



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CAMPUS DE SOBRAL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA - PPGB

FRANCISCA ANTÔNIA NAURIANA ARAÚJO SAMPAIO

**POTENCIAL DO *TRANS*-CINAMALDEÍDO COMO ADJUVANTE NATURAL DE
MEROPENEM CONTRA BIOFILME DE ISOLADOS NOSOCOMIAIS DE
ACINETOBACTER BAUMANNII MULTIRRESISTENTES**

SOBRAL-CE

2024

FRANCISCA ANTÔNIA NAURIANA ARAÚJO SAMPAIO

POTENCIAL DO *TRANS*-CINAMALDEÍDO COMO ADJUVANTE NATURAL DE
MEROPENEM CONTRA BIOFILME DE ISOLADOS NOSOCOMIAIS DE
ACINETOBACTER BAUMANNII MULTIRRESISTENTES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará – UFC, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia. Área de concentração: Microbiologia. Linha de Pesquisa: Bioprospecção de Produtos Naturais e Sintéticos

Orientador: Prof. Dr. Vicente de Paulo Teixeira
Pinto

Coorientador: Prof. Dr. Victor Alves Carneiro

SOBRAL-CE

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S183p Sampaio, Francisca Antônia Nauriana Araújo.
POTENCIAL DO TRANS-CINAMALDEÍDO COMO ADJUVANTE NATURAL DE MEROPENEM
CONTRA BIOFILME DE ISOLADOS NOSOCOMIAIS DE *Acinetobacter baumannii*
MULTIRRESISTENTES / Francisca Antônia Nauriana Araújo Sampaio. – 2024.
58 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Campus de Sobral, Programa de Pós-Graduação
em Biotecnologia, Sobral, 2024.

Orientação: Prof. Dr. Vicente de Paulo Teixeira Pinto.

Coorientação: Prof. Dr. Victor Alves Carneiro.

1. Multirresistente. 2. Infecção Nosocomial. 3. Antimicrobiano Natural. 4. Sinergismo de Substâncias
Bioativas. I. Título.

CDD 660.6

FRANCISCA ANTÔNIA NAURIANA ARAÚJO SAMPAIO

Potencial do *trans*-cinamaldeído como adjuvante natural de meropenem contra biofilme de isolados nosocomiais de *Acinetobacter baumannii* multirresistentes

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará – UFC, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre. Área de concentração: Microbiologia. Linha de Pesquisa: Bioprospecção de Produtos Naturais e Sintéticos.

Aprovada em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Vicente de Paulo Teixeira Pinto (Orientador)
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. Victor Alves Carneiro (Coorientador)
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dra. Hévila Oliveira Salles
Universidade Federal do Ceará – UFC
EMBRAPA Caprinos e Ovinos

Prof. Dr. João Batista Cajazeiras
Centro Universitário INTA – UNINTA

Dedico à minha mãe, por ser exemplo de perseverança e fé que me servem de sustento todos os dias.

AGRADECIMENTOS

À Deus por me proporcionar experiências incríveis, por colocar pessoas especiais em meu caminho e por permitir que tudo ocorra em minha vida no momento e na forma exata em que têm que acontecer.

À minha mãe e ao meu padrasto Cleilton que são apoio em todas as áreas da minha vida. Aos meus irmãos e família pelo incentivo na minha carreira.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Vicente de Paulo Teixeira Pinto, minha eterna gratidão pela generosidade pelos ensinamentos e conhecimento compartilhado.

Ao Prof. Dr. Victor Alves Carneiro por todas as orientações, conhecimentos compartilhados e ainda acolhimento, compreensão, por saber ouvir e conduzir cada desafio que surgiu.

Às minhas amigas desta caminhada na pesquisa, em especial à Rafaela e Letícia, pelas experiências e bons momentos compartilhados.

Aos amigos que cruzaram meu caminho e ficaram. Servindo de apoio, motivação e companheirismo nos dias em que mais precisei. Demorei a entender que eu precisava de amizades sinceras do meu lado para os dias serem mais leves.

A todos os colegas que integram o Laboratório de Biofilmes e Antimicrobianos (LaBAM), com os quais compartilhei muitos momentos de aprendizado, em especial a Benise, Mateus, Edrine, Lígia, Gabriel, Lucas e Adenes que contribuíram para execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Francisco Cesar Barroso Barbosa, por ter cedido gentilmente as cepas bacterianas para o desenvolvimento da pesquisa.

À coordenação do Mestrado em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará – UFC/ Sobral.

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pelo apoio financeiro recebido sob processo Nº BMD-0008-00235.01.02/22.

À UFC por proporcionar toda a estruturação necessária para a pesquisa.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”
(Arthur Schopenhauer)

RESUMO

Acinetobacter baumannii multirresistente (MDR) emergiu em todo o mundo como importante causa de infecções hospitalares com elevadas taxas de mortalidade, sendo um problema clínico crítico mundial devido à limitação de alternativas terapêuticas para seu tratamento. Assim, a combinação dos vastos mecanismos de resistência antimicrobiana e sua capacidade de sobrevivência no ambiente hospitalar torna o *A. baumannii* potencial patógeno nosocomial. Esse contexto impulsiona o crescente interesse por novas abordagens terapêuticas, como *trans*-cinamaldeído (TC) – substância derivada do metabolismo das plantas – como base para o desenvolvimento de novos antimicrobianos. O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial do TC como adjuvante natural de meropenem (MPN) contra biofilme de isolados nosocomiais de *Acinetobacter baumannii* MDR. Para isto, as amostras coletadas foram inicialmente submetidas a teste de disco-difusão em ágar e microdiluição em caldo. A cinética foi avaliada a partir de combinações subinibitórias do antibiótico com TC, assim como o efeito da atividade antibiofilme. Os resultados do disco-difusão produziram um halo de inibição entre 32,33 a 39,66 mm. A concentração inibitória mínima (CIM) para todas as cepas foi de 500 µg/mL, mesmo valor apresentado para concentração bactericida mínima (CBM). Houve ainda um aumento no potencial antimicrobiano com efeito sinérgico nas combinações de TC/ MPN. Por fim, a combinação do TC com MPN mostrou uma interferência significativa no biofilme pré-formado de *A. baumannii* MDR mostrando uma ação eficaz sobre este patógeno como proposta a utilizá-lo no desenvolvimento de novos produtos, seja como medicamento ou àqueles destinados à desinfecção hospitalar, trazendo resultados promissores para saúde pública.

Palavras-chave: multirresistente; infecção nosocomial; antimicrobiano natural; sinergismo de substâncias bioativas.

ABSTRACT

Multi-resistant (MDR) *Acinetobacter baumannii* has emerged worldwide as an important cause of hospital infections with high mortality rates, being a critical global clinical problem due to the limitation of therapeutic alternatives for its treatment. Thus, the combination of the vast mechanisms of antimicrobial resistance and its ability to survive in the hospital environment makes *A. baumannii* a potential nosocomial pathogen. This context drives growing interest in new therapeutic approaches, such as *trans*-cinnamaldehyde (TC) – a substance derived from plant metabolism – as a basis for the development of new antimicrobials. The objective of this study was to evaluate the potential of TC as a natural adjuvant to meropenem (MPN) against biofilm of nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii* MDR. For this, the collected samples were initially subjected to a disk diffusion test in agar and microdilution in broth. The kinetics were evaluated based on subinhibitory combinations of the antibiotic with TC, as well as the effect of antibiofilm activity. The disk diffusion results produced an inhibition halo between 32.33 and 39.66 mm. The minimum inhibitory concentration (MIC) for all strains was 500 µg/mL, the same value presented for minimum bactericidal concentration (MBC). There was also an increase in the antimicrobial potential with a synergistic effect in the TC/MPN combinations. Finally, the combination of TC with MPN showed a significant interference in the pre-formed biofilm of *A. baumannii* MDR, showing an effective action on this pathogen as a proposal to use it in the development of new products, whether as a medicine or those intended to hospital disinfection, bringing promising results for public health.

Keywords: multi-resistant; nosocomial infection; natural antimicrobial; synergism of bioactive substances.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | | | |
|----------|---|--|----|
| Figura 1 | - | Representação esquemática dos principais mecanismos de resistência aos antibióticos | 21 |
| Figura 2 | - | A estrutura molecular do <i>trans</i> -cinamaldeído | 29 |
| Figura 3 | - | Fluxograma de ensaios biológicos com o <i>trans</i> -cinamaldeído frente a isolados clínicos de <i>A. baumannii</i> MDR..... | 34 |
| Figura 4 | - | Representação esquemática da atividade antimicrobiana do <i>trans</i> -cinamaldeído..... | 37 |
| Figura 5 | - | Ilustração da metodologia para determinação da CIM e CBM do <i>trans</i> -cinamaldeído | 38 |
| Figura 6 | - | Representação da metodologia do biofilme pré-formado | 40 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|----------|---|----|
| Tabela 1 | - Perfil de resistência dos isolados clínicos de <i>A. baumannii</i> | 35 |
| Tabela 2 | - Atividade antibacteriana do <i>trans-cinamaldeído</i> contra <i>A. baumannii</i> MDR | 41 |
| Tabela 3 | - Efeito combinatório entre o <i>trans-cinamaldeído</i> (TC) e meropenem (MPN) contra <i>A. baumannii</i> MDR | 42 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-------|--|
| AMP | Ampicilina |
| ANOVA | Análise de variância |
| BHI | <i>Brain Heart Infusion</i> |
| CBM | Concentração Bactericida Mínima |
| CIM | Concentração Inibitória Mínima |
| CIP | Ciprofloxacina |
| DMSO | Dimetilsulfóxido |
| CNM | CINAMALDEÍDO |
| DZI | Diâmetro das zonas inibitórias |
| GEN | Gentamicina |
| LPS | Lipopolissacarídeo |
| MDR | Multirresistente |
| MPN | Meropenem |
| MHA | <i>Ágar Mueller-Hinton</i> |
| OEs | Óleos essenciais |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| PNDPs | Produtos naturais derivados de plantas |
| TC | <i>trans</i> -cinamaldeído |
| UFC | Unidades Formadoras de Colônias |
| UTI | Unidades de Terapia Intensivas |

SUMÁRIO

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 15 |
| 2 | REFERENCIAL TEÓRICO..... | 17 |
| 2.1 | Resistência bacteriana | 17 |
| 2.2 | <i>Acinetobacter baumannii</i> | 19 |
| 2.3 | Mecanismos de resistência | 21 |
| 2.4 | Formação de biofilme | 23 |
| 2.5 | Antibioticoterapia no tratamento de infecções bacterianas | 25 |
| 2.5.1 | <i>Meropenem</i> | 26 |
| 2.6 | Antimicrobianos derivados de plantas (ADPs) | 27 |
| 2.7 | <i>Trans-cinamaldeído (TC)</i> | 29 |
| 2.8 | Potencial do TC no melhoramento da antibioticoterapia atual | 31 |
| 3 | OBJETIVOS | 33 |
| 3.1 | Objetivo geral | 33 |
| 3.2 | Objetivos específicos | 33 |
| 4 | MATERIAL E MÉTODOS | 34 |
| 4.1 | Tipo de estudo e local da pesquisa | 34 |
| 4.2 | Delineamento experimental | 34 |
| 4.3 | Preparação da solução de TC | 35 |
| 4.4 | Microrganismos e condições de cultivo | 35 |
| 4.5 | Análises microbiológicas | 36 |
| 4.5.1 | <i>Teste disco-difusão</i> | 36 |
| 4.5.2 | <i>Concentração Inibitória/Bactericida Mínima (CIM)/(CBM)</i> | 37 |
| 4.5.3 | <i>Ensaio checkerboard</i> | 38 |
| 4.5.4 | <i>Atividade antibiofilme</i> | 39 |
| 4.6 | Análise estatística | 40 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 41 |
| 6 | CONCLUSÃO | 46 |
| | REFERÊNCIAS | 47 |

1 INTRODUÇÃO

Acinetobacter baumannii é uma bactéria do tipo cocobacilo, Gram-negativa, comumente isolada do ambiente. Sendo considerado um patógeno oportunista na medicina humana por ser responsável por infecções hospitalares e comunitárias (Whiteway *et al.*, 2021). Sua resistência a antibióticos de última instância tornou-se uma grande preocupação para a comunidade científica e causa de grandes problemas para os médicos que tratam de doenças infecciosas (Ibrahim *et al.*, 2021; Solomon; Oliver, 2014). Ainda, este patógeno tem um alto nível de resistência contra os antibióticos disponíveis carbapenem e colistina, que são a escolha como última linha de tratamento (Chopjitt *et al.*, 2020).

Uma maior atenção a *A. baumannii* se deu após um aumento na compreensão de sua epidemiologia, sendo identificada como etiologia de inúmeras infecções hospitalares. Além disso, o aumento da virulência, a dificuldade de tratamento devido à resistência aos medicamentos e as oportunidades de infecção fizeram desse patógeno uma das ameaças mais importantes à saúde humana. A disseminação e prevalência de *A. baumannii* em instituições de saúde ocorre devido sua capacidade de resistir a ambientes secos e úmidos, sua resistência a desinfetantes e antibióticos, e sua propriedade formadora de biofilmes que leva à colonização de superfícies inertes e dispositivos médicos. A classificação do gênero *A. baumannii* tem sido complexa, em parte, devido à alta variabilidade genética encontrada entre seus membros (Ramirez; Bonomo; Tolmasky, 2020).

