3 Incorporação das AuNPs-Nis à Nanoemulsão	43
4.4.4 Incorporação da Nano-Nis às AuNPs	43
4.5 Caracterização das AuNPs	43
4.5.1 Cor	43
4.5.2 Espectrometria UV-visível	44
4.6 Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM)	

.....	44
4.7 Inibição da produção de enterotoxinas	45
4.8 Efeito dos tratamentos de nisina na formação de biofilme	46
4.9 Atividade hemolítica	47
4.10 Extração de proteínas	47
4.11 Viabilidade celular	48
4.11 Análise estatística	49
5. Resultados e discussão	49
5.1 Preparo das nanoemulsões	49
5.1.1 Avaliação macroscópica, tamanho médio das partículas e potencial zeta	49
5.1.2 Estabilidade em armazenamento a diferentes temperaturas	53
5.1.3 Estresse térmico	54
5.1.4 Valores de pH	56
5.2 Preparo das nanopartículas de ouro (AuNPs)	57
5.2.1 Síntese das AuNPs estabilizadas por citrato	57
5.3 Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM)	
.....	59
5.3.1 Atividade antibacteriana da nisina e nanoemulsões-nisina contra <i>S. aureus</i>	
enterotoxigênicos e metilina-resistente (MRSA)	59
5.3.2 Atividade antibacteriana das nanopartículas de ouro acopladas à nisina (AuNPs-Nis),	
AuNPs acopladas à nanoemulsão-nisina (AuNPs + Nano-Nis) e das AuNPs-Nis acopladas à	
nanoemulsão (AuNPs-Nis + Nano) contra <i>S. aureus</i> metilina-resistente (MRSA)	63
5.4 Inibição da produção de enterotoxinas	66
5.5 Efeito dos tratamentos de nisina na formação do biofilme	69
5.6 Atividade hemolítica	71
5.7 Extração de proteínas	75
5.8 Viabilidade celular	77
6. Conclusão	82
7. Referências bibliográficas	83

1 **1. Introdução**

2 A resistência bacteriana aos antibióticos, medicamentos que são utilizados amplamente
3 pela população, têm se apresentado cada vez mais disseminada dentro de uma comunidade,
4 evoluindo para uma escala global. Os antibióticos são utilizados em muitos casos erroneamente,
5 tanto por sub-dosagem como em casos onde o paciente faz o uso da medicação sem ao certo
6 saber se realmente é uma infecção bacteriana que está ocorrendo. Dessa forma, para
7 controlarmos a disseminação de bactérias resistentes, duas medidas podem ser tomadas:
8 controlar e reduzir as prescrições de antibióticos e a prevenção da propagação desses micro-
9 organismos de pacientes infectados para a comunidade (Vassal et al., 2017).

10 O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria Gram-positiva que coloniza naturalmente o
11 corpo humano, mas também possui a capacidade de expressar diversos fatores de virulência,
12 como a produção de biofilme e de enterotoxinas, e se apresenta potencialmente patogênica ao
13 homem. Uma das suas principais características é ser altamente oportunista, principalmente no
14 ambiente hospitalar, sendo capaz de causar desde infecções simples até mesmo sepses. Um *S.*
15 *aureus* de grande preocupação dos pesquisadores é a *S. aureus* meticilina-resistente (MRSA),
16 que apresenta resistência contra o antibiótico meticilina, além dos demais β -lactâmicos, e já
17 foram reportados casos de resistência dessa cepa também à vancomicina (Mandal et al., 2015).

18 Uma vez que muitas bactérias patogênicas têm adquirido resistência aos medicamentos
19 comumente utilizados, os pesquisadores têm estudado diversas formas de como combater esses
20 micro-organismos. Diversos compostos já apresentaram efeitos antimicrobianos, dentre eles os
21 peptídeos antimicrobianos (AMPs). Os AMPs possuem atividade contra bactérias, vírus e
22 fungos e são componentes de origem biológica que podem ser derivados de plantas, mamíferos,
23 insetos e anfíbios. Suas principais características são a sua natureza catiônica e a sua capacidade
24 de permeabilizar membranas de micro-organismos. Um AMP bastante estudado é a nisina,
25 especialmente contra bactérias Gram-positivas inclusive com ação superior a alguns
26 antibióticos.

27 A nisina é uma bacteriocina, da classe Ia, também conhecida como um lantibiótico. É
28 uma bacteriocina considerada segura para consumo (GRAS – *Generally Recognized As Safe*) e
29 é utilizada na indústria alimentícia para preservação de alimentos há mais de 60 anos. Seu modo
30 de ação implica na sua capacidade de formar poros na membrana bacteriana, levando ao
31 extravasamento do seu conteúdo citoplasmático, acarretando na morte celular. A nisina possui
32 afinidade às moléculas de lipídio II localizadas na membrana plasmática, que são essenciais
33 para a síntese da estrutura da mesma (Scherer et al., 2015).

1 Com o objetivo de otimizar a ação antibacteriana da nisina e de outros AMPs, a
2 nanotecnologia vem sendo empregada em diversos estudos e, na área microbiológica, possui
3 como objetivo otimizar a entrega do composto de interesse ao seu micro-organismo alvo.
4 Diversos nanomateriais podem ser sintetizados, incluindo nanoemulsões e nanopartículas de
5 ouro (AuNPs). Os nanomateriais são aplicados nas mais diversas áreas, desde a indústria
6 agrícola até a indústria farmacêutica e hospitalar (Leite et al., 2018). Como vantagens, os
7 nanomateriais podem fornecer uma menor toxicidade ao hospedeiro, maior biodisponibilidade
8 do composto encapsulado e uma maior estabilidade (Dávila-Rodríguez et al., 2019).

9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31

1 **6. Conclusão**

2 A nanotecnologia é amplamente utilizada em diversas áreas, sendo dentre estas também na
3 microbiologia médica. Isto se confirmou, pois a incorporação da nisina em nanoemulsões e
4 nanopartículas de ouro (AuNPs) possibilitou que sua ação antibacteriana fosse otimizada com
5 redução na concentração necessária para a inibição bacteriana quando comparado aos testes na
6 sua forma pura.

7 A utilização da nisina mostrou ser uma alternativa potencial na antibioticoterapia em
8 especial para doenças provocadas por *S. aureus*. Além de possuir significativa atividade
9 antibacteriana, os tratamentos estudados contendo AuNPs e nanoemulsões se mostraram, em
10 sua maioria, seguras quanto à toxicidade sobre hemácias e células tumorais de cólon. Por outro
11 lado, os ensaios com as nanoemulsões apresentaram-se tóxicas quando testadas em
12 concentrações superiores a CIM obtidas, ou seja, em concentrações acima daquelas necessárias
13 para obtenção da morte dos *S. aureus* testados.

14 A síntese de nanoemulsões e AuNPs, e suas aplicações, se mostraram eficazes além de
15 serem alternativas potenciais para o seu uso futuro sobre outras bactérias Gram-positivas, e
16 possivelmente em Gram-negativas, com o objetivo de otimizar a ação destes compostos ativos,
17 capazes de contribuir para minimizar o problema da resistência aos fármacos antimicrobianos
18 e reduzir a quantidade dos compostos ativos necessários para tal finalidade.

19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

7 Referências bibliográficas

- ADAMS F. C., BARBANTE C. Nanoscience, nanotechnology and spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 86, pp. 3-13, 2013.
- ADAMS M. R., MOSS M. O. Bacterial agents of foodborne illness—*Staphylococcus aureus*. **Food Microbiology**, 2008.
- AHMAD V., KHAN M. S., JAMAL Q. M. S., ALZOHAIRY M. A., KARAAWI M. A., SIDDIQUI M. U. Antimicrobial potential of bacteriocins: in therapy, agriculture and food preservation. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 49, pp. 1-11, 2017.
- AHMADI S., GHOLLASI M., HOSSEINI H. M. The apoptotic impact of nisin as a potent bacteriocin on the colon cancer cells. **Microbial Pathogenesis**, v. 111, pp. 193-197, 2017.
- AHMED A., KHAN A. K., ANWAR A., ALI S. A., SHAH M. R. Biofilm inhibitory effect of chlorhexidine conjugated gold nanoparticles against *Klebsiella pneumoniae*. **Microbial Pathogenesis**, v. 98, pp. 50-56, 2016.
- ALBANO M., ALVES F. C. B., ANDRADE B. F. M. T., BARBOSA L. N., PEREIRA A. F. M., CUNHA M. L. R. S., RALL V. L. M., FERNANDES JÚNIOR A. Antibacterial and anti-staphylococcal enterotoxin activities of phenolic compounds. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 38, pp. 83-90, 2016.
- ALKHATIB M. H., AL-MERABI S. S. In vitro assessment of the anticancer activity of simvastatin-loaded microemulsion in liver and colon cancer cells. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 24, pp. 373-379, 2014.
- ALMATAR M., MAKKY E. A., YAKICICIŞIL G., KAYAR V. B., KOKSAL F. Antimicrobial peptides as an alternative to anti-tuberculosis drugs. **Pharmacological Research**, v. 128, pp. 288-305, 2018.
- ALVES F. C. B., BARBOSA L. N., ANDRADE B. F. M. T., ALBANO M., FURTADO F. B., PEREIRA A. F. M., RALL V. L. M., FERNANDES JÚNIOR A. Short communication: Inhibitory activities of the lantibiotic nisin combined with phenolic compounds against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in cow milk. **Journal of Dairy Science**, v. 99, pp. 1831-1836, 2016.
- ANDERSSON D. I. Mechanisms and consequences of bacterial resistance to antimicrobial peptides. **Drug Resistance Updates**, v. 26, pp. 43-57, 2016.
- ANDREU D., RIVAS L. Animal antimicrobial peptides: an overview. **Biopolymers**, v. 47, pp. 415-433, 1998.

1
2 ANTONIO B., MARIA R. C., MILENA S. The Microbiological Quality of Food. Woodhead
3 Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition; 2017.
4
5 APARICIO R. M., GARCÍA-CELMA M. J., VINARDELL M. P., MITJANS M. In vitro
6 studies of the hemolytic activity of microemulsions in human erythrocytes. **Journal of**
7 **Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 39, pp. 1063-1067, 2005.
8
9 ARAKHA M., BORAH S. M., SALEEM M., JHA A. N., JHA S. Interfacial assembly at silver
10 nanoparticle enhances the antibacterial efficacy of nisin. **Free Radical Biology and Medicine**,
11 v. 101, pp. 434-445, 2016.
12
13 ARCHER N. K., MAZAITIS M. J., COSTERTON J. W., LEID J. G., POWERS M. E.,
14 SHIRTLIFF M. E. *Staphylococcus aureus* biofilms properties, regulation and roles in human
15 disease. **Virulence**, v. 2, pp. 445-459, 2011.
16
17 ARVIZO R. R., BHATTACHARYYA S., KUDGUS R. A., GIRI K., BHATTACHARYAA
18 R., MUKHERJEE P. Intrinsic therapeutic applications of noble metal nanoparticles: past,
19 present and future. **The Royal Society of Chemistry**, 2012.
20
21 BALCIUNAS E. M., MARTINEZ F. A. C., TODOROV S. D., FRANCO B. D. G. M.,
22 CONVERTI A., OLIVEIRA R. P. S. Novel biotechnological applications of bacteriocins: A
23 review. **Food Control**, v. 32, pp. 134-142, 2013.
24
25 BENGTTSSON-PALME J., LARSSON D. G. J. Antibiotic resistance genes in the environment:
26 prioritizing risks. **Nature Reviews Microbiology**, v. 13, p. 396, 2015.
27
28 BOCCHINFUSO G., PALLESCHI A., ORIONI B. Different mechanisms of action of
29 antimicrobial peptides: insights from fluorescence spectroscopy experiments and molecular
30 dynamics simulations. **Journal of Peptide Science**, v. 15, pp. 550-558, 2009.
31
32 BORBA C. M., TAVARES M. N., MACEDO L. P., ARAÚJO G. S., FURLONG E. B., DORA
33 C. L., BURKET J. F. M. Physical and chemical stability of β -carotene nanoemulsions during
34 storage and thermal process. **Food Research International**, v. 121, pp. 229-237, 2019.
35
36 BOUCABEILLE C., MENGIN-LECREULX D., HENCKES G., SIMONET J. M., VAN
37 HEIJENOORT J. Antibacterial and hemolytic activities of linenscin OC2, a hydrophobic
38 substance produced by *Brevibacterium linens* OC2. **FEMS Microbiology Letters**, v. 153, pp.
39 295-301, 1997.
40
41 BRADFORD M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram
42 quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**,
43 v. 72, pp. 248-254, 1976.
44

1 BREIDENSTEIN E. B., DE LA FUENTE-NÚÑES C., HANCOCK R. E. *Pseudomonas*
2 *aeruginosa*: all roads lead to resistance. **Trends in Microbiology**, v. 19, pp. 419-426, 2011.
3
4 BREUKINK E., VAN HEUSDEN H. E., VOLLMERHAUS P. J., SWIEZEWSKA E.,
5 BRUNNER L., WALKER S., HECK A. J. R., KRUIJFF B. Lipid II Is an Intrinsic Component
6 of the Pore Induced by Nisin in Bacterial Membranes. **The Journal of Biological Chemistry**,
7 v. 278, pp. 19898-19903, 2003.
8
9 BROGDEN K. A. Antimicrobial peptides: Pore formers or metabolic inhibitors in bacteria?
10 **Nature Reviews Microbiology**, 2005.
11
12 BUI L. M. G., TURNIDGE J. D., KIDD S. P. The induction of *Staphylococcus aureus* biofilm
13 formation or Small Colony Variants is a strain-specific response to host-generated chemical
14 stresses. **Microbes and Infection**, v. 17, pp. 77-82, 2015.
15
16 CARMONA-RIBEIRO A. M., CARRASCO L. D. M. Novel Formulations for **Antimicrobial**
17 **Peptides**, v. 15, pp. 18040-18083, 2014.
18
19 CASTELANI L., ARCARO J. R. P., BRAGA J. E. P., BOSSO A. S., MOURA Q., ESPOSITO
20 F., SAUTER I. P., CORTEZ M., LINCOPAN N. Short communication: Activity of nisin, lipid
21 bilayer fragments and cationic nisin-lipid nanoparticles against multidrug-resistant
22 *Staphylococcus spp.* isolated from bovine mastites. **Journal of Dairy Science**, v. 102, pp. 678-
23 683, 2019.
24
25 CHAARI M., THEOCHARI I., PAPADIMITRIOU V., XENAKIS A., AMMARA E.
26 Encapsulation of carotenoids extracted from halophilic Archaea in oil-in-water (O/W) micro-
27 and nano-emulsions. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 161, pp. 219-227, 2018.
28
29 CHATTORAJ P., MOHAPATRA S. S., RAO J. L. Regulation of transcription by SMU.1349,
30 a TetR family regulator, in *Streptococcus mutans*. **Journal of Bacteriology**, v. 193, pp. 6605-
31 6613, 2011.
32
33 CHEN Z., SHU G., TAARJI N., BARROW C. J., NAKAJIMA M., KHALID N., NEVES M.
34 A. Gypenosides as natural emulsifiers for oil-in-water nanoemulsions loaded with astaxanthin:
35 Insights of formulation, stability and release properties. **Food Chemistry**, v. 261, pp. 322-328,
36 2018.
37
38 CHUESIANG P., SIRIPATRAWAN U., SANGUANDEEKUL R., YANG J. S.,
39 MCCLEMENTS D. J., MCLANDSBOROUGH L. Antimicrobial activity and chemical
40 stability of cinnamon oil in oil-in-water nanoemulsions fabricated using the phase inversion
41 temperature method. **LWT - Food Science and Technology**, v. 110, pp. 190-196, 2019.
42