Uma revolução no tratamento de doenças infecciosas que limitaram a propagação de patógenos foi a descoberta dos antibióticos, fato marcante na saúde pública e na ciência médica. O desenvolvimento de novos medicamentos e a sua utilização pudera salvar milhões de vidas e aumentaram consideravelmente a esperança média de vida e o bem-estar humano. No entanto, uma crise preocupante de resistência aos antibióticos se dá pelo seu uso inadequado e intensivo desde a sua descoberta, que é atualmente considerada uma das 10 principais ameaças globais à saúde pública pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (Domingues *et al.*, 2023).

Este cenário problemático gerou a necessidade de descoberta e avaliação de novos agentes antibacterianos. Os produtos vegetais naturais são as principais fontes de antimicrobianos utilizados na prática clínica, constituindo uma grande família com ampla diversidade química e atividades biológicas, apresentando relevância como fontes eficazes de agentes terapêuticos ao longo da história e como alternativa aos agentes antibacterianos. Suas vantagens incluem relativa segurança, fontes abundantes, baixos níveis de citotoxicidade, alta

diversidade química e especificidade bioquímica; e menos propensos ao desenvolvimento de resistência a antibióticos (Borges *et al.*, 2016; Newman; Cragg, 2020).

Materiais naturais, ervas, especiarias, óleos essenciais (OEs), etc., têm sido relatados na literatura por apresentarem inúmeras bioatividades, como efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios. Por isso hoje são bastante utilizados em embalsamamentos, fórmulas farmacêuticas, ou como aditivos alimentares. Por outro lado, os OEs têm sido considerados como antibacterianos e agentes anti-infecciosos consideravelmente eficazes de fontes naturais em diversas áreas, com destaque nos campos alimentar, médico, farmacêutico, de saúde pública e ambiental. Visto isso, juntamente com o aumento de interesses dos consumidores por alternativas naturais de agentes para o desenvolvimento de produtos antimicrobianos, os compostos naturais, incluindo os OEs, têm recebido destaque (Santos *et al.*, 2022).

Dentre os compostos de óleos essenciais, grande interesse tem sido dedicado ao cinamaldeído, também conhecido como aldeído cinâmico ou 3-fenil-2-propenal. Entre as bioatividades do cinamaldeído, destaca-se um notável amplo espectro de mecanismos bactericidas e antifúngicos. Além disso, foram relatadas inibição da formação de biofilme e da produção de ATP. Ao longo dos anos também tem recebido atenção especial suas propriedades potencializadoras de antibióticos, especialmente contra cepas de superbactérias como *E. faecium*, *S. aureus*, *K.pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* e *Enterobacteria*. Além disso, o óleo de canela é amplamente utilizado como aditivo alimentar, sendo considerado seguro pela *Food and Drug Administration* (FDA) (Usai; Di Sotto, 2023). A perda de eficácia dos medicamentos juntamente com o surgimento de novas superbactérias aumentou a necessidade de terapias inovadoras. Diante da ação antimicrobiana já comprovada do cinamaldeído, torna-se promissor incrementar a aplicação biotecnológica desta substância visando aumentar a suscetibilidade da *A. baumannii* aos medicamentos, podendo agir assim como sensibilizadores bacterianos, superar seus mecanismos de resistência e obter a eficácia esperada no tratamento.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Resistência bacteriana

Os antibacterianos apresentam um papel indispensável nos sistemas de saúde modernos (Yan *et al.*, 2020). Assim, a seleção de cepas de bactérias as quais já não são mais sensíveis a muitos desses antibióticos disponíveis no mercado torna-se um problema grave para a saúde pública no contexto mundial. Essa questão preocupa, sobretudo, no contexto hospitalar (Agarwal *et al.*, 2018), de forma que a maioria desses microrganismos resistentes afetam pacientes já fragilizados e com algum nível de comprometimento imunológico, tornando seu quadro clínico mais grave. Tais infecções incluem causas tanto por bactérias Gram-positivas, como *S. aureus*, *Enterococcus*, quanto por Gram-negativas, como *P. aeruginosa* e *A. baumannii*, e estima-se que são causa de morte de cerca de 23 mil pacientes por ano no sistema de saúde norte-americano (Jernigan *et al.*, 2020).

Nesse contexto, o uso persistente de antibióticos na produção de alimentos, como na pecuária e na agricultura, e a contaminação ambiental consequente desse processo exercem pressão seletiva sobre comunidades bacterianas que desenvolvem resistência aos antibióticos, causando a proliferação de bactérias multirresistentes (MDR) (Hou *et al.*, 2017). A revista Lancet também elencou, em revisão sistemática publicada em 2019, como razão para esse processo de dessensibilização de cepas bacterianas a problemática relacionada ao uso indevido desses compostos antimicrobianos, como para tratar infecções virais, normalmente autolimitadas e de resolução espontânea de acordo com a história natural da doença (Murray *et al.*, 2019). Com isso, os princípios de prevenção e controle de infecções continuam sendo a base para prevenir infecções de forma geral e são fundamentais para combater a disseminação da resistência a antimicrobianos, bem como as vacinações em massa são grandes aliadas nesse contexto (Murray *et al.*, 2022).

Moléculas biologicamente ativas são definidas como antimicrobianas por sua capacidade de inibir o crescimento ou matar certas ou várias classes de microrganismos. No entanto, a produção de novas enzimas por parte desses microrganismos, por exemplo, enzimas que degradam antibióticos, já são observadas em muitas dessas cepas, inativando os compostos em questão. Outras modificações ocorrem na indução de mutações em enzimas pré-existentes, como topoisomerases e DNA girases, também relacionadas ao processo de resistência adquirida por parte dessas bactérias (Da Cunha, 2019). Nesse sentido, a resistência a uma dada

molécula é mantida desde a célula-mãe até as células-filhas, a menos que mutações as tornem suscetíveis novamente (Reygaert, 2018).

Esse grupo de bactérias resistentes, também conhecidas como superbactérias, possuem alternativas de tratamento limitadas, com risco de morte aumentado, representando assim uma séria ameaça à saúde pública, especialmente em pacientes gravemente enfermos em ambiente hospitalar (Uruén *et al.*, 2020). Em 2008, Rice agrupou seis bactérias importantes no contexto destas infecções no chamado “ESKAPE”, o qual inclui *Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter*. Este grupo tem como característica a capacidade de aquisição de diversos mecanismos de resistência a antimicrobianos, dificultando a terapêutica antimicrobiana (Brasil, 2005). Na verdade, *P. aeruginosa* e *A. baumannii*, responsáveis por infecções em humanos, são resistentes a quase todos os antibióticos. Além disso, o espectro estendido de β -lactamases das *Enterobacteriaceae* limitou a eficácia das últimas gerações de penicilina e cefalosporinas (Parrino, 2019; Ibrahim, *et al.*, 2021).

A partir dessas definições, é importante especificar os dois principais tipos de resistência antimicrobiana: natural e adquirida (Martinez, 2014). A resistência natural provém da própria espécie bacteriana (resistência intrínseca), enquanto a resistência adquirida é expressa apenas quando exposta a um agente antimicrobiano (resistência induzida). Como exemplo: a permeabilidade reduzida da membrana externa e a atividade das bombas de efluxo são clássicos de resistência intrínseca. A resistência adquirida ocorre pela aquisição de material genético por meio de transformação, conjugação, transposição ou por mutação no DNA (ácido desoxirribonucleico) cromossômico, causa de mutações no alvo da droga ou naqueles genes envolvidos na regulação de transportadores de fármacos (Cappiello *et al.*, 2020).

As infecções por Gram-negativos constituem as de maior prevalência e crescimento nos últimos anos, tornando-se, portanto, foco de preocupação especial no meio dos microrganismos nosocomiais (Hua *et al.*, 2018). A diferença mais notável entre bactérias Gram-negativas e Gram-positivas é a presença de uma membrana externa adicional com lipopolissacarídeos (LPS) e uma parede celular peptidoglicano mais fina no espaço periplasmático. LPS inclui uma porção hidrofóbica de lipídio A, uma endotoxina, que é um dos mais potentes indutores bacterianos de tempestades de citocinas em pacientes (Greenfield *et al.*, 2021).

Dentre as bactérias Gram-negativas, há, ainda, outra divisão: as enterobactérias e os bacilos não fermentadores. Apesar de o primeiro grupo ser o mais frequentemente encontrado em infecções nosocomiais, sobretudo em pacientes imunodeprimidos, os bacilos

não fermentadores ainda constituem problemática importante no meio clínico, posto que culminam, frequentemente, com infecções fatais. Tais microrganismos podem afetar praticamente todos os sistemas do organismo, como o sistema digestivo, nervoso, urinário e ainda cair na corrente sanguínea, induzindo sepse (El Chakhtoura, 2018).

Com base em modelos estatísticos preditivos, estimou-se que, em 2019, ocorreram 4,95 milhões de mortes no contexto global motivadas por resistência antimicrobiana. Dentre essas fatalidades, acredita-se que a maioria aconteceu na região da África Subsaariana Ocidental, no que diz respeito a todas as idades afetadas (Aguiar *et al.*, 2023). Além disso, a revisão sobre resistência antimicrobiana, encomendada pelo Governo do Reino Unido, argumentou que esse processo pode causar a morte de cerca de 10 milhões de pessoas por ano até 2050. Tal fato dificultaria, inclusive, a resolução de infecções por patógenos que atualmente são facilmente controladas, tornando-os muito mais letais. Modificações quanto a taxa de mortalidade por infecções bacterianas depende de diversos fatores, incluindo o tipo de microrganismo envolvido, imunidade do hospedeiro, gravidade da doença e probabilidade de receber tratamento com antibióticos (De Kraker; Stewardson; Harbarth, 2016).

Outra revisão sistemática realizada por Chokshi *et al.*, (2019), avaliou o impacto dessa situação crescente em diferentes nações, elencando fatores que poderiam ser agravantes. Foram citados determinantes para a proliferação dessa resistência microbiana como: falta de vigilância do desenvolvimento de resistência, má qualidade dos antibióticos disponíveis, uso clínico indevido e facilidade de disponibilidade de antibióticos. Tais achados ressaltam a importância de melhorar a vigilância e as práticas de controle de infecções, destacando que a investigação sobre novos antibióticos está a atenuar devido à falta de incentivos econômicos para a investigação de antibióticos.

2.2 *Acinetobacter baumannii*

O gênero *Acinetobacter* foi publicado pela primeira vez em 1968 pelo bacteriologista Paul Baumann e mais tarde foi oficialmente reconhecido em 1971 pela Taxonomia de Moraxella e Allied Bacteria (Howard *et al.*, 2012). No nível de espécie o gênero é descrito como Gram-negativo, cocobacilo, catalase-positivo, oxidase-negativo, imóvel, estritamente aeróbico, não fastidioso (Almasaudi, 2018). Atualmente já foram reconhecidas mais de 50 espécies designadas de *Acinetobacter*, com a maioria sendo não patogênico (Harding *et al.*, 2018). Os membros deste gênero que são mais relevantes na clínica têm semelhanças fenotípicas e genotípicas e, portanto, frequentemente é considerado o complexo *Acinetobacter*

calcoaceticus-baumannii (Acb) (Schleicher *et al.*, 2013). Há cinco espécies patogênicas e uma não patogênica no complexo Acb: *A. nosocomialis*, *A. pittii*, *A. seifertii* e *A. dijkshoorniae*, e por último *A. calcoaceticus* (não patogênico) e a mais relevante clinicamente *A. baumannii* (Harding *et al.*, 2018).

Nos últimos anos, as espécies de *Acinetobacter* vêm recebendo atenção especial por se tornarem uma causa significativa de doenças e infecções críticas associadas à assistência à saúde (Lima *et al.*, 2019). *A. baumannii* está predominantemente relacionado a infecções clínicas de âmbito hospitalar em todo o mundo e é um patógeno Gram-negativo aeróbico que leva desde a infecções locais da pele, trato urinário e outros tecidos moles e até corrente sanguínea com infecções sistêmicas (Lee *et al.*, 2017).

Segundo a OMS *A. baumannii* é um dos patógenos nosocomiais mais importantes e um grande modelo de resistência aos antimicrobianos. Sua resistência preocupa os médicos que tratam de doenças infecciosas. Para isto, o medicamento carbapenem foi usado como uma alternativa de tratamento, porém com o tempo tornou-se resistente a multirresistentes (MDR), pan-resistentes a medicamentos (PDR) e extra-resistentes a medicamentos (XDR). As principais preocupações de saúde são controlar a resistência elevada transferida como gene de resistência a antibióticos (Zahra, 2022).

A. baumannii pertence a “ESKAPE” seis patógenos com multirresistência e virulência. Este grupo é responsável pela maioria das infecções nosocomial no sistema de saúde e pode evitar o efeito biocida dos agentes antimicrobianos, colonizam facilmente pacientes imunossuprimidos nas Unidades de Terapia Intensiva - UTIs. É transmitida através do contato da equipe médica com os pacientes, uma vez que se encontra na pele da maioria dos profissionais de saúde podendo sobreviver até um mês em superfícies secas. Devido ao recente aumento de infecções e surtos causados por *A. baumannii* MDR, é importante ter conhecimento deste patógeno para busca de alternativas eficazes de controle da infecção e para o tratamento de pacientes gravemente enfermos que foram infectados por este patógeno (Ibrahim, 2021; Nguyen; Joshi, 2021).

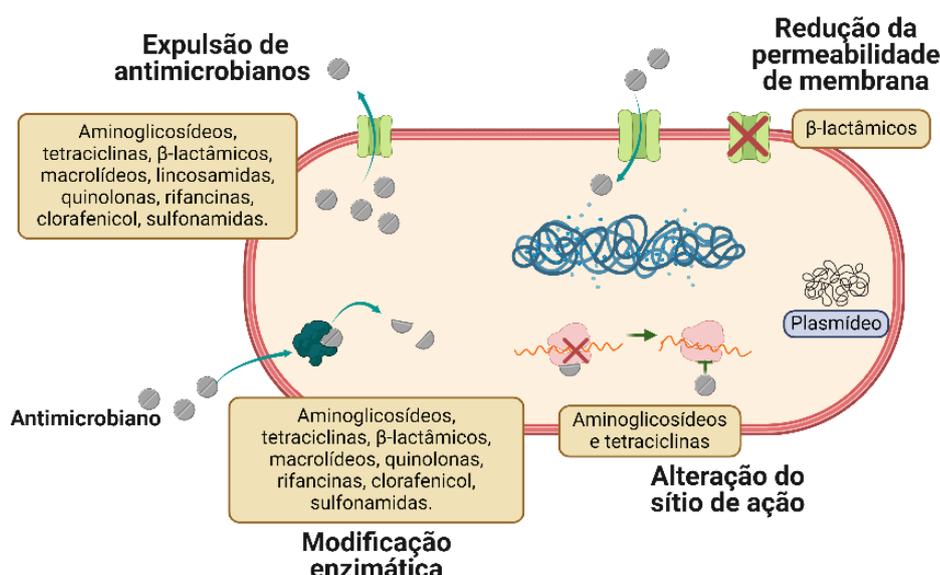
A OMS publicou uma lista de patógenos para priorizar na pesquisa com cautela urgente, incluindo os patógenos MDR mais críticos de *A. baumannii*, *P. aeruginosa* e várias *Enterobacteriaceae* (Mancuso *et al.*, 2021). A maioria das bactérias MDR listadas são Gram-negativas (Breijyeh *et al.*, 2020). OMS alertou, especialmente, para a priorização de cuidado quanto a um patógeno que foi considerado o mais crítico no sentido da demanda de novas substâncias antibacterianas capazes de eliminá-lo ou enfraquecê-lo: o *Acinetobacter baumannii* (OMS, 2017). Tal bactéria já detém cepas resistentes a grande parte dos carbapenêmicos

disponíveis no mercado, e apresenta capacidade de formar biofilme, de modo que as infecções causadas por ela, geralmente atreladas ao trato respiratório ou urinário, são agravadas e ainda mais difíceis de se erradicar (Zhang, 2021).

2.3 Mecanismos de resistência

As bactérias possuem e/ou desenvolveram vários mecanismos de resistência a antimicrobianos que se enquadram em quatro grandes categorias (Figura 1):

Figura 1 - Representação esquemática dos principais mecanismos de resistência aos antibióticos.



Fonte: Autoria própria, 2024.

A partir de sua estrutura e morfologia as bactérias podem levar a limitação na absorção de determinadas drogas. Como ocorre quando o LPS em bactérias Gram-negativas fornece uma barreira física que protege a célula de vários grupos de moléculas. Dessa forma, os fármacos são internalizados nessas bactérias através de canais de porina que permitem a captação de moléculas hidrofílicas. Mutações que alteram sua seletividade ou que reduzem o número de porinas expressas são os dois principais mecanismos de resistência antimicrobiana. As bactérias Gram-positivas, sem membrana externa, possuem uma parede celular peptidoglicana e a restrição da absorção da droga não é tão prevalente (Impey *et al.*, 2020). Entretanto, espécies bacterianas patogênicas desenvolveram um mecanismo que consiste em

espessar a parede celular para limitar a quantidade de fármaco que entra na célula (García *et al.*, 2017).

As bactérias inativam drogas por ligação covalente ou processos enzimáticos. Em primeira instância, antibióticos comuns (aminoglicosídeos, estreptograminas, fluoroquinolonas, cloranfenicol) podem ser inativados por acetilação, fosforilação ou adenilação. Outro principal mecanismo pelo qual as bactérias podem inativar antibióticos β -lactâmicos (cefalosporinas, penicilinas e cefamicinas) é por hidrolisação. β -lactamases são o exemplo mais comum: essas enzimas fornecem resistência aos antibióticos β -lactâmicos hidrolisando um local específico na estrutura do anel β -lactâmico (Zhe *et al.*, 2022).

Outro mecanismo de resistência envolve a mutação/alteração do alvo da droga. Sabe-se que a maioria dos antimicrobianos possui um mecanismo de ação contra um alvo celular específico e esta é uma das razões pelas quais as bactérias não são suscetíveis a uma determinada classe de moléculas. Cepas de Gram (+), por exemplo, tornam-se resistentes a drogas β -lactâmicas via alteração das proteínas ligadoras de penicilina, que são transpeptidases envolvidas na construção da parede celular. O *S. aureus* adquire resistência ao glicopeptídeo vancomicina por diminuir a capacidade de ligação dessa molécula à parede celular, através de uma modificação da porção terminal do lipídio precursor do peptidoglicano II (Miklasińska-Majdanik, 2021).

Ainda, as bactérias podem eliminar substâncias tóxicas internalizadas através de um mecanismo envolvendo bombas de efluxo, que podem ser constitutivamente expressas ou superexpressas sob certas condições. Muitas dessas bombas realizam o transporte de diferentes tipos de substâncias. Sendo apropriadamente identificadas como bombas de efluxo multidrogas, e seu número aumentado geralmente está associado ao alto nível de resistência e às infecções bacterianas clinicamente significativas (Ghajavand *et al.*, 2019).

Cepas de *A. baumannii* podem desenvolver múltiplos mecanismos de resistência a antibióticos, isso a torna um importante problema de saúde em pacientes imunocomprometidos. Estudos mostraram sua resistência a antibióticos β -lactâmicos como ceftriaxona e tetraciclina, a terceira geração de cefalosporinas e a mais recente resistência aos carbapenêmicos com resistência próxima de 86% ao meropenem e ao imipenem. Além disso, essas cepas possuem a capacidade de produzir várias enzimas modificadoras de aminoglicosídeos e a maioria dessas enzimas está relacionada à resistência às fluoroquinolonas (Al-Kadmy *et al.*, 2018).

Estudos do perfil genético e fenótipo revelaram que fatores de virulência incluem lipopolissacarídeos, sistemas de secreção de proteínas, fosfolipases, proteases, polissacarídeos capsulares, porinas da membrana externa e sistemas quelantes de ferro (Ramirez *et al.*, 2020).

Significativamente, a proteína da membrana externa é um canal primário não específico em *A. baumannii* e parece ser essencial para seus altos níveis de resistência intrínseca a vários antibióticos (Oyejobi, *et al.*, 2022).

Ademais, a produção de β -lactamases, enzimas que degradam antibióticos, já são observadas em muitas dessas cepas, inativando os compostos em questão. Outras enzimas, como modificadoras de aminoglicosídeos, ou mesmo mutações na topoisomerase ou DNA girasse, além do aumento de expressão de bombas de efluxo e perda do LPS de membrana também podem estar relacionadas ao processo de resistência adquirida por parte dessas bactérias (Da Cunha, 2019).

Mais tarde, oxacilinasas do tipo OXA como o blaOXA-23 foi detectada em *A. baumannii* em todo o mundo, China, Londres, Cingapura e Brasil, e essas enzimas são codificadas por genes cromossômicos ou localizadas em plasmídeos. *In vivo* a enzima confere o mecanismo de resistência aos antibióticos ticarciclina, meropenem, amoxicilina e imipenem (Ibrahim *et al.*, 2021).

A diminuição da permeabilidade de membrana, intervém na natureza química que compõe as membranas bacterianas, com objetivo de evitar que o antimicrobiano entre nas células. Neste sentido, merece destaque a participação das porinas, que são moléculas seletivas à passagem de moléculas de fora para dentro das células, que irá limitar a entrada de determinados antimicrobianos. Como exemplos deste mecanismo de resistência são as porinas CarO e OmpA em *A. baumannii*. A porina OmpA tem sido associada à diminuição das concentrações inibitórias mínimas de cloranfenicol, aztreonam e ácido nalidíxico, e a porina CarO à resistência aos carbapenêmicos (Lee *et al.*, 2017).

2.4 Formação de biofilme

Biofilmes são caracterizados por um agrupamento organizado de microrganismos que vivem dentro de uma matriz polimérica extracelular, essa matriz é autossustentável e pode aderir a diversas superfícies. Podem ser compostos de comunidades homogêneas ou heterogêneas de bactérias dentro de uma matriz polimérica, que é composta principalmente por polissacarídeos, bem como outras biomoléculas, como proteínas, lipídios e ácidos nucleicos. Análises da matriz polimérica revelaram que os biofilmes são hidrogéis com comportamento viscoelástico, permitindo-lhes resistir a tensões mecânicas (Firmino *et al.*, 2018).

Trata-se de uma comunidade bacteriana capaz de colonizar superfícies abióticas (por exemplo, dispositivos médicos e implantes) e bióticas (por exemplo, tecidos humanos)

(Casciaro *et al.*, 2018; D'ângelo *et al.*, 2015). A formação de biofilme é um mecanismo de defesa utilizado por bactérias patogênicas para se proteger das ameaças externas, produzindo uma matriz extracelular espessa e pegajosa que contém DNA, proteínas e polissacarídeos. Nessa condição, as células do biofilme entram em uma taxa de divisão lenta, o que enfraquece o efeito de moléculas de antibióticos visando processos celulares específicos. Isso leva os biofilmes a estarem frequentemente associados a infecções crônicas e com grande demanda capazes de romper essas comunidades e/ou inibir sua formação são altamente demandadas (Mea; Yong; Wong, 2021).

Acredita-se que essa capacidade de dessensibilização gradativa é atrelada a dois mecanismos de organização desses seres recentemente mais elucidados: a formação de biofilme e o *quorum sensing* (QS) (Mukherjee *et al.*, 2019). O primeiro deles está diretamente ligado ao segundo, de forma que a arquitetura das colônias bacterianas, orientadas em comunidades estruturadas, fixadas à superfície mediante matriz extracelular formada por polissacarídeos, proteínas e DNA extracelular, se mantém por meio do *quorum sensing*. Tal estratégia permite que esses seres unicelulares se comuniquem e se reorganizem, mandando sinalização célula a célula a respeito de mudanças no meio e na composição ou na densidade da espécie (Mayer *et al.*, 2020).

A formação de biofilme é um importante mecanismo de virulência e uma característica marcante de *A. baumannii*. O que confere a este patógeno a capacidade de crescer e replicar-se mesmo sob condições desfavoráveis. Utilizam diversas ferramentas em que às vezes são tão simples quanto a capacidade de persistir em um ambiente. Esta capacidade de persistir, particularmente em condições adversas, como hospitais onde o uso de antibióticos e desinfetantes é elevado, dá à *Acinetobacter* uma clara vantagem. Podendo sobreviver em ambientes hostis (dessecação, terapias antimicrobianas, indisponibilidade de nutrientes) e ainda colonizar superfícies bióticas e abióticas por períodos prolongados de tempo devido à sua capacidade de formar essas estruturas complexas de biofilmes (Eze *et al.*, 2018).

A taxa de formação de biofilme por *A. baumannii* é maior do que em outras espécies. Estudos atuais mostraram como a capacidade de formação de biofilme desse microrganismo exerce seu efeito sobre os fenótipos de resistência, o desenvolvimento do resistoma e a disseminação de genes de resistência dentro dos biofilmes por conjugação ou transformação, tornando assim o biofilme um ponto de comunicação para troca de material genético. Vários genes controlam a formação de biofilmes de *A. baumannii* sendo este fato um potencializador da resistência antimicrobiana no organismo (Roy *et al.*, 2022).

A formação de biofilme por *A. baumannii* mostra que este patógeno está fenotipicamente relacionado à produção de exopolissacarídeos e estruturas *pilus* como bactérias protegidas pela defesa do hospedeiro (Hetta *et al.*, 2021). O estágio inicial da colonização ou infecção se dá através da interação com as células do hospedeiro através, principalmente, de receptores específicos. A partir do desenvolvimento de microcolônias é que se inicia a criação de uma rede de estrutura cumulativa. Estas estruturas são formadas em superfícies vivas e não vivas. O biofilme é uma defesa das bactérias aos danos do meio ambiente como respostas do hospedeiro, antibióticos, produtos de limpeza e desinfetantes. Contribuem para efeitos bacterianos prolongados e mais severos. Além disso, diferentes fatores, como estruturas bacterianas, nutrientes, componentes de superfície, QS e moléculas ocultas bacterianas, afetam os biofilmes (Gaddy; Actis, 2009). A descoberta dessa estratégia evolutiva vem de encontro, assim, à utilização de vários antimicrobianos, de modo que a tolerância a tais compostos por parte desses arranjos demonstra-se uma realidade.