1 CHUNG P. Y., KHANUM R. Antimicrobial peptides as potential anti-biofilm agents against
2 multidrugresistant bacteria. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 50, pp.
3 405-410, 2017.
4
5 CIMOLAI N. MRSA and the environment: implications for comprehensive control measures.
6 **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 27, pp. 481-493, 2008.
7
8 CIUMAC D., GONG H., HU X., LU J. R. Membrane targeting cationic antimicrobial peptides.
9 **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 537, pp. 163-185, 2019.
10
11 COSTERTON J. W., LEWANDOWSKI Z., CALDWELL D. E., KORBER D. R., LAPPIN-
12 SCOTT H. M. Microbial biofilms. **Annual Review Microbiology**, v. 49, pp. 711-745, 1995.
13
14 COTTER, P.D.; HILL, C.; ROSS, R.P. Bacteriocins: Developing innate immunity for food.
15 **Nature Reviews Microbiology**, v. 3, pp. 777-788, 2005.
16
17 COTTER P. D. Bioengineering: a bacteriocin perspective. **Bioengineered**, v. 3, pp. 313-319,
18 2012.
19
20 COTTER P. D. Bacteriocins – a viable alternative to antibiotics? **Nature Reviews**
21 **Microbiology**, v. 11, pp. 95-105, 2013.
22
23 CUI H., WEBBER M. J., STUPP S. I. Self-assembly of peptide amphiphiles: from molecules
24 to nanostructures to biomaterials. **Peptide Science**, v. 94, pp. 1-18, 2014.
25
26 DÁVILA-RODRÍGUEZ M., LÓPEZ-MALO A., RAMÍREZ-CORON E. P. N., JIMÉNEZ-
27 MUNGUÍ M. T. Antimicrobial activity of nanoemulsions of cinnamon, rosemary, and oregano
28 essential oils on fresh celery. **LWT - Food Science and Technology**, v. 112, 2019.
29
30 DEFLAUN M. F., LEVY S. B. Genes and their varied hosts. **Gene Transfer in the**
31 **Environment**, p. 1-32, 1989.
32
33 DEINHARDT-EMMER S., SACHSE S., GERACI J., FISCHER C., KWETKAT A.,
34 DAWCZYNSKI K., TUCHSCHERR L., LOFFLER B. Virulence patterns of Staphylococcus
35 aureus strains from nasopharyngeal colonization *S. aureus*. **Journal of Hospital Infection**, v.
36 100, pp. 309-315, 2018.
37
38 DE LA FUENTE-NÚÑEZ C., SILVA O. N., LU T. K., FRANCO O. L. Antimicrobial peptides:
39 Role in human disease and potential as immunotherapies. **Pharmacology & Therapeutics**, v.
40 178, pp. 132-140, 2017.
41
42 DE LINTON M. A. R., Resistencia a Antibióticos y sus Mecanismos – Parte I. Disponível em:
43 <http://afqfelsalvador.com/resistencia-a-antibioticos-y-sus-mecanismos-parte-i/>. Acessado em:
44 10 de setembro de 2019.

1
2 DELVES-BROUGHTON J., BLACKBURN P., EVANS R. J., HUGENHOLTZ J.
3 Applications of the bacteriocin, nisin. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 69, pp. 193-202, 1996.
4
5 DENNISON S. R., WALLACE J., HARRIS F., PHOENIX D. A. Amphiphilic alpha-helical
6 antimicrobial peptides and their structure/function relationships. **Protein Peptide Letter**, v. 12,
7 pp. 31-39, 2005.
8
9 DOMINGUES S., NIELSEN K. M. Membrane vesicles and horizontal gene transfer in
10 prokaryotes. **Current Opinion in Microbiology**, v. 38, pp. 16-21, 2017.
11
12 DU L. F., LIU W. K. Occurrence, fate, and ecotoxicity of antibiotics in agro-ecosystems. A
13 review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 32, pp. 309-327, 2012.
14
15 EHRENSTEIN G., LECAR H. Electrically gated ionic channels in lipid bilayers. **Quarterly**
16 **Reviews of Biophysics**, v. 10, pp. 1-34, 1977.
17
18 ELAHI N., KAMALI M., BAGHERSAD M. H. Recent biomedical applications of gold
19 nanoparticles: A review. **Talanta**, v. 184, pp. 537-556, 2018
20
21 EPAND R. M., VOGEL H. J. Diversity of antimicrobial peptides and their mechanisms of
22 action. **BBA – Biomembrane**, v. 1462, pp. 11-28, 1999
23
24 FEDTKE I., GOTZ F., PESCHEL A. Bacterial evasion of innate host defenses – the
25 *Staphylococcus aureus* lesson. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 294, pp.
26 189-194, 2004.
27
28 FRIDKIN S. K., STEWARD C. D., EDWARDS J. R. Surveillance of antimicrobial use and
29 antimicrobial resistance in United States hospitals: project ICARE phase 2. **Clinical Infectious**
30 **Diseases**, v. 29, pp. 245-252, 1999.
31
32 FRIEDMAN N. D., TEMKIN E., CARMELI Y. The negative impact of antibiotic resistance.
33 **Clinical Microbiology Infection**, v. 22, pp. 416-422, 2015.
34
35 FULAZ S., VITALE S., QUINN L., CASEY E. Nanoparticle–Biofilm Interactions: The Role
36 of the EPS Matrix. **Trends in Microbiology**, v. xx, pp. 1-12, 2019.
37
38 GADKARI P. V., BALARAMAN M. Extraction of catechins from decaffeinated green tea for
39 development of nanoemulsion using palm oil and sunflower oil based lipid carrier systems.
40 **Journal of Food Engineering**, v. 147, pp. 14-23, 2015.
41
42 GALVEZ A., ABRIOUEL H., LOPEZ R. L., BEN OMAR N. Bacteriocin-based strategies for
43 food biopreservation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 120, pp. 51-70, 2007.
44