2.5 Antibioticoterapia no tratamento de infecções bacterianas

O estabelecimento de antibacterianos vai depender de seus alvos. Vários agentes antibacterianos têm como alvo diferentes vias alternativas específicas de bactérias, incluindo a parede celular bacteriana e estruturas de membrana; o fundamento central da replicação do DNA, transcrição de RNA e tradução de proteínas; as vias metabólicas da síntese nucleica e de aminoácidos e lipídios. Embora cada classe antibacteriana tenha seus próprios méritos, todos os agentes antibacterianos devem primeiro atingir sua área alvo. As drogas que têm como alvo a parede celular da bactéria têm acesso mais fácil ao seu alvo do que aquelas que têm como alvo o citoplasma (Kim *et al.*, 2023).

A maioria dos antibióticos existentes foram desenvolvidos a partir de microrganismos e muitos organismos no ambiente, incluindo plantas e animais, produzem naturalmente substâncias antimicrobianas (Holmes, 2016). Já foi descoberto, contudo, que plantas apresentam uma espécie de sistema imune adaptativo bem desenvolvido, de maneira que as permite evoluir frente a seus inimigos naturais, em uma interação também recíproca, reconhecendo sinais de patógenos e ativando respostas imunológicas com a ajuda de metabólitos secundários (Malheiro *et al.*, 2016). Nesse sentido, pesquisas envolvendo esses compostos, comumente conhecidos como óleos essenciais, têm ganhado espaço no meio científico e sua aplicabilidade quanto à problemática dos microrganismos multirresistentes demonstra-se cada vez mais promissora.

Os carbapenêmicos, são agentes antimicrobianos da classe dos β -lactâmicos, importantes no tratamento de infecções hospitalares e geralmente são prescritos como antibióticos de último recurso para pacientes gravemente enfermos, isso porque possuem um amplo espectro de atividade, comparado às outras classes de antibióticos existentes, bem como a potência mais proeminente contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (Papp-Wallace *et al.*, 2011). São agentes antibacterianos que inibem irreversivelmente a enzima transpeptidase, que catalisa a reação de transpeptidação entre as cadeias de peptidoglicano da parede celular bacteriana (Walsh, 2003).

Nas últimas décadas, o aumento da resistência aos carbapenêmicos foi causado pela disseminação global de *Enterobacterales* produtoras de carbapenemases (EPC). As carbapenemases são membros das β -lactamases que são divididas com base em suas estruturas moleculares. Embora certos antibióticos tradicionalmente utilizados, como a amicacina, polimixinas, tigeciclina e fosfomicina, possam permanecer eficazes contra alguns EPC, a sua utilização clínica é limitada devido a efeitos adversos, incluindo toxicidade renal, penetração nos tecidos ou necessidade de tratamento combinado (Lee, 2022).

2.5.1 Meropenem

Meropenem é uma das poucas opções de tratamento de baixa toxicidade restantes para infecções por *A. baumannii* MDR e XD (Sabet *et al.*, 2020). Meropenem é um antibiótico da classe β -lactâmico do tipo carbapenêmicos com amplo espectro de ação e baixa toxicidade. Esse antimicrobiano apresenta relativa cobertura contra uma variedade de microrganismos, sendo amplamente prescrito para o tratamento de infecções graves e nosocomiais em pacientes hospitalizados. O meropenem, assim como alguns outros agentes antimicrobianos tradicionais, é um medicamento dependente do tempo e sua ação bactericida inibe a síntese da parede celular bacteriana (Streit *et al.*, 2016).

Meropenem é uma molécula hidrofílica que penetra rapidamente na maioria dos tecidos e fluidos corporais após administração intravenosa. Noventa e oito por cento do meropenem é farmacologicamente ativo sendo a fração não ligada às proteínas. Com meia-vida de aproximadamente 1 h em pacientes com função renal normal, é eliminado tanto pelo metabolismo quanto pela excreção, expressam uma relação significativa com a incapacidade de atingir metas predefinidas de concentração mínima. Esse fato muitas vezes dificulta o resultado clínico. Por outro lado, a diminuição da função renal também pode aumentar a concentração sanguínea. A insuficiência renal e algumas terapias de substituição renal podem aumentar a

meia-vida do meropenem para mais de 4,5 horas, levando a altas concentrações plasmáticas e possível toxicidade (Kothekar *et al.*, 2020).

Estudos envolvendo os efeitos antibacterianos usando meropenem para tratar *A. baumannii* extensivamente resistente a medicamentos, destacam a ação direta na síntese da parede celular bacteriana ao inibir a desfosforilação do transportador lipídico. Em contraste, os carbapenêmicos aceleraram os defeitos da parede celular, restringindo a secreção da mucopeptídeo sintase na membrana celular. Na célula de biofilme, o meropenem recebe destaque por apresentar efeitos 100% aditivos quando a combinados com antibióticos como polimixina, rifampicina e bacitracina (Mascher *et al.*, 2003).

Enzimas intrínsecas a todas as *A. baumannii*, conhecidas como oxacilinasas (OXAs), conferem resistência ao carbapenem. Estas são encontradas principalmente codificados em plasmídeos. Pesquisas atuais mostram que, em *A. baumannii*, além da resistência aos β -lactâmicos apresentada por estas enzimas, podem existir mecanismos não enzimáticos como o CarO que está associado à resistência contra este tipo de antimicrobianos, como alterações nas porinas das suas membranas, conferindo resistência ao imipenem e meropenem (Benmahmod *et al.*, 2019). Não apenas as porinas estão relacionadas a essa resistência, mas também bombas de efluxo que geram resistência contra vários β -lactâmicos, aminoglicosídeos, eritromicina, cloranfenicol, fluoroquilonas, tetraciclina e trimetoprim (Jeon *et al.*, 2015).

2.6 Antimicrobianos derivados de plantas (ADPs)

A prática de usar plantas para fins medicinais já vem de milhares de anos, tendo desempenhado um papel importante na medicina devido à sua variabilidade e abundância de agentes terapêuticos (Fitzgerald; Heinrich; Booker, 2020). No entanto, até o século 18 d.C., o uso de plantas na medicina foi baseado em evidências empíricas. Foi somente com os primeiros estudos realizados por Anton von Störck sobre ervas venenosas e por William Withering sobre luva de raposa, que as bases de uma pesquisa científica sobre plantas medicinais foram lançadas (Sneader, 2005).

A descoberta da droga racional começou em 1806, quando Friedrich Sertürner isolou um composto bioativo da planta papoula, ou seja, o alcalóide com efeitos analgésicos e indutores do sono e que ele chamou de "morfina". Isso induziu um impulso significativo na pesquisa e isolamento de compostos bioativos de plantas, que posteriormente levaram a um crescimento exponencial do interesse científico e econômico nos produtos naturais derivados

de plantas (PNDPs) que chega a movimentar até os dias atuais: ~25% dos cerca de 1,1 trilhão de dólares americanos investidos anualmente no mercado farmacêutico (Calixto, 2019).

A descoberta de medicamentos derivados de plantas é atualmente dificultada por uma série de fatores científicos, sociais e econômicos. Por outro lado, os PNDPs são considerados candidatos promissores para o desenvolvimento de novos medicamentos de fontes naturais, graças às suas características intrínsecas, representados como fonte direta de agentes terapêuticos ou fitoterápicos. Sendo facilitada a partir de novas abordagens computacionais e biológicas para proceder à identificação, seleção e produção de PNDPs que hoje possuem um renovado potencial científico e econômico (Romano; Tatonetti, 2019).

No estudo realizado por Wang *et al.*, (2020) com óleo essencial de gengibre contra bactérias Gram-negativas revelou preliminarmente esta substância apresenta mecanismos capazes de atuar diretamente na membrana celular, destruindo sua estrutura e, ainda, aumentando a permeabilidade da membrana da célula, fazendo com que as bactérias percam suas funções estruturais básicas causando, assim, a morte celular bacteriana em concentrações definidas. Outro mecanismo importante é que os compostos hidrofóbicos presentes no óleo de gengibre interagem com a parte lipofílica da membrana e mitocôndrias isoladas, interrompendo toda sua integridade e função (proteína, ácido nucléico, metabolismo energético e atividade enzimática) (Jubair *et al.*, 2021).

Pinheiro *et al.*, (2022) investigaram em seu estudo a capacidade inibitória e potencial antibacteriano do óleo essencial de *Lippia origanoides* contra bactérias Gram-negativas com fenótipo de multirresistência, trazendo uma perspectiva de antimicrobiano natural com efetiva atividade inibitória em todas as vinte cepas testadas, dentre elas: *E. coli*, *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*. Sendo associado este efeito ao timol, que é componente prevalente (87,27%) neste óleo.

Em outro estudo, a investigação de combinações em OEs de *Eucalyptus camaldulensis* com três antibióticos convencionais (gentamicina, ciprofloxacina e polimixina B) exibe sinergia mesmo em algumas cepas de *A. baumannii* multirresistentes dessensibilizadas. As CIMs detectadas para os OEs de *Eucalyptus camaldulensis* variaram de 0,5 a 2 µg/mL. Quando dois OEs foram combinados com ciprofloxacina, foi identificada sinergia contra duas das três cepas de *A. baumannii* MDR testadas com um valor de índice IFIC <0,5 (Knezevic *et al.*, 2016).

Sabe-se que a atividade antibacteriana atrelada a esses óleos naturais está relacionada com grupos alcoólicos, fenólicos ou aromáticos. Esses compostos geralmente estão associados a alta volatilidade, de forma que seu tempo de ação tem certa limitação, mas sua

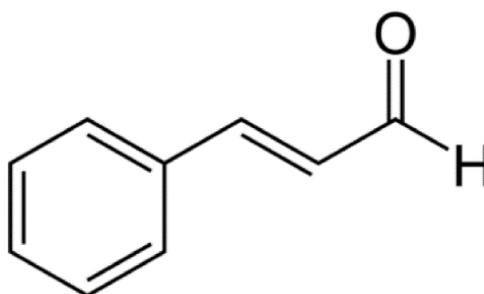
origem natural e baixa toxicidade os trazem como alternativa importante e atrativa em muitos segmentos (Mangalagiri; Panditi; Jeevigunta, 2021).

Outro ponto que tem chamado atenção dos pesquisadores é a combinação de antibióticos convencionais e produtos naturais com propriedades antimicrobianas. Visto que as moléculas naturais apresentam capacidade em aumentar o efeito antibacteriano do antibiótico e, portanto, recuperar sua capacidade inicial de eliminar as cepas de bactérias mais resistentes. Estes efeitos ocorrem, por exemplo, pela associação de vários mecanismos de ação simultâneos, facilitada pela complexidade estrutural e estereoquímica de moléculas ativas naturais com uma ampla variedade de grupos funcionais. A interação entre dois compostos antimicrobianos pode resultar em sinergia, efeitos aditivos ou antagonismo. Tal estratégia também pode reduzir a toxicidade do antibiótico, diminuindo a sua dosagem, o que pode ser notável na maioria das infecções resistentes (Thirapanmetee *et al*, 2021).

2.7 *Trans*-cinamaldeído (TC)

Entre os componentes encontrados nos óleos essenciais, há um crescente interesse em estudar as propriedades do cinamaldeído, principal componente ativo do óleo essencial de canela (Ashakirin *et al.*, 2017). Este é um tipo de aldeído α,β -insaturado, pertencente à categoria de fenilpropanoides, cujo uso é bastante comum na indústria alimentícia, como aditivo em bebidas, doces, sorvetes e condimentos (Usai; Di Sotto, 2023). A molécula consiste em um anel fenílico com um aldeído insaturado ligado a ele. A estrutura da molécula é planar devido à conjugação do sistema de elétrons (Zinn *et al.*, 2015).

Figura 2 - A estrutura molecular do *trans*-cinamaldeído



Fonte: molview.org.

O cinamaldeído ocorre naturalmente como um estereoisômero *trans*, nomeadamente *trans*-3-fenil-2-propenal ou *trans*-cinamaldeído, que é especialmente abundante

nos óleos essenciais de *Cinnamomum* spp. (Fam. Lauraceae), onde contribui para o aroma típico (Yanakiev, 2020). Ele é retirado das espécies *Cinnamomum* spp., bastante comuns na Ásia e na África, onde várias partes dessas plantas são aproveitadas, como caule, flores e frutos, dando origem a cerca de 80 compostos. Mas a substância em questão é obtida diretamente da casca do caule dessa espécie (Jayaprakasha *et al.*, 2011) e a variante isomérica trans é a responsável direta pela atividade antimicrobiana do cinamaldeído, sendo associada, por exemplo, a alterações em processos fundamentais à sobrevivência desses microrganismos. O *trans*-cinamaldeído (TC) também foi responsável pela interrupção da formação de biofilme por parte de algumas espécies (Vasconcelos *et al.*, 2018).