- 1 GATADI S., GOUR J., NANDURI S. Natural product derived promising anti-MRSA drug
2 leads: A review. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 27, pp. 3760-3774, 2019.
- 3
- 4 GHOSH C., SARKAR P., ISSA R., HALDAR J. Alternatives to Conventional Antibiotics in
5 the Era of Antimicrobial Resistance. **Trends in Microbiology**, v. 27, pp. 323-338, 2019.
- 6
- 7 GHOSH V., MUKHERJEE A., CHANDRASEKARAN N. Ultrasonic emulsification of food-
8 grade nanoemulsion formulation and evaluation of its bactericidal activity. **Ultrasonics**
9 **Sonochemistry**, v. 20, pp. 338-344, 2013.
- 10
- 11 GOLDMANN O., MEDINA E. Staphylococcus aureus strategies to evade the host acquired
12 immune response. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 308, pp. 625-630,
13 2018.
- 14
- 15 GOMASHE A. V., DHARMIK P. G. Synergistic Effect of Gold Nanoparticles and Bacteriocin
16 Against Food Blemishing Microbes: A Novel Approach for Food Packaging Material
17 Preparation. **Global Journal For Research Analysis**, v. 3, pp. 1-3, 2014.
- 18
- 19 GOYAL G., HWANG J., AVIRAL J., SEO Y., JO Y., SON J., CHOI J. Green synthesis of
20 silver nanoparticles using β -glucan, and their incorporation into doxorubicin-loaded water-in-
21 oil nanoemulsions for antitumor and antibacterial applications. **Journal of Industrial and**
22 **Engineering Chemistry**, v. 47, pp. 179-186, 2017.
- 23
- 24 GRUMANN D., NUBEL U., BROKER B. M. *Staphylococcus aureus* toxins – Their functions
25 and genetics. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 21, pp. 583-592, 2014.
- 26
- 27 GUAN Y., CHEN H., ZHONG Q. Nanoencapsulation of caffeic acid phenethyl ester in sucrose
28 fatty acid esters to improve activities against cancer cells. **Journal of Food Engineering**, v.
29 246, pp. 125–133, 2019
- 30
- 31 HAABER J., PENADÉS J. R., INGMER H. Transfer of Antibiotic Resistance in
32 *Staphylococcus aureus*. **Trends in Microbiology**, v. 25, pp. 893-905, 2017.
- 33
- 34 HAFFNER S. M., MALMSTEN M. Influence of self-assembly on the performance of
35 antimicrobial peptides. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 38, pp. 56-79,
36 2018.
- 37
- 38 HASPER H. E., DE KRUIFF B., BREUKINK E. Assembly and Stability of Nisin-Lipid II
39 Pores. **Biochemistry**, v. 43, pp. 11567-11575, 2004.
- 40
- 41 HERNANDO-AMADO S., BLANCO P., ALCALDE-RICO M., CORONA F., REALES-
42 CALDERÓN J. A., SÁNCHEZ M. B., MARTÍNEZ J. L. Multidrug efflux pumps as main
43 players in intrinsic and acquired resistance to antimicrobials. **Drug Resistance Updates**, v. 28,
44 pp. 13-27, 2016.

1
2 HOLS P., LEDESMA-GARCÍA L., GABANT P., MIGNOLET J. Mobilization of Microbiota
3 Commensals and Their Bacteriocins for Therapeutics. **Trends in Microbiology**, v. 27, pp. 690-
4 702, 2019.

5
6 ILKER M. F., NUSSLEIN K., TEW G. N., COUGHLIN E. B. Tuning the Hemolytic and
7 Antibacterial Activities of Amphiphilic Polynorbornene Derivatives. **Journal of American**
8 **Chemical Society**, v. 126, pp. 15870-15875, 2004.

9
10 JAIN R., RIVERA M. C., LAKE J. A. Horizontal gene transfer among genomes: the complexity
11 hypothesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 96, pp. 3801-3806, 1999.

12
13 JESWANI G., ALEXANDER A., SARAF S., SARAF S., AJAZUDDIN A. Q. Recent
14 approaches for reducing hemolytic activity of chemotherapeutic agents. **Journal of Controlled**
15 **Release**, v. 211, pp. 10-21, 2015.

16
17 KAHL B. C. Small colony variants (SCVs) of *Staphylococcus aureus* – A bacterial survival
18 strategy. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 21, pp. 515-522, 2014.

19
20 KAMAL R., CHADHA V. D., DHAWAN D. K. Physiological uptake and retention of
21 radiolabeled resveratrol loaded gold nanoparticles (^{99m}Tc-Res-AuNP) in colon cancer tissue.
22 **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 14, pp. 1059-1071, 2018.

23
24 KAREMORE M. N., AVARI J. G. Zeta potential as a novel diagnostic tool for preeclampsia.
25 **Pregnancy Hypertension**, v. 13, pp. 187-197, 2018.

26
27 KAUR G., MEHTA S. K. Developments of Polysorbate (Tween) based microemulsions:
28 Preclinical drug delivery, toxicity and antimicrobial applications. **International Journal of**
29 **Pharmaceutics**, v. 529, pp. 134-160, 2017.

30
31 KHAN M. H., RAMALINGAM K. Synthesis of antimicrobial nanoemulsions and its
32 effectuality for the treatment of multi-drug resistant ESKAPE pathogens. **Biocatalysis and**
33 **Agricultural Biotechnology**, v. 18, 2019.

34
35 KHAMENEH B., ROUDAYNA D., GHAZVINI K., BAZZAZ B. S. F. Breakthroughs in
36 bacterial resistance mechanisms and the potential ways to combat them. **Microbial**
37 **Pathogenesis**, v. 95, pp. 32-42, 2016.

38
39 KHEZERLOU A., ALIZADEH-SANI M., AZIZI-LALABADI M., EHSANI A. Nanoparticles
40 and their antimicrobial properties against pathogens including bacteria, fungi, parasites and
41 viroses. **Microbial Pathogenesis**, v. 123, pp. 505-526, 2018.

42

1 KIM Y., KIM M., SHINDE S., SUNG J., GHODAKE G. Cytotoxicity and antibacterial
2 assessment of gallic acid capped goldnanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**,
3 v. 149, pp. 162–167, 2017.
4
5 KNERR P. J., VAN DER DONK W. A. Discovery, biosynthesis, and engineering of
6 lantipeptides. **Annual Review of Biochemistry**, v. 81, pp. 479-505, 2012.
7
8 KOEHBACH J., CRAIK D. J. The Vast Structural Diversity of Antimicrobial Peptides. **Trends**
9 **in Pharmacological Sciences**, v. 40, pp. 517-528, 2019.
10
11 KOOPMANS T., WOOD T. M., HART P., KLEIJN L. H. J., HENDRICK A. P. A., WILLEMS
12 R. J. L., BREUKINK E., MARTIN N. I. Semisynthetic Lipopeptides Derived from Nisin
13 Display Antibacterial Activity and Lipid II Binding on Par with That of the Parent Compound.
14 **Journal of American Chemistry Society**, v. 137, pp. 9382-9389, 2015.
15
16 KRISHNAMOORTHY R., ATHINARAYANAN J., PERIASAMY V. S., ADISA A. R., AL-
17 SHUBIABER M. A., GASSEM M. A., ALSHATWI A. A. Antimicrobial activity of
18 nanoemulsion on drug-resistant bacterial pathogens. **Microbial Pathogenesis**, v. 120, pp. 85-
19 96, 2018.
20
21 KUMAR A., MA H., ZHANG X., HUANG K., JIN S., LIU J., WEI T., CAO W., ZOU G.,
22 LIANG X. J. Gold nanoparticles functionalized with therapeutic and targeted peptides for
23 cancer treatment. **Biomaterials**, v. 33, pp. 1180-1189, 2012.
24
25 LE LOIR Y., BARON F., GAUTIER M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. **Genetics**
26 **and Molecular Research**, v. 2, pp. 63-76, 2003.
27
28 LI B., YANG Y., MA L., JU F., GUO F., TIEDJE J. M., ZHANG T. Metagenomic and network
29 analysis reveal wide distribution and co-occurrence of environmental antibiotic resistance
30 genes. **The ISME Journal**, v. 9, pp. 2490-2502, 2015.
31
32 LIAN H., PENG Y., SHI J., WANG Q. Effect of emulsifier hydrophilic-lipophilic balance
33 (HLB) on the release of thyme essential oil from chitosan films. **Food Hydrocolloids**, v. 97,
34 2019.
35
36 LIN C. Y., CHEN L. W. Comparison of fuel properties and emission characteristics of two-
37 and three-phase emulsions prepared by ultrasonically vibrating and mechanically
38 homogenizing emulsification methods. **Fuel**, v. 87, pp. 2154-2161, 2008.
39
40 LIN L., HU J. Y., WU Y., CHEN M., OU J., YAN W. L. Assessment of the inhibitory effects
41 of sodium nitrite, nisin, potassium sorbate, and sodium lactate on *Staphylococcus aureus*
42 growth and staphylococcal enterotoxin A production in cooked pork sausage using a predictive
43 growth model. **Food Science and Human Wellness**, v. 7, pp. 83-90, 2018.
44

- 1 LOFTUS R. W., DEXTER F., ROBINSON A. D. M. Methicillin-resistant *Staphylococcus*
2 *aureus* has greater risk of transmission in the operating room than methicillin-sensitive *S aureus*.
3 **American Journal of Infection Control**, v. 46, pp. 520-525, 2018.
4
- 5 LYRA, L.P.S. “Desenvolvimento de nanoemulsão de geraniol e óleo essencial de palmarosa
6 (*Cymbopogon martinii*) e sua ação inibitória sobre linhagens de *Cutibacterium acnes*. 2019.
7 128 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) - Instituto de Biociências,
8 Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2019.
9
- 10 MACGOWAN A., MACNAUGHTON E. Antibiotic resistance. **Medicine**, pp. 622-628, 2017.
11
- 12 MAHER S., DEVOCELLE M., RYAN S., MCCLEAN S., BRAYDEN D. J. Impact of amino
13 acid replacements on in vitro permeation enhancement and cytotoxicity of the intestinal
14 absorption promoter, melittin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 387, pp. 154-160,
15 2010.
16
- 17 MAHER S., MCCLEAN S. Investigation of the cytotoxicity of eukaryotic and prokaryotic
18 antimicrobial peptides in intestinal epithelial cells in vitro. **Biochemical Pharmacology**, v. 71,
19 pp. 289–1298, 2006.
20
- 21 MANDAL S. M., GHOSH A. K., PATI B. R. Dissemination of antibiotic resistance in
22 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *S aureus* strains isolated
23 from hospital effluents. **American Journal of Infection Control**, v. 43, pp. 87-88, 2015.
24
- 25 MANIKANDAKRISHNAN M., PALANISAMY S., VINOSHA M., KALANJIARAJA B.,
26 MOHANDOSS S., MANIKANDAN R., TABARSA M., YOU S. G., PRABHU N. M. Facile
27 green route synthesis of gold nanoparticles using *Caulerpa racemosa* for biomedical
28 applications. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 54, pp. 1-11, 2019.
29
- 30 MANN E. E., RICE K. C., BOLES B. R., ENDRES J. L., RANJIT D., CHANDRAMOHAN
31 L. Modulation of eDNA release and degradation affects *Staphylococcus aureus* biofilm
32 maturation. **PLoS One**, v. 4, 2009.
33
- 34 MARTÍN-ESCOLANO R., CEBRIÁN R., MARTÍN-ESCOLANO J., ROSALES M. J.,
35 MAQUEDA M., SÁNCHEZ-MORENO M., MARÍN C. Insights into Chagas treatment based
36 on the potential of bacteriocin AS-48. **International Journal for Parasitology: Drugs and**
37 **Drug Resistance**, v. 10, pp. 1-8, 2019.
38
- 39 MARTINEZ J. L., COQUE T. M., BAQUERO F. What is a resistance gene? Ranking risk in
40 resistomes. **Nature Reviews Microbiology**, v. 13, pp. 116-123, 2015.
41
- 42 MCAULIJE O., ROSS R. P., HILL C. Lantibiotics: structure, biosynthesis and mode of action.
43 **FEMS Microbiology Reviews**, v. 25, pp. 285-308, 2001.
44

- 1 MCCLEMENTS D. J. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and
2 similarities. **Soft Matter**, v. 8, pp. 1719-1729, 2012.
- 3
- 4 MCCLEMENTS D. J., DECKER E. A. Lipid Oxidation in Oil-in-Water Emulsions: Impact of
5 Molecular Environment on Chemical Reactions in Heterogeneous Food Systems. **Journal of**
6 **Food Science**, v. 65, 2000
- 7
- 8 MEI L., ZHANG X., WANG Y., ZHANG W., LU Z., LUO Y., ZHAO Y., LI C. Multivalent
9 polymer–Au nanocomposites with cationic surfaces displaying enhanced antimicrobial activity.
10 **Polymer Chemistry**, v. 5, 2014
- 11
- 12 MEKONNEN S. A., MEDINA L. M. P., MICHALIK S., LORETI M. G., SALAZAR M. G.,
13 VAN DIJL J. M., VOLKER U. Metabolic niche adaptation of community- and hospital-
14 associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Proteomics**, v. 193, pp.
15 154-161, 2019.
- 16
- 17 MENDEM S. K., GANGADHARA T. A., SHIVANNAVAR C. T., GADDAD S. M. Antibiotic
18 resistance patterns of *Staphylococcus aureus*: A multi center study from India. **Microbial**
19 **Pathogenesis**, v. 98, pp. 167-170, 2016.
- 20
- 21 MILTZ J., RYDLO T., MOR A., POLYAKOV V. Potency Evaluation of a Dermaseptin S4
22 Derivative for Antimicrobial Food Packaging Applications. **Packaging Technology and**
23 **Science**, v. 19, pp. 345-354, 2006.
- 24
- 25 MOGHIMI R., ALIAHMADI A., MCCLEMENTS D. J., RAFATI H. Investigations of the
26 effectiveness of nanoemulsions from sage oil asantibacterial agents on some food borne
27 pathogens. **LWT - Food Science and Technology**, v. 71, pp. 69-76, 2016.
- 28
- 29 MOGHIMI R., ALIAHMADI A., RAFATI H., ABATAHI H. R., AMINI S., FEIZABADI M.
30 M. Antibacterial and anti-biofilm activity of nanoemulsion of *Thymus daenensis* oil against
31 multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii*. **Journal of Molecular Liquids**, v. 265, pp. 765-
32 770, 2018.
- 33
- 34 MOHAMMED Y. H. E., MANUKUMAR H. M., RAKESH K. P., KARTHIK C. S., MALLU
35 P., QIN H. L. Vision for medicine: *Staphylococcus aureus* biofilm war and unlocking key's for
36 anti-biofilm drug development. **Microbial Pathogenesis**, v. 123, pp. 339-347, 2018.
- 37
- 38 MORALES M. C. S., JUÁREZ A. C., MONTICH G. G., ÁLVAREZ R. M. S. Interaction of
39 the antibiotic peptide nisin with anionic membranes in different phase-states: a vibrational
40 study. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 215, pp.
41 389-397, 2019.
- 42
- 43 MYTHILI R., SELVANKUMAR T., SRINIVASAN P., SENGOTTAIYAN A.,
44 SABASTINRAJ J., AMEEN F., AL-SABRI A., KAMALA-KANNAN S., GOVARTHANAN