Sua atividade antimicrobiana parece originar-se da capacidade da substância em interagir com a parede bacteriana e comprometer sua integridade. Na prática, o grupo aldeído pode ser prontamente absorvido pelo grupo hidrofílico presente nas superfícies bacterianas. Dessa forma, ele atravessa a parede celular e inicia um processo de inibição ao danificar a estrutura de polissacarídeos. Esse dano resulta no vazamento de íons, proteínas e ácidos nucleicos, desestabilizando a célula (Usai; Di Sotto, 2023) Pode haver também inibição da ATPase, das porinas de membrana e do efeito – “*quorum sensing*” – uma espécie de comunicação e manutenção da homeostase das colônias bacterianas. (Vasconcelos *et al.*, 2018).

Em uma pesquisa comparando o efeito de algumas substâncias com o da ciprofloxacina e da gentamicina, o derivado do *Cinnamomun* sp. obteve equivalência bactericida em relação aos dois antibióticos na eliminação de cepas de *A. baumannii*, além de vantagem na inibição da formação de biofilme em concentrações de 4 - 25 µg/mL em comparação a 33 - 125 µg/mL para ciprofloxacina e 62,5 - 764 µg/mL para Gentamicina. Também obteve atividade bacteriostática superior, com CIM (concentração inibitória mínima) 1,5 - 6 µg/mL contra 31 - 132 µg/mL para ciprofloxacina e 62 - 764 µg/mL para gentamicina (Pormohammad *et al.*, 2022).

Ademais, observa-se efeito sinérgico da substância em adição a alguns antibióticos. Encontra-se, na literatura científica, efeitos intensificados dos antibióticos imipenem, meropenem, gentamicina e amicacina contra *A. baumannii* em associação ao TC (Guerra *apud* Vasconcelos, 2018). Tal efeito parece surgir de sua capacidade de danificar a parede bacteriana e alterar sua permeabilidade, afetando assim a absorção de antibióticos e prejudicando a homeostase celular bacteriana, levando à autólise e morte celular (Shi *et al.*, 2017). Assim, quantidades bem menores de antibiótico e de TC quando em associação têm efeitos antibacterianos mais significativos - possibilitando uma redução significativa no valor da CIM

do medicamento combinado, de forma a sugerir propriedades promissoras de sensibilização bacteriana.

Alguns aspectos, entretanto, limitam o potencial do TC como importante opção antimicrobiana no cenário crescente de resistência bacteriana, e suscitam soluções práticas. Em condições *in vivo*, por exemplo, há a possibilidade de que o TC se decomponha em ácido cinâmico por meio da catálise enzimática antes de poder manifestar sua atividade antibacteriana, o que sugere uma possível instabilidade na corrente sanguínea. Foi também observado que o TC é um composto com solubilidade em água reduzida (aproximadamente 1,1 g/L a 20 °C) e volátil à luz e ao ar se submetido a períodos prolongados, de forma a dificultar o seu manejo, por exemplo (Doyle *et al.*, 2019). Alternativas têm surgido no sentido de solucionar tais questões, como a proposta das nanoemulsões, que surgiram a partir de extensos estudos nanotecnológicos para um novo sistema de entrega de medicamentos e parecem alterar as propriedades físico-químicas desse composto (Ashakirin *et al.*, 2017).

O uso de extratos de cinamaldeído e óleos essenciais parece ser uma alternativa a ser explorada para a problemática das bactérias multirresistentes, podendo, inclusive, reduzir os custos dos tratamentos já disponíveis no mercado farmacêutico. Não foram observados, inclusive, malefícios à saúde de mamíferos atrelados ao uso desses compostos, como surgimento de neoplasias ou toxicidade crônica (Vasconcelos *et al.*, 2018). Reforça-se, entretanto, a necessidade de experimentos *in vivo* com essas substâncias, para melhor compreensão do seu mecanismo de ação e farmacodinâmica.

2.8 Potencial do TC no melhoramento da antibioticoterapia atual

Com a escassez de novos antimicrobianos, a combinação com antibióticos se tornou uma alternativa capaz de reduzir, significativamente, a dose do tratamento e ao mesmo tempo reduzir a toxicidade de alguns antibióticos relacionados à dose terapêutica (Coates *et al.*, 2020). Uma possível alternativa para solucionar esse problema é utilizar OEs como adjuvantes aos antibióticos, com o objetivo de obter interações sinérgicas (Milenković; Stošović; Slavkowska, 2018). A interação sinérgica entre OE de plantas e antibióticos pode constituir uma alternativa potencial para combater o crescimento e disseminação de bactérias multirresistentes (Nafis *et al.*, 2019).

A aplicação de produtos naturais derivados de plantas combinados com antibióticos para aumentar sua atividade é uma alternativa promissora nas opções de terapia antimicrobiana em rápido desenvolvimento. Certas plantas medicinais podem inativar mecanismos de

resistência a antibióticos. Esta capacidade é devida à sinergia entre compostos de plantas medicinais e antibióticos, cuja atividade seria baixa quando os compostos estão ausentes. Identificar o composto em um extrato que seja responsável pela interação sinérgica é difícil. Além disso, além de sua própria atividade antimicrobiana alguns compostos apresentam atividade sinérgica por outros mecanismos polivalentes (Vaou *et al.*, 2022).

Os óleos essenciais (OEs) e seus compostos bioativos fazem parte do grupo de metabólitos secundários que podem interagir com antibióticos. Uma combinação de cinco OEs com sete antibióticos foi estudada; o efeito combinado de hortelã-pimenta, casca de canela e OE de lavanda com piperacilina e meropenem mostrou sinergia significativa contra diferentes cepas de *E. coli* (Munekata *et al.*, 2020).

Guerra *et al.*, (2012) testaram diferentes combinações com compostos derivados de plantas e antimicrobianos disponíveis. Em sua pesquisa a combinação do OE de limão com amicacina e associação do OE de canela com amicacina mostrou ser sinérgica contra cepas de *A. baumannii*, onde cada associação dessa obteve um ICIF de 0,04, apresentando uma forte interação sinérgica. A justificativa para este potencial efeito sinérgico pode estar associado à predominância do limoneno e do TC nos OEs de limão e canela, respectivamente. O cinamaldeído atua principalmente na ruptura da membrana pela inibição da atividade ATPase (Langeveld; Veldhuizen; Burt, 2014).

O meropenem, como antibiótico carbapenêmico, tem um perfil de baixa toxicidade e é altamente resistente às serina β -lactamases produzidas por muitas bactérias Gram-negativas MDR, desempenhando assim um papel fundamental no tratamento de várias infecções que não são facilmente tratadas por outras bactérias. No entanto, o aumento anual de cepas de *A. baumannii* resistentes ao meropenem chamaram a atenção de médicos e microbiologistas. Um grande foco tem sido colocado em terapias combinadas para reduzir a resistência do *A. baumannii*, e numerosos experimentos têm sido realizados com terapias à base de meropenem (Falagas *et al.*, 2016; Jiang *et al.*, 2018).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial do *trans*-cinamaldeído como adjuvante natural da atividade de meropenem contra células planctônicas e biofilme de *Acinetobacter baumannii* multirresistentes.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar a atividade antibacteriana do TC contra isolados de *A. baumannii* MDR por disco-difusão;
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) do TC contra diferentes cepas MDR de *A. baumannii*;
- Avaliar o efeito combinatório do TC com meropenem contra diferentes cepas MDR de *A. baumannii*;
- Avaliar o efeito antibiofilme das combinações do TC e meropenem contra *A. baumannii* MDR

4 MATERIAL E MÉTODOS

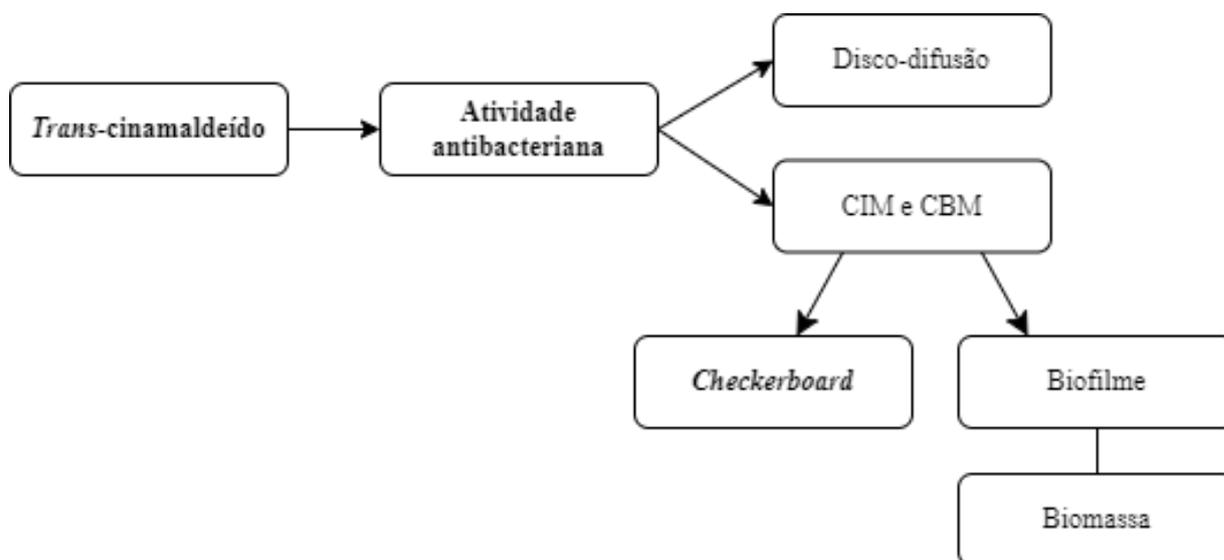
4.1 Tipo de estudo e local da pesquisa

O presente estudo trata-se de uma pesquisa de caráter investigatório, descritivo e experimental com abordagem quantitativa (MEC, 2013). A pesquisa foi realizada no Laboratório de Biofilme e Antimicrobianos (LaBAM) da Universidade Federal do Ceará (UFC) em Sobral.

4.2 Delineamento experimental

A execução dos testes seguiu como base um passo a passo estratégico pré-definido como apresentado na Figura 3. Partindo da realização de uma triagem inicial por disco-difusão e posteriormente testes biológicos mais específicos fundamentais para este tipo de estudo.

Figura 3 - Fluxograma de ensaios biológicos com o *trans*-cinamaldeído frente a isolados clínicos de *A. baumannii* MDR.



Fonte: Autoria própria (2024).

4.3 Preparação da solução de TC

O TC (99%; TC, *trans*-3-fenil-2-propenal) foi adquirido da Sigma-Aldrich® (MO, Estados Unidos). O composto foi solubilizado em DMSO a 1% e diluído no meio BHI (*Brain Heart Infusion*) para obtenção de uma concentração de 16.000 µg/mL. Partindo desta concentração foram realizados os testes para o estudo. A determinação da concentração foi feita a partir da densidade do TC.

4.4 Microrganismos e condições de cultivo

Neste estudo, foram utilizadas seis cepas de *Acinetobacter baumannii*, previamente isoladas e identificadas conforme descrito por Brito *et al.*, em 2021. Estas cepas foram adquiridas do banco biológico do Laboratório de Microbiologia e Parasitologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, Campus Sobral (Tabela 1). Para a preservação, as cepas foram mantidas em meio BHI (*Brain Heart Infusion*), distribuídas em alíquotas de 200 µL, adicionadas de 20% de glicerol e armazenadas a uma temperatura de -80°C.

Tabela 1 – Perfil de resistência dos isolados clínicos de *A. baumannii*.

| Código | Gene OXA | Perfil de Resistência |
|--------|-------------------|---|
| AB04 | OXA-23 | AMP, AMP/SUB, CPM, CFO, CAZ, CRO, CEF, CRX/ AXETIL, CIP, IMP, MPN, PIP/TAZ |
| AB07 | OXA-23 | AMI, AMP, AMP/SUB, CPM, CFO, CAZ, CRO, CEF, CRX/AXETIL, CIP, GEN, IMP, MPN, PIP/TAZ |
| AB13 | OXA-24 | AMP, CPM, CFO, CAZ, CRO, CEF, CRX/ AXETIL, CIP, GEN, IMP, MPN, PIP/TAZ |
| AB49 | OXA-23/ OXA-24 | AMP, CPM, CRO, CEF, CRX/ AXETIL, CIP, GEN, IMP, MPN, PIP/TAZ |
| AB82 | OXA-23 | AMI, AMP, CPM, CEF, CAZ, CRO, CEF, CRX/ AXETL, CIP, GEN, IMP, MPN, PIP/TAZ |
| AB146 | OXA-23 | AMI, AMP, AMP/SUB, CPM, CFO, CAZ, CRO, CEF, CRX/ AXETIL, CIP, GEN, IMP, MPN, PIP/TAZ |

Fonte: Brito *et al.*, 2021. AMI (Amicacina), AMP (Ampicilina), AMP/SUB (Ampicilina/ sulbactam), CPM (Cefepima), CFO (Cefoxitina), CEF (Cefuroxima) CAZ (Ceftazidima), CRO (Ceftriaxona), CRX (Cefuroxima), CRX/AXETIL (Cefuroxima/axetil), CIP (Ciprofloxacino), GEN (Gentamicina), IMP (Imipenem), MPN (Meropenem), PIP/TAZ (Piperacilina/Tazobactam).