1 M., KIM H. Biogenic synthesis, characterization and antibacterial activity of gold nanoparticles
2 synthesised from vegetable waste. **Journal of Molecular Liquids**, v. 262, pp. 318-321, 2018.
3

4 NEJATIAN M., ABBASI S., KADKHODAE R. Ultrasonic-Assisted Fabrication of
5 Concentrated Triglyceride Nanoemulsions and Nanogels. **Langmuir**, v. 34, pp. 11433-11441,
6 2018.
7

8 NIAZ T., SHABBIR S., NOOR T., RAHMAN A., BOKHARI H., IMRAN M. Potential of
9 polymer stabilized nano-liposomes to enhance antimicrobial activity of nisin Z against
10 foodborne pathogens. **LWT – Food Science and Technology**, v. 96, pp. 98-110, 2018
11

12 NIAZ T., SHABBIR S., NOOR T., IMRAN M. Antimicrobial and antibiofilm potential of
13 bacteriocin loaded nano-vesicles functionalized with rhamnolipids against foodborne
14 pathogens. **LWT – Food Science and Technology**, v. 116, 2019.
15

16 NOUDEH G. D., KHAZAELI P., RAHMANI P. Study of the Effects of Polyethylene Glycol
17 Sorbitan Esters Surfactants Group on Biological Membranes. **International Journal of**
18 **Pharmacology**, v. 4, pp. 27-33, 2008.
19

20 OMOKAWA Y., MIYAZAKI T., WALDE P., AKIYAMA K., SUGAHARA T., MASUDA
21 S., INADA A., OHNISHI Y., SAEKI T., KATO K. In vitro and in vivo anti-tumor effects of
22 novel Span 80 vesicles containing immobilized Eucheuma serra agglutinin. **International**
23 **Journal of Pharmaceutics**, v. 389, pp. 157-167, 2010.
24

25 PARDOUX E., ROUX A., MATHEY R., BOTURYN D., ROUPIOZ Y. Antimicrobial peptide
26 arrays for wide spectrum sensing of pathogenic bacteria. **Talanta**, v. 203, pp. 322-327, 2019.
27

28 PASUPULETI M., SCHIDTCHEN A., MALMSTEN M. Antimicrobial peptides: key
29 components of the innate immune system. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 32, pp. 143-
30 171, 2012.
31

32 PINILLA C. M. B., BRANDELLI A. Antimicrobial activity of nanoliposomes co-
33 encapsulating nisin and garlic extract against Gram-positive and Gram-negative bacteria in
34 milk. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 36, pp. 287-293, 2016.
35

36 POMETTO III ATO, DEMIRCI I. Biofilms in the Food Environment, ed. 2, **John Wiley &**
37 **Sons, Ltd**; 2015.
38

39 PRADEEPA, BHAT K. U., VIDYA S. M. Nisin gold nanoparticles assemble as potent
40 antimicrobial agents against *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus* clinical isolates.
41 **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 37, pp. 20-27, 2017.
42

1 PRAKASH A., VADIVEL V., RUBINI D., NITHYANAND P. Antibacterial and antibiofilm
2 activities of linalool nanoemulsions against Salmonella Typhimurium. **Food Bioscience**, v. 28,
3 pp. 57-65, 2019.
4

5 PREET S., PANDEY S. K., KAUR K., CHAUHAN S., SAINI A. Gold nanoparticles assisted
6 co-delivery of nisin and doxorubicin against murine skin câncer. **Journal of Drug Delivery
7 Science and Technology**, v. 53, 101147, 2019.
8

9 PROVENZANO J. C., SIQUEIRA JR. J. F. ROCAS I. N. Metaproteome analysis of endodontic
10 infections in association with different clinical conditions. **PLoS One**, v. 8, 2013.
11

12 QIU J., LI H., SU H., DONG J., LUO M., WANG J., LENG B., DENG Y., LIU J., DENG X.
13 Chemical composition of fennel essential oil and its impact on Staphylococcus aureus exotoxin
14 production. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, pp. 1399-1405, 2012.
15

16 RAJITHA P., SHAMMIKA P., AISWARYA S., GOPIKRISHNAN A., JAYAKUMAR R.,
17 SABITHA M. Chaulmoogra oil based methotrexate loaded topical nanoemulsion for the
18 treatment of psoriasis. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 49, pp. 463-
19 476, 2019.
20

21 RAMALINGAM V. Multifunctionality of gold nanoparticles: Plausible and convincing
22 properties. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 271, 2019.
23

24 RAMASAMY M., LEE J. H., LEE J. Direct one-pot synthesis of cinnamaldehyde immobilized
25 on gold nanoparticles and their antibiofilm properties. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**,
26 v. 160, pp. 639-648, 2017.
27

28 REA M. C., DOBSON A., O'SULLIVAN O., CRSIPIE F., FOUHY F., COTTER P. D.,
29 SHANAHAN F., KIELY B., HILL C., ROSS R. P. Effect of broad-and narrow-spectrum
30 antimicrobials on Clostridium difficile and microbial diversity in a model of the distal colon.
31 **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, pp. 4639-4644, 2011.
32

33 REDDY K. V., YEDERY R. D., ARANHA C. Antimicrobial peptides: premises and promises.
34 **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 24, pp. 536-547, 2004.
35

36 RICE L. B., BONOMO R., MURRAY P., BARON E., JORGENSEN J., LANDRY M.
37 Mechanisms of Resistance to antibacterial agents. **Manual of Clinical Microbiology**, v. 1, pp.
38 1114-1145, 2006.
39

40 RIQUELME N., ZÚNIGA R. N., ARANCIBIA C. Physical stability of nanoemulsions with
41 emulsifier mixtures: Replacement of tween 80 with quillaja saponin. **LWT**, v. 111, pp. 760-
42 766, 2019.
43

1 RIZVI S. M. D., HUSSAIN T., AHMED A. B. F., ALSHAMMARI T. M., MOIN A., AHMED
2 M. Q., BARRETO G. E., KAMAL M. A., ASHRAF G. M. Gold nanoparticles: A plausible
3 tool to combat neurological bacterial infections in humans. **Biomedicine & Pharmacotherapy**,
4 v. 107, pp. 7–18, 2018.

5

6 ROGGIA I., DALCIN A. J. F., OURIQUE A. F., DA CRUZ B. M., RIBEIRO E. E., MITJANS
7 M., VINARDELL M. P., GOMES P. Protective effect of guarana-loaded liposomes on
8 hemolytic activity. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 2019.

9

10 ROOIJAKKERS S. H. M., VAN KESSEL K. P. M., VAN STRIJP J. A. G. Staphylococcal
11 innate immune evasion. **Trends in Microbiology**, v. 13, pp. 596-601, 2005.

12

13 SABIROVA J. S., XAVIER B. B., HERNALSTEENS J. P., DE GREVE H., IEVEN M.,
14 GOOSSENS H. Complete genome sequences of two prolific biofilmforming *Staphylococcus*
15 *aureus* isolates belonging to USA300 and EMRSA-15 clonal lineages. **Genome**
16 **Announcements**, v. 2, pp. 610-614, 2014.

17

18 SANCAK B. *Staphylococcus aureus* and antibiotic resistance. **Mikrobiyoloji Bülteni**, v. 45,
19 pp. 565-576, 2011.

20

21 SCHELIN J., WALLIN-CARLQUIST N., COHN M. T., LINDQVIST R., BARKER G. C.,
22 RADSTROM P. The formation of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food environments
23 and advances in risk assessment. **Virulence**, v. 6, pp. 580-592, 2011.

24

25 SCHERER K. M., SPILLE J. H., SAHL H. G., GREIN F., KUBITSCHECK U. The lantibiotic
26 nisin induces lipid II aggregation, causing membrane instability and vesicle budding.
27 **Biophysical Journal**, v. 108, pp. 1114-1124, 2015.

28

29 SCHUBERT J., PODKOWIK M., BYSTRON J., BANIA J. Production of staphylococcal
30 enterotoxins in microbial broth and milk by *Staphylococcus aureus* strains harboring *seh* gene.
31 **International Journal of Food Microbiology**, v. 235, pp. 36-45, 2016.

32

33 SHALEL S., STREICHMAN S., MARMUR A. The Mechanism of Hemolysis by Surfactants:
34 Effect of Solution Composition. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 252, pp. 66-76,
35 2002.

36

37 SHARMA S., KHULLER G. DNA as the intracellular secondary target for antibacterial action
38 of human neutrophil peptide-I against mycobacterium tuberculosis H37Ra. **Current**
39 **Microbiology**, v. 43, pp. 74-76, 2001.

40

41 SHI C., ZHANG X., ZHAO X., MENG R., LIU Z., CHEN X., GUO N. Synergistic interactions
42 of nisin in combination with cinnamaldehyde against *Staphylococcus aureus* in pasteurized
43 milk. **Food Control**, v. 71, pp. 10-16, 2017.

44

1 SHUKLA R., BANSAL V., CHAUDHARY M., BASU A., BHONDE R. R., SASTRY M.
2 Biocompatibility of Gold Nanoparticles and Their Endocytotic Fate Inside the Cellular
3 Compartment: A Microscopic Overview. **Langmuir**, v. 21, pp. 10644-10654, 2005.
4
5 SIDHU P. K., NEHRA K. Bacteriocin-nanoconjugates as emerging compounds for enhancing
6 antimicrobial activity of bacteriocins. **Journal of King Saud University**, 2017.
7
8 SINGH Y., MEHER J. G., RAVAL K., KHAN F. A., CHAURASIA M., JAIN N. K.,
9 CHOURASIA M. K. Nanoemulsion: Concepts, development and applications in drug delivery.
10 **Journal of Controlled Release**, v. 252, pp. 28-49, 2017.
11
12 SMYTH C. J., SMYTH D. S., KENNEDY J., TWOHIG J., BOLTON D. J. *Staphylococcus*
13 *aureus*: from man or animal— an enterotoxin iceberg? **Teagasc – The National Food Centre**,
14 Italy, 2004.
15
16 STAKA I., CADETE A., TEJA B. A novel low molecular weight nanocomposite hydrogel
17 formulation for intra-tumoural delivery of anti-cancer drugs. **International Journal of**
18 **Pharmaceutics**, v. 565, pp. 151–161, 2019.
19
20 STALDER T., BARRAUD O., JOVÉ T., CASELLAS M., GASCHET M., DAGOT C.
21 Quantitative and qualitative impact of hospital effluent on dissemination of the integron pool.
22 **The ISME Journal**, v. 8, pp. 768-777, 2014.
23
24 STEVENS K. A., SHELDON B. W., KLAPES N. A., KLAENHAMMER T. R. Nisin treatment
25 for the inactivation of *Salmonella* species and other Gram-negative bacteria. **Applied and**
26 **Environmental Microbiology**, v. 57, pp. 3613-3615, 1991.
27
28 SZCZEPANIK A., KOZIOL-MONTEWKA M., AL-DOORI Z., MORRISON D., KACZOR
29 D. Spread of a single multiresistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone carrying
30 a variant of staphylococcal cassette chromosome mec type III isolated in a university hospital.
31 **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 26, pp. 29-35, 2007.
32
33 TATSUISHI T., OYAMA Y., IWASE K., YAMAGUCHI J., KOBAYASHI M., NISHIMURA
34 Y., KANADA A., HIRAMA S. Polysorbate 80 increases the susceptibility to oxidative stress
35 in rat thymocytes. **Toxicology**, v. 207, pp. 7-14, 2005.
36
37 TEIXEIRA M. L., DOS SANTOS J., SILVEIRA N. P., BRANDELLI A. Phospholipid
38 nanovesicles containing a bacteriocin-like substance for control of *Listeria monocytogenes*.
39 **Food Science & Emerging Technologies**, v. 9, pp. 49-52, 2008.
40
41 TEIXEIRA V., FEIO M. J., BASTOS M. Role of lipids in the interaction of antimicrobial
42 peptides with membranes. **Progress in Lipid Research**, v. 51, pp. 149-177, 2012.
43

1 TEO A., GOH K. K. T., WEN J., OEY I., KO S., KWAK H. S., LEE S. J. Physicochemical
2 properties of whey protein, lactoferrin and Tween 20 stabilised nanoemulsions: Effect of
3 temperature, pH and salt. **Food Chemistry**, v. 197, pp. 297-306, 2016.
4

5 TERJUNG N., LOFFLER M., GIBIS M., HINRICHS J., WEISS J. Influence of droplet size on
6 the efficacy of oil-in-water emulsions loaded with phenolic antimicrobials. **Food & Function**,
7 v. 3, pp. 290-301, 2012.
8

9 THERMO SCIENTIFIC. Toxin Detection Kits. **Oxoid Limited**, ©2001 – 2019
10

11 THIRUMURUGAN A., RAMACHANDRAN S., GOWRI A. S. Combined effect of
12 bacteriocin with gold nanoparticles against food spoiling bacteria - an approach for food
13 packaging material preparation. **International Food Research Journal**, v. 20, pp. 1909-1912,
14 2013.
15

16 TIWARI P. M., VIG K., DENNIS V. A., SINGH S. R. Functionalized gold nanoparticles and
17 their biomedical applications. **Nanomaterials**, v. 1, pp. 31-63, 2011.
18

19 TRAVKOVA O. G., MOEHWALD H., BREZESINSKI G. The interaction of antimicrobial
20 peptides with membranes. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 247, pp. 521-532,
21 2017.
22

23 TUCHSCHERR L., HEITMANN V., HUSSAIN M., VIEMANN D., ROTH J., VON EIFF C.
24 *Staphylococcus aureus* small-colony variants are adapted phenotypes for intracellular
25 persistence. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 202, pp. 1031-1040, 2010.
26

27 VAN BOECKEL T. P., BROWER C., GILBERT M., GRENFELL B. T., LEVIN S. A.,
28 ROBINSON T. P., TEILLANT A., LAXMINARAYAN R. Global trends in antimicrobial use
29 in food animals. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, pp. 5649-5654,
30 2015.
31