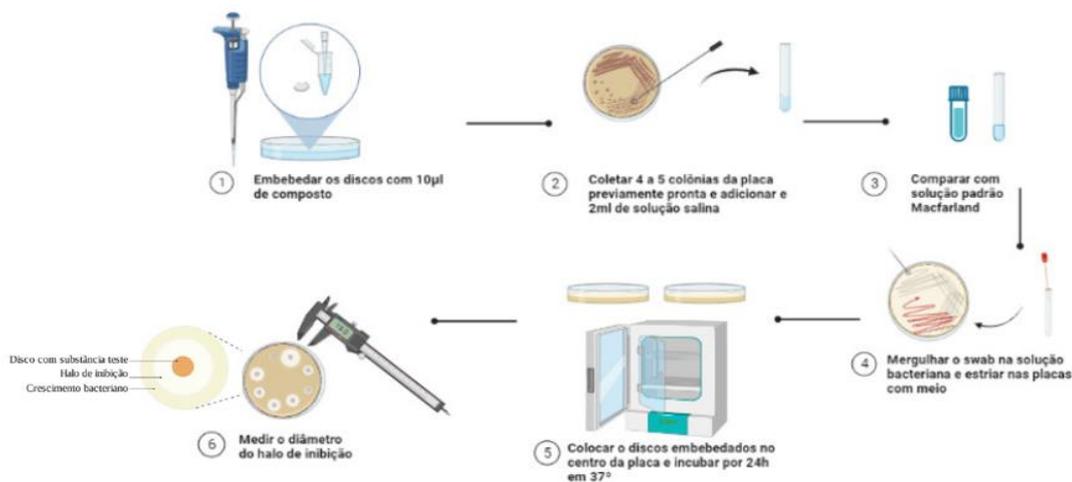
A ativação dos espécimes foi realizada acrescentando-se uma alíquota de 50µL do estoque em 5 mL de caldo BHI e mantido em estufa bacteriológica por 24 horas a 37°C. Após crescimento, o inóculo foi semeado em placa de Mueller-Hinton agar (MHA) utilizando-se uma alça bacteriológica e novamente incubada por 24 h a 37°C. A seguir, foi transferida uma colônia isolada para 5 mL de BHI e incubados por mais 18 h a 37°C. Após crescimento, foi confirmada a pureza da amostra com a observação das características morfo-tintoriais através da coloração de Gram.

4.5 Análises microbiológicas

4.5.1 Teste disco-difusão

A atividade antibacteriana do TC foi determinada pelo método de disco-difusão em MHA (Figura 4). Inicialmente a concentração das cepas foi ajustada a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL em solução salina a 0,85 % conforme o padrão 0,5 da escala de *McFarland*. Em seguida, com um swab estéril, as cepas foram inoculadas em placas de Petri contendo MHA. Posteriormente, discos brancos estéreis de 6 mm de diâmetro embebidos com 10 µL de TC puro foram dispostos na superfície da placa. Os ensaios foram realizados em triplicata e o efeito antibacteriano foi avaliado após 24 horas de incubação a 37° C, através da medição do diâmetro das zonas inibitórias (DZI) em milímetros (mm) por um paquímetro, conforme recomendado pelo Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais (CLSI, 2015), e classificados quanto a sua atividade antagônica como baixa, moderada e alta atividade, quando $DZI \leq 10$ mm, 11 a 14 mm e ≥ 15 mm, respectivamente.

Figura 4 - Representação esquemática da atividade antimicrobiana do *trans-cinamaldeído*.



Fonte: Autoria própria (2024).

4.5.2 Concentração Inibitória/Bactericida Mínima (CIM)/(CBM)

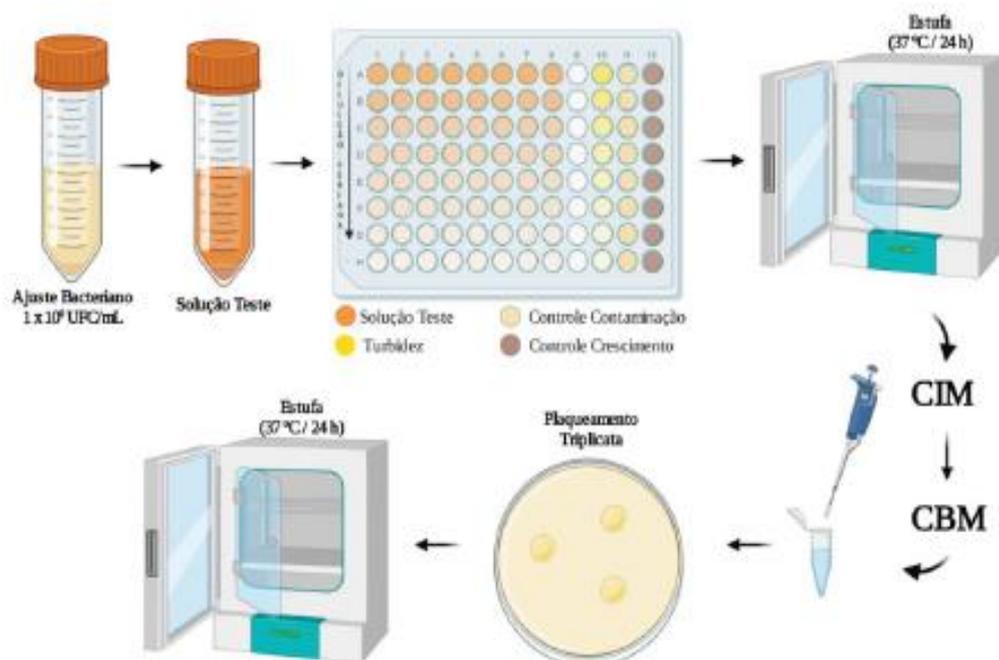
Para determinação da CIM foram realizados ensaios de microdiluição seriada em placas de 96 poços de poliestireno (Figura 5). Onde, a partir da solução mãe de TC na concentração descrita no item 4.3. foi distribuída 200 µL na linha A da placa e as linhas abaixo foram preenchidas com 100 µL de meio caldo BHI. A diluição foi iniciada a partir da linha A homogeneizando cada poço com movimentos de *updown* transferindo 100 µL desta linha para linha B, seguindo esse procedimento até as últimas linhas, onde terão as menores concentrações de TC. Em seguida, foi feito o ajuste da concentração das cepas bacterianas para 1×10^8 unidades formadoras de colônias (UFC/mL) em meio BHI, a partir da densidade óptica (D.O.) obtida com o auxílio de um leitor de placas de microtitulação ELISA a 620 nm. Para isto foi necessária aplicação das fórmulas abaixo:

$$C_i = (4 \times 10^9 - D.O) - 1 \times 10^8 \text{ e } C_i \times V_i = C_f \times V_f$$

Sendo, C_i : concentração inicial do inóculo; C_f : concentração final do inóculo; V_f : Volume final do inóculo. Para finalização da montagem das placas todos os poços selecionados foram adicionados 100 µL das cepas bacterianas ajustadas, obtendo-se então um volume final de 200 µL nos poços. Foram utilizados os seguintes controles: turbidez (meio BHI + TC nas concentrações de 8.000 até a menor concentração de 125 µg/mL), negativo (meio BHI + cepas ajustadas a 1×10^6 UFC/mL) e de contaminação (apenas meio BHI). As placas foram incubadas em estufa por 24 horas a 37° C. A concentração inibitória mínima foi definida como a menor concentração do TC capaz de inibir o crescimento microbiano visível.

A CBM foi determinada a partir das placas utilizadas na CIM, retirando-se 10µL de cada poço onde não apresentaram crescimento bacteriano visível, e inoculados em placas de Petri contendo meio BHI, a fim de saber se nessas concentrações houve efeito bactericida pela substância testada. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Após este período, a CBM foi estabelecida como a menor concentração onde não se observou crescimento bacteriano nas placas de BHI. Os testes foram realizados em triplicata.

Figura 5 - Ilustração da metodologia para determinação da CIM e CBM do *trans*-cinamaldeído.



Fonte: Silva (2022).

4.5.3 Ensaio checkerboard

Para avaliações sinérgicas do TC com o meropeném (MPN) que contra isolados clínicos de *A. baumannii* foi utilizado o método “tabuleiro de xadrez” (do inglês *checkerboard*) de acordo com Vasconcelos *et al.*, (2023) com adaptações. Para as combinações dos extratos, foram utilizados como referência os valores de CIM, iniciando com valores acima da CIM seguindo diluições decrescentes em base 2. Em microplacas de 96 poços, 50 µL do TC foram dispostos na linha A (colunas 1 a 6) e realizado a diluição no eixo vertical em linhas. Posteriormente acrescidos 50 µL do antimicrobiano, previamente diluídos horizontalmente na placa. Dessa forma, em cada poço obteve-se uma combinação de concentrações das duas

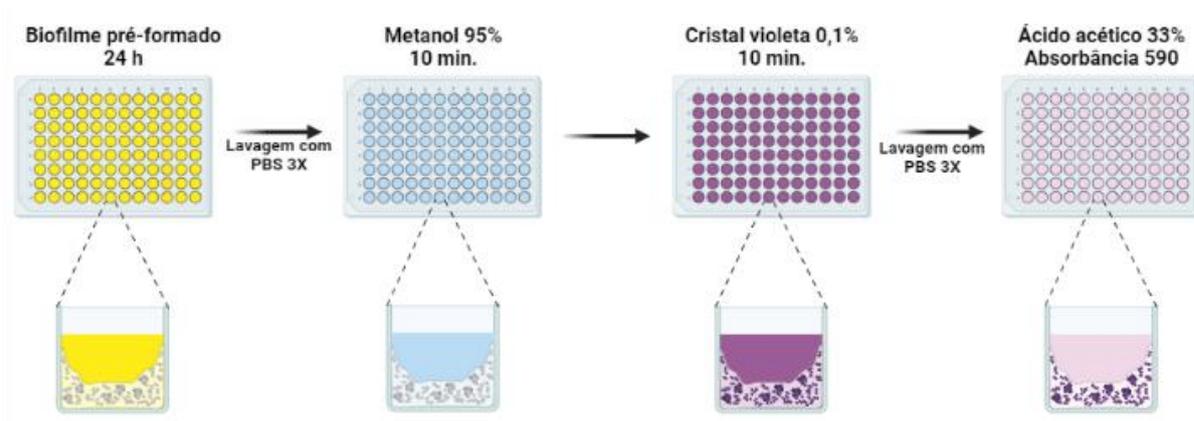
substâncias. Em seguida, 100 µL da suspensão bacteriana ajustada (1×10^6 UFC/mL) foram adicionados aos poços e incubados a 37 °C por 24 h. Passado o período de incubação, o Índice de Concentração Inibitória Fracionada (ICIF), definida como o somatório da CIM das substâncias combinadas dividida pela CIM das substâncias isoladas, foi analisado e interpretado como: sinérgico ($ICIF \leq 0,5$), aditivo ($0,5 < ICIF \leq 1$), indiferente ($1 < ICIF \leq 4$) ou antagônico ($ICIF \geq 4$) (Morjan *et al.*, 2002).

4.5.4 Atividade antibiofilme

Para avaliar o efeito do *trans*-cinamaldeído combinado com o antibiótico sobre o biofilme bacteriano pré-formado foram realizados conforme metodologia empregada por Yadav *et al.*, (2015) com adaptações. A cepa escolhida para este teste foi selecionada de acordo com os resultados obtidos nos testes anteriores. Para obtenção dos biofilmes pré-formados, em placas de microtitulação de poliestireno de 96 poços, as cepas de *A. baumannii* (1×10^6 UFC/mL) foram inoculadas em meio BHI e incubadas a 37°C por 24h. Posteriormente, a placa foi lavada três vezes com tampão fosfato-salino (PBS - 0,1 M, pH 7,4) para retirar as células planctônicas residuais. Os poços contendo biofilmes foram tratados com 200 µL de solução-teste (*trans*-cinamaldeído) combinada com antibiótico em concentrações pré-determinadas por 4h a 37 °C. Em seguida, foi realizada uma nova lavagem dos poços com PBS para determinar a quantificação da biomassa total do biofilme pela técnica de coloração por cristal violeta (CV).

Para realização da técnica de coloração com CV, foi utilizada a metodologia de O'Toole (2011) com modificações. Inicialmente adicionando 200µL de álcool metílico P.A. (Dinâmica, São Paulo, Brasil) em cada poço e deixando por 10 minutos para fixação das células aderidas. Em seguida, o metanol é retirado e a placa seca em temperatura ambiente. Em seguida, acrescenta-se 200µL da solução CV a 0,1% (Synth®, São Paulo, Brasil) por 10 minutos. Posteriormente, é realizada a lavagem da placa com água destilada e, secagem, o corante ligado a biomassa foi solubilizado em 200µL de ácido acético glacial a 33% (Dinâmica, São Paulo, Brasil) por 10 minutos. Utilizou-se o leitor de densidade óptica para a realização da leitura da absorbância no comprimento de onda de 590nm.

Figura 6 – Representação da metodologia do biofilme pré-formado.



Fonte: Coelho, 2023.

4.6 Análise estatística

Todos os experimentos estão sendo realizados em triplicata com os respectivos resultados categorizados em Microsoft Excel (Versão 2012 para Windows) e posteriormente analisadas no software GraphPad® Prism (Versão 5.0 para Windows, San Diego, California USA). As diferenças significativas entre os grupos são verificadas através da aplicação do teste *One-way* ANOVA com pós-teste de *Tukey*. Os dados foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se uma atividade antibacteriana *in vitro* do TC contra todas as cepas testadas, demonstrando sensibilidade ao composto teste observado através do diâmetro da zona de inibição. Além disso, a ação inibitória e bactericida em todas as cepas analisadas a uma concentração de 500 µg/mL. Os resultados da atividade antibacteriana *in vitro* do TC contra as bactérias estudadas através da DZI, CIM e CBM, estão detalhados na tabela 2.

Tabela 2 – Atividade antibacteriana do *trans*-cinamaldeído contra *A. baumannii* MDR

| Cepas | DZI (mm) ¹ | CIM (µg/mL) ² | CBM (µg/mL) ³ | CBM/CIM |
|-------|-----------------------|--------------------------|--------------------------|---------|
| AB04 | 36,66± 3,05 | 500 | 500 | 1 |
| AB07 | 37,33± 1,15 | 500 | 500 | 1 |
| AB13 | 32,33± 1,52 | 500 | 500 | 1 |
| AB49 | 38,66± 1,52 | 500 | 500 | 1 |
| AB82 | 39,66± 2,51 | 500 | 500 | 1 |
| AB146 | 38,00± 2,64 | 500 | 500 | 1 |

Fonte: Autoria própria (2023). ¹Diâmetro da zona de inibição; ²Concentração Inibitória Mínima; ³Concentração Bactericida Mínima.

A atividade antimicrobiana apresentada pelo teste de disco-difusão serviu como base para avaliar o comportamento e perfil de sensibilidade dos isolados frente à substância teste, sendo considerado um método de fácil execução e rotineiramente utilizado em análises *in vitro* (Lehtopolku *et al.*, 2012). O DZI do TC contra os isolados clínicos de *A. baumannii* variou de 32,33,66 ± 1,52 mm a 39,66 ± 2,51 mm.

Os resultados encontrados neste trabalho concordam com os do estudo citado por Intorasoot *et al.*, (2017) que avaliou o efeito inibitório de 10 óleos extraídos de plantas medicinais sobre o crescimento de quatro cepas padrão de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *A. baumannii* e 30 isolados clínicos de *A. baumannii* MDR. O óleo de canela (*Cinnamomum verum*), que possui o CNM como componente majoritário, obteve uma alta potência de atividade antibacteriana contra todas as cepas testadas, destacando-se potente atividade bactericida contra *A. baumannii* – MDR. Para todas as bactérias testadas o óleo de canela apresentou maior efeito antibacteriano comparando com outros estudados, com halo de inibição de 16 mm para *P. aeruginosa* e 27,8 mm para isolados clínicos MDR de *A.*

baumannii. Tendo como resultados de CIM de 250 µg/mL e CBM de 500 µg/mL nos testes com este óleo contra cepas MDR de *A. baumannii*.

Tais achados também concordam com os apresentados por Firmino *et al.*, (2018) que avaliaram a atividade antimicrobiana de OEs de canela (*Cinnamomum zeilamycun* (OECz) e *Cinnamomum cassia* (OECC) e TC contra cepas formadoras de biofilme de *S. aureus*. EOCZ, OECC e *trans*-cinamaldeído indicando atividade bacteriostática em valores de CIM de 500, 250 e 250 µg/mL, respectivamente. Os autores, ainda, associaram à semelhança da atividade bacteriostática do OECC e do TC pela quantidade dessa substância na composição do OE. O OECC apresentou 90,22 %, enquanto o OECZ 68,7 % de TC.

Ressalta-se que há necessidade urgente no desenvolvimento de novos antimicrobianos para superar a farmacoresistência dessas bactérias justifica a pesquisa de novos agentes antibacterianos promissores que possam contribuir para mitigar essa problemática. Dessa forma, os dados obtidos na presente pesquisa (Tabela 3) apontam o TC como agente promissor no combate de isolados nosocomiais de *A. baumannii* MDR.

O potencial do TC foi avaliado em combinação com meropenem a fim de revelar o efeito na cinética de crescimento das cepas isoladas de *A. baumannii* MDR, estando os valores individuais e das combinações, assim como os Índices de Concentração Inibitória Fracionada (ICIFs), a interpretação dos resultados e o número de redução representados na tabela abaixo (tabela 3).

Tabela 3 – Efeito combinatório entre o *trans*-cinamaldeído (TC) e meropenem (MPN) contra *A. baumannii* MDR.

| Cepas | CIM (µg/mL) ¹ ISOLADO | | CIM (µg/mL) ¹ COMBINADO | | ICIF ² | Interpretação | Redução MPN/ TC |
|-------|-------------------------------------|-----|---------------------------------------|-------|-------------------|---------------|--------------------|
| | MPN | TC | MPN | TC | | | |
| AB04 | 62,5 | 500 | 7,81 | 125 | 0,37 | Sinérgico | 8x/ 4x |
| AB07 | 125 | 500 | 31,25 | 125 | 0,50 | Sinérgico | 4x/ 4x |
| AB13 | 62,5 | 500 | 3,90 | 31,25 | 0,12 | Sinérgico | 16x/ 16x |
| AB49 | 125 | 500 | 15,62 | 7,81 | 0,14 | Sinérgico | 8x/ 64x |
| AB82 | 125 | 500 | 7,81 | 7,81 | 0,08 | Sinérgico | 16x/ 64x |
| AB146 | 31,25 | 500 | 3,90 | 7,81 | 0,14 | Sinérgico | 8x/ 64x |

Fonte: Autoria própria (2024). ¹Concentração Inibitória Mínima; ² Índice de Concentração Inibitória Fracionada.

As combinações de TC e meropenem resultaram em efeito sinérgico contra todas as cepas testadas, onde a combinação representada pelo ICIF apresentou valores de 0,08 a 0,50. Como resultado, estes testes mostraram que a CIM do meropenem contra a bactéria em estudo apresentou redução significativa contra todas as cepas, chegando a contrações até 16x menores do que a CIM do antibiótico isolado.

Esses resultados demonstram o potencial do TC em aumentar o efeito antibacteriano do meropenem, diminuindo assim a resistência das cepas ao antibiótico. Vale ressaltar que as cepas testadas são isoladas clínicas com perfil de resistência a β -lactâmicos (Brito *et al.*, 2021).

Em estudo recente, Ferrando *et al.*, (2024) avaliaram o potencial de redução das CIMs de sete antibióticos comerciais amplamente utilizados por seus diferentes mecanismos de ação quando combinado com *trans*-cinamaldeído contra 14 bactérias Gram-positivas e Gram-negativas responsáveis por patologias infecciosas muito prevalentes, como *A. baumannii*, *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* dentre outras, assim como os resultados encontrados neste trabalho também obteve-se reduções significativas das CIMs para os testes contra *A. baumannii*, chegando a redução de 50% para os antibióticos ampicilina e cloranfenicol, sendo o primeiro β -lactâmico e o segundo do grupo anfenicol. No geral o número de interações sinérgicas (TC + Atb) foram 15. Todas elas significaram reduções da CIM do antibiótico superiores a 75%. Dentre outras com interações denominadas como “aditivos” também relataram reduções da CIM (variando de 50 a 94%).

Outro estudo destaca para o efeito positivo das combinações do TC e eugenol (EG) com antibióticos β -lactâmicos contra isolados de *A. baumannii*, onde mesmo não apresentando alteração significativa na contagem de células após 24h na presença dos compostos isolados, quando cultivada na presença do antibiótico com o TC o seu crescimento foi significativamente diminuído em comparação com o controle positivo, controle de antibiótico e controle de TC ($P < 0,05$). Tanto o TC quanto o EG aumentaram a sensibilidade de *A. baumannii* a todos os sete antibióticos β -lactâmicos testados. Nos dois isolados de *A. baumannii* estudados, a maior sensibilidade foi observada à metilicina e a menor sensibilidade foi observada contra a ampicilina e o meropenem (Karumathil *et al.*, 2018).

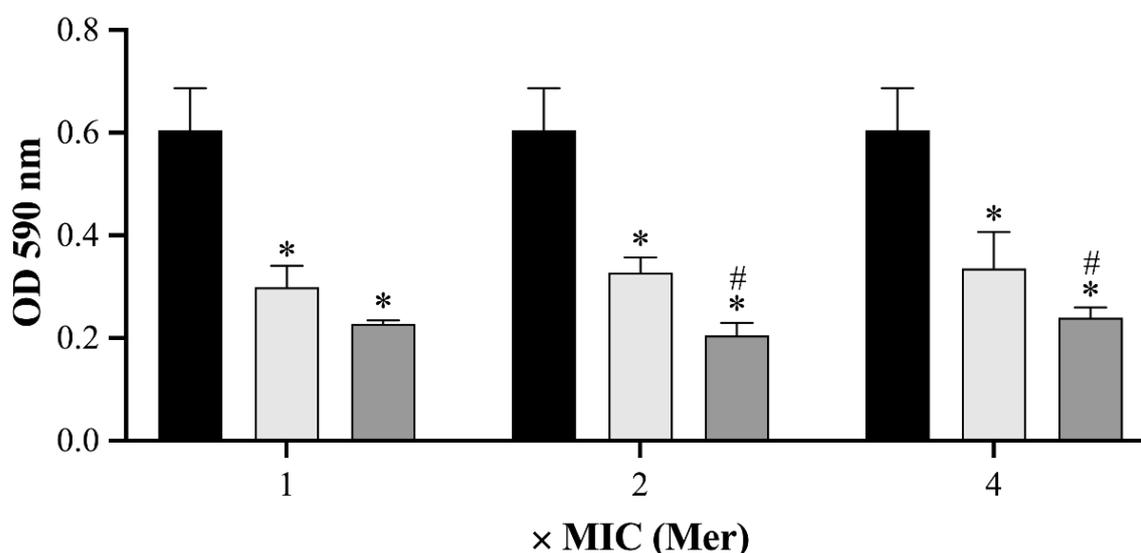
Estudos realizados por Usai e Di Sotto (2023) no que diz respeito aos mecanismos responsáveis pelas propriedades de sensibilização bacteriana do cinamaldeído, foi demonstrado que a substância afeta múltiplos alvos, incluindo o metabolismo celular, a parede bacteriana, o biofilme, o sistema de detecção de *quorum* e os fatores envolvidos na sobrevivência celular, estas ações podem justificar a potenciação da eficácia antibiótica e para a superação da

resistência. Da mesma forma, Chadha *et al.*, (2022) levantaram a hipótese de que o cinamaldeído pode levar a dessensibilização e ruptura da membrana junto com dano oxidativo, fazendo com que o antibiótico penetre na célula bacteriana e tornando-a mais suscetível à sua atividade antimicrobiana.

Outros mecanismos também foram sugeridos para explicar os efeitos sinérgicos do cinamaldeído em combinação com antibióticos. Particularmente, Thirapanmetee *et al.*, (2021) apontaram que o cinamaldeído foi capaz de bloquear a polimerização, montagem e agrupamento da proteína envolvida no controle da divisão celular bacteriana em *A. baumannii*. Além disso, outros estudos destacaram uma depleção de ATP pelo composto, o que poderia se comprometer a função e sobrevivência bacteriana (Nowortarska, 2017).

Para somar a estes resultados foi avaliado o potencial da substância teste para prevenir a formação de biomassa de *A. baumannii*, medido por meio da absorção por CV. Onde a faixa de concentração utilizada neste ensaio foi determinada de acordo com os valores das CIMs e dos resultados de combinações sinérgicas encontrados. A Figura 6 mostra a ação do TC em concentração pré-determinada de 0,5mg/mL combinada com valores de CIM, 2x CIM e 4x CIM de meropenem durante 4h sobre biofilme pré-formado por 24h da cepa de *A. baumannii* selecionada.

Figura 5 – Quantificação de biomassa por coloração com cristal violeta (CV) de biofilme pré-formado (24h) de *A. baumannii* (AB07) após tratamento (4h) com concentrações crescentes de meropenem (1x, 2x, e 4xCIM) combinado com 500 µg /mL de *Trans*-cinamaldeído. CIM: concentração inibitória mínima, 125 µg /mL)



Fonte: Grupo não tratado (preto); Meropenem (cinza claro); Meropenem combinado com TC (cinza escuro). * Estatisticamente diferente do controle (*) do meropenem (#).

A solução de TC, quando combinada com diferentes concentrações de meropenem, reduziram significativamente ($p < 0,01$) a formação de biomassa da bactéria testada. Apresentando interferência até mesmo em concentrações de antibiótico abaixo de concentrações inibitórias. O que mostra que o TC apresentou capacidade de potencializar o efeito do meropenem contra *A. baumannii* MDR. Esses resultados oferecem uma base sólida para considerar o TC como candidato promissor no desenvolvimento de estratégias antimicrobianas para combater infecções associadas a biofilmes de *A. baumannii* MDR.