32 VARENNE F., COTY J. B., BOTTON J., LEGRAND F. X., HILLAIREAU H., BARRATT
33 G., VAUTHIER C. Evaluation of zeta potential of nanomaterials by electrophoretic light
34 scattering: Fast field reversal versus Slow field reversal modes. **Talanta**, v. 205, 2019.
35

36 VASSAL P., BERTHELOT P., CHAUSSINAND J. P., JAY S., DE FILIPPIS J. P., AUBOYER
37 C., RENOUX F., BEDOIN D. Extensively drug-resistant bacteria: Which ethical issues?
38 **Médecine et maladies infectieuses**, v. 47, pp. 319-323, 2017.
39

40 VINOSHA M., PALANISAMY S., MUTHUKRISHNAN R., SELVAM S., KANNAPIRAN
41 E., YOU S. G., PRABHU N. M. Biogenic synthesis of gold nanoparticles from *Halymenia*
42 *dilatata* for pharmaceutical applications: Antioxidant, anti-cancer and antibacterial activities.
43 **Process Biochemistry**, v. 85, pp. 219-229, 2019.

1
2 VIZIOLI J., SALZET M. Antimicrobial peptides from animals: focus on invertebrates. **Trends**
3 **in Pharmacological Sciences**, v. 23, pp. 494-496, 2002.
4
5 WAGENVOORT J. H. T., SLUIJSMANS W., PENDERS R. J. R. Better environmental
6 survival of outbreak vs. sporadic MRSA isolates. **Journal of Hospital Infection**, v. 45, pp. 231-
7 234, 2000.
8
9 WANG S., LI Y., XIONG H., CAO J. A broad-spectrum inhibitory peptide against
10 staphylococcal enterotoxin superantigen SEA, SEB and SEC. **Immunology Letters**, v. 121,
11 pp. 167-172, 2008.
12
13 WEBBER M., PIDDOCK L. The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance.
14 **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 51, pp. 9-11, 2003.
15
16 WEISS J., MCCLEMENTS D. J., DAVIDSON P. M. Nanoscalar dispersion of antimicrobials:
17 effect on food safety world food Science. **World Food Microbiology**, v. 16, pp. 8-19, 2014.
18
19 WIEDEMANN I., BENZ R., SAHL H. G. Lipid II-mediated pore formation by the peptide
20 antibiotic nisin: a black lipid membrane study. **Journal of Bacteriology**, v. 186, pp. 3259-3261,
21 2004.
22
23 WILLIAMS D. N., EHRMAN S. H., HOLOMAN T. R. P. Evaluation of the microbial growth
24 response to inorganic nanoparticles. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 4, pp. 1-3, 2006.
25
26 World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United States. NEW
27 PROPOSALS FOR THE USE OF NISIN (INS 234) IN FOOD CATEGORY 08.0 “MEAT
28 AND MEAT PRODUCTS, INCLUDING POULTRY AND GAME”. **Beijing, China**, 2013.
29
30 XU S. X., MCCORMICK J. K. Staphylococcal superantigens in colonization and disease.
31 **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 2, p. 52, 2012.
32
33 XU Z., XIE J., SOTEYOME T., PETERS B. M., SHIRTLIFF M. E., LIU J., HARRO J. M.
34 Polymicrobial interaction and biofilms between *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas*
35 *aeruginosa*: an underestimated concern in food safety. **Current Opinion in Food Science**, v.
36 26, pp. 57-64, 2019.
37
38 YAN X., WANG B., TAO X., HU Q., CUI Z., ZHANG J. Characterization of *Staphylococcus*
39 *aureus* strains associated with food poisoning in Shenzhen, China. **Applied and**
40 **Environmental Microbiology**, v. 78, pp. 6637-6642, 2012.
41
42 YANGA Y., SONG W., LIND H., WANG W., DUE L., XIN W. Antibiotics and antibiotic
43 resistance genes in global lakes: A review and meta-analysis. **Environment International**, v.
44 116, pp. 60-73, 2018.

1
2 YE H Y. C., CRERAN B., ROTELLO V. M. Gold Nanoparticles: Preparation, Properties, and
3 Applications in Bionanotechnology. **Nanoscale**, v. 4, pp. 1871-1880, 2012.
4
5 YOSHINARI M., KATO T., MATSUZAKA K., HAYAKAWA T., SHIBA K. Prevention of
6 biofilm formation on titanium surfaces modified with conjugated molecules comprised of
7 antimicrobial and titanium-binding peptides. **Biofouling**, v. 26, pp. 103-110, 2010.
8
9 ZARRINNAHAD H., MAHMOODZADEH A., HAMIDI M. P., MAHDAVI M., MORADI
10 A., BAGHERI K. P., SHAHBAZZADEH D. Apoptotic Effect of Melittin Purified from Iranian
11 Honey Bee Venom on Human Cervical Cancer HeLa Cell Line. **International Journal of**
12 **Peptide Research and Therapeutics**, v. 24, pp. 563-570, 2018.
13
14 ZASCHKE-KRIESCHE J., BEHRMANN L. V., REINERS J., LAGEDROSTE M., GRONER
15 Y., KALSCHUEUR R., SMITS S. H. J. Bypassing lantibiotic resistance by an effective nisin
16 derivative. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 27, pp. 3454-3462, 2019.
17
18 ZASLOFF M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. **Nature**, pp. 389-395, 2002.
19
20 ZECCONI A., SCALI S. Staphylococcus aureus virulence factors in evasion from innate
21 immune defenses in human and animal diseases. **Immunology Letters**, v. 150, pp. 12-22, 2013.
22
23 ZEHRA A., GULZAR M., SINGH R., KAUR S., GILL J. P. S. Prevalence, multidrug resistance
24 and molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in retail meat
25 from Punjab, India. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 16, pp. 152-158, 2019.
26
27 ZHANG L., ZHANG F., FAN Z., LIU B., LIU C., MENG X. DHA and EPA nanoemulsions
28 prepared by the low-energy emulsification method: Process factors influencing droplet size and
29 physicochemical stability. **Food Research International**, v. 121, pp. 359-366, 2019.
30
31 ZHANG X., HU X., RAO X. Apoptosis induced by *Staphylococcus aureus* toxins.
32 **Microbiological Research**, v. 205, pp. 19-24, 2017.
33
34 ZHANG Z., VRIESEKOOOP F., YUAN Q., LIANG H. Effects of nisin on the antimicrobial
35 activity of d-limonene and its nanoemulsion. **Food Chemistry**, v. 150, pp. 307-312, 2014.
36
37 ZHAO X., LIU Z., LI W., LI X., SHI C., MENG R., CHENG W., JINA K., YANG Z., SHI X.,
38 GUO N., YU L. In Vitro synergy of nisin and coenzyme Q0 against *Staphylococcus aureus*.
39 **Food Control**, v. 46, pp. 368-373, 2014.
40
41 ZHOU Y., PENG Y. Synergistic effect of clinically used antibiotics and peptide antibiotics
42 against Gram-positive and Gram-negative bacteria. **Experimental and Therapeutic**
43 **Medicine**, v. 6, pp. 1000-1004, 2013.
44

1 ZOU J., JIANG H., CHENG H., FANG J., HUANG G. Strategies for screening, purification
2 and characterization of bacteriocins. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.
3 117, pp. 781-789, 2018.
4