Este efeito também foi avaliado nos estudos apresentados por Tapia-Rodriguez (2023) fornecem insights valiosos com óleo essencial de orégano (OEO) e seus constituintes terpênicos, carvacrol e timol, contra biofilmes de *A. baumannii*. Demonstrando sua eficácia na inibição do crescimento e redução da biomassa dos biofilmes, tanto para OEO quanto o timol e o carvacrol demonstraram eficácia na redução da biomassa dos biofilmes de *A. baumannii* em níveis terapêuticos.

Outro estudo associou o TC com antibióticos de diferentes classes contra *Pseudomonas aeruginosa*, uma bactéria Gram-negativa comum por causar infecções graves em humanos. Como resultado, destaca-se os efeitos sinérgicos desse composto com colistina e gentamicina e efeitos aditivos com carbenicilina, tobramicina e eritromicina. Chegando a uma redução de 4 vezes da CIM nos testes com gentamicina. Além disso, a substância exibiu um potencial de extinção de *quorum sensing* (QS), sistema usado para se comunicar e orquestrar a estrutura e função dos biofilmes bacterianos, regulando negativamente os genes QS e anulando a biossíntese de fatores envolvidos na virulência bacteriana e na formação de biofilme (Chada *et al.*, 2022).

6 CONCLUSÃO

Os resultados dos ensaios sobre a atividade antibacteriana do TC com os valores de CIMs obtidas mostram-se promissoras, apresentando efeito bactericida contra todas as estirpes em concentrações de 500 µg/mL. E, em especial, pelo fato de se tratar de microrganismos isolados de pacientes portadores de infecção hospitalar e resistentes a várias drogas sintéticas, incluindo o meropenem. Quando combinados o TC com o meropenem, o composto apresentou interferência cinética contra o crescimento planctônico de *A. baumannii* MDR, apresentando redução da população bacteriana mesmo em concentrações mais baixas do antibiótico. Ainda, a ação combinada do TC com meropenem foi estendida para avaliação antibiofilme, mostrando eficácia na diminuição da biomassa pré-formada desses microrganismos.

Nesse sentido, visto que os PNDPs são substâncias em potencial para formação de novos fármacos, este trabalho trouxe uma perspectiva de possíveis combinações entre o TC e o meropenem, para aumentar o efeito antibacteriano do fármaco e contribuir para a eficácia terapêutica contra cepas multirresistentes de *A. baumannii* quando há combinação das substâncias.

REFERÊNCIAS

- AGARWAL, M.; SHIAU, S.; LARSON, E. L. Repeat gram-negative hospital-acquired infections and antibiotic susceptibility: a systematic review. **Journal of infection and public health**, Nova York, v. 11, n. 4, p. 455-462, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876034117302599>. Acesso em: 20 jan. 2024.
- AGUIAR, J. N. et al. Evolução das políticas brasileiras de saúde humana para prevenção e controle da resistência aos antimicrobianos: revisão de escopo. **Revista Panamericana de Salud Pública**, Washington, v. 47, p. e77, 2023. Disponível em: <https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/57450/v47e772023.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 20 jan. 2024.
- AL-KADMY, I. M. S.; ALI, A. N. M.; SALMAN, I. M. A.; KHAZAAL, S. S. Molecular characterization of *Acinetobacter baumannii* isolated from Iraqi hospital environment. **New Microbes and New Infections**, Londres, v. 21, p. 51–57, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2052297517300860>. Acesso em: 20 jan. 2024.
- ALMASAUDI, S.B. *Acinetobacter spp.* as nosocomial pathogens: epidemiology and resistance features. **Saudi Journal of Biological Sciences**, Riyadh, v. 25, p. 586–596, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X16000565>. Acesso em: 20 jan. 2024.
- ASHAKIRIN, S. et al. Chemistry and bioactivity of cinnamaldehyde: a natural molecule of medicinal importance. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, Nova Délhi, v. 8, n. 6, p. 2333-2340, 2017. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.8(6).2333-40.
- BENMAHMUD, A. B.; SAID, H. S.; IBRAHIM, R. H. Prevalence and mechanisms of carbapenem resistance among *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Egypt. **Microbial Drug Resistance**, Nova York, v. 25, n. 4, p. 480-488, 2019. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/mdr.2018.0141>. Acesso em: 20 jan. 2024.
- BORGES, A. et al. New perspectives on the use of phytochemicals as an emergent strategy to control bacterial infections including biofilms. **Molecules**, Basileia, v. 21, n. 7, p. 877, 2016. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/21/7/877>. Acesso em: 20 jan. 2024.
- BREIJYEH, Z.; JUBEH, B.; KARAMAN, R. Resistance of Gram-negative bacteria to current antibacterial agents and approaches to resolve it. **Molecules**, Basileia, v. 25, p. 1340, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/6/1340>. Acesso em: 20 jan. 2024.
- BRITO, I. L. P.; MORAIS, A. J. A.; PINTO, V. P. T.; BARBOSA, F. C. B. Sensitivity profile and frequency of oxa-type carbapenemases among *Acinetobacter baumannii* strains in teaching hospitals of Ceará, Brasil. **Revista Sodebras**, Fortaleza, v. 16, n. 185, mai. 2021. doi: <https://doi.org/10.29367/issn.1809-3957.16.2021.185.20>. Acesso em: 20 jan. 2024.

CALIXTO, J. B. The role of natural products in modern drug discovery. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 91, 2019. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aabc/a/54VqS5XW6hVC6LYsjWmC5qC/>. Acesso em: 20 jan. 2024.

CAPPIELLO, F. et al. The revaluation of plant-derived terpenes to fight antibiotic-resistant infections. **Antibiotics**, Basileia, v. 9, n. 6, p. 325, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/9/6/325>. Acesso em: 20 jan. 2024.

CASCIARO, B. et al. Esculentin-1a derived peptides kill *Pseudomonas aeruginosa* biofilm on soft contact lenses and retain antibacterial activity upon immobilization to the lens surface. **Peptide Science**, Hoboken, v. 110, n. 5, p. e23074, 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/bip.23074>. Acesso em: 20 jan. 2024.

CHADHA, J. et al. Gentamicin augments the quorum quenching potential of cinnamaldehyde in vitro and protects *Caenorhabditis elegans* from *Pseudomonas aeruginosa* infection. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, Lausanne, v. 12, p. 899566, 2022. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2022.899566/full>. Acesso em: 20 jan. 2024.

CHOKSHI, A. et al. Global contributors to antibiotic resistance. **Journal of Global Infectious Diseases**, Nova Délhi, v. 11, n. 1, p. 36, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6380099/>. Acesso em: 20 jan. 2024.

CHOPJITT, P. et al. Complete genome sequences of four extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from Thailand. **Microbiology Resource Announcements**, v. 9, n. 40, p. 10.1128/mra.00949-20, 2020. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/MRA.00949-20>. Acesso em: 20 jan. 2024.

COATES, A. R. M. et al. Antibiotic combination therapy against resistant bacterial infections: synergy, rejuvenation and resistance reduction. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, Abingdon, v. 18, n. 1, p. 5-15, 2020. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14787210.2020.1705155>. Acesso em: 20 jan. 2024.

D'ANGELO, I. et al. Overcoming barriers in *Pseudomonas aeruginosa* lung infections: engineered nanoparticles for local delivery of a cationic antimicrobial peptide. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 135, p. 717-725, 2015. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927776515301430?casa_token=Oo7fXaWcYLMAAAAA:JXvF_Hkh0nhLZk5rdLVXK2jFCbyhPogaHEwn-oCw7kR_ieK6Qi4NdX8u61J9-QWxrZhNkDksAvH. Acesso em: 20 jan. 2024.

DA CUNHA, J. P. N. **Avanços na terapia antimicrobiana em infecções causadas pela espécie *Acinetobacter baumannii***. 2019. 64 f. Monografia de especialização. Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/37391>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

DE KRAKER, M. E. A.; STEWARDSON, A. J.; HARBARTH, S. Will 10 million people die a year due to antimicrobial resistance by 2050? **PLoS Medicine**, San Francisco, v. 13, n. 11, p. e1002184, 2016. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosmedicine/article?id=10.1371/journal.pmed.1002184>. Acesso em: 20 jan. 2024.

DOMINGUES, C. P. F. et al. Multi-Drug Resistance in Bacterial Genomes—A Comprehensive Bioinformatic Analysis. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 24, n. 14, p. 11438, 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/14/11438>. Acesso em: 20 jan. 2024.

DOYLE, A. A.; STEPHENS, J. C. A review of cinnamaldehyde and its derivatives as antibacterial agents. **Fitoterapia**, Amsterdã, v. 139, p. 104405, 2019. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367326X19317599?casa_token=YDEADfpNn0UAAAAA:9nFfvWR1DNYDBB9Kp_YaxwVL7jwpO1XJSJVRVEQXDqzK4oMxO0uvVVPgZgceiabZKxLpagX_YGzP. Acesso em: 20 jan. 2024.

EL CHAKHTOURA, N. G. et al. Therapies for multidrug resistant and extensively drug-resistant non-fermenting gram-negative bacteria causing nosocomial infections: a perilous journey toward ‘molecularly targeted’ therapy. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, Abingdon, v. 16, n. 2, p. 89-110, 2018. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14787210.2018.1425139>. Acesso em: 20 jan. 2024.

EZE, E. C.; CHENIA, H. Y.; EL ZOWALATY, M. E. *Acinetobacter baumannii* biofilms: effects of physicochemical factors, virulence, antibiotic resistance determinants, gene regulation, and future antimicrobial treatments. **Infection and Drug Resistance**, Londres, v. 11, p. 2277-2299, 2018. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.2147/IDR.S169894>. Acesso em: 20 jan. 2024.

FALAGAS, M. E.; MAVROUDIS, A. D.; VARDAKAS, K. Z. The antibiotic pipeline for multi-drug resistant gram negative bacteria: what can we expect?. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, Abingdon, v. 14, n. 8, p. 747-763, 2016. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14787210.2016.1204911>. Acesso em: 20 jan. 2024.

FERRANDO, N. et al. Enhancing Commercial Antibiotics with Trans-Cinnamaldehyde in Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria: An In Vitro Approach. **Plants**, Basel, v. 13, n. 2, p. 192, 2024. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/13/2/192>. Acesso em: 20 jan. 2024.

FIRMINO, D. F. et al. Antibacterial and antibiofilm activities of *Cinnamomum sp.* essential oil and cinnamaldehyde: antimicrobial activities. **The Scientific World Journal**, Nova York, v. 2018, 2018. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/tswj/2018/7405736/>. Acesso em: 20 jan. 2024.

FITZGERALD, M.; HEINRICH, M.; BOOKER, A. Medicinal plant analysis: A historical and regional discussion of emergent complex techniques. **Frontiers in Pharmacology**,

Lausanne, v. 10, p. 1480, 2020. Disponível em:
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2019.01480/full>. Acesso em: 20 jan. 2024.

GADDY, J. A.; ACTIS, L. A. Regulation of *Acinetobacter baumannii* biofilm formation. **Future Medicine**, Londres, 2009. Disponível em:
https://www.futuremedicine.com/doi/abs/10.2217/fmb.09.5?casa_token=5rVym7CVqyQAAAAA:ARuo8OHD801k_7peZdSI1ahsG54A-DkXTqEkh06UioJ2GzqJHnqFpbXhqt4vHDJwn3tCUtCCjxmSa4wJ. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

GARCÍA, A. B. et al. Correlation between resistance mechanisms in *Staphylococcus aureus* and cell wall and septum thickening. **Infection and Drug Resistance**, p. 353-356, 2017. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.2147/IDR.S146748>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

GHAJAVAND, H. et al. Scrutinizing the drug resistance mechanism of multi-and extensively-drug resistant *Mycobacterium tuberculosis*: mutations versus efflux pumps. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 8, p. 1-8, 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13756-019-0516-4>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

GREENFIELD, K. G. et al. Sepsis, cytokine storms, and immunopathology: the divide between neonates and adults. **ImmunoHorizons**, Rockville, v. 5, n. 6, p. 512-522, 2021. Disponível em: <https://journals.aai.org/immunohorizons/article-abstract/5/6/512/233967>. Acesso em: 20 jan. 2024.

GUERRA, F. Q. S. et al. Increasing antibiotic activity against a multidrug-resistant *Acinetobacter* spp by essential oils of *Citrus limon* and *Cinnamomum zeylanicum*. **Natural Product Research**, Abingdon, v. 26, n. 23, p. 2235-2238, 2012. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14786419.2011.647019?casa_token=z2av_m5nBgEAAAAA:9hY2W6SbVBE_R9-d7gGe_DPs017FW2gYxCBz0P98fY3CTPBL1XZp1bBylDx4ELR-xuxAFvRj-PVIBQzrKg. Acesso em: 20 jan. 2024.

HARDING, C. M.; HENNON, S. W.; FELDMAN, M. F. Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. **Nature Reviews Microbiology**, Londres, v. 16, n. 2, p. 91-102, 2018. Disponível em: https://idp.nature.com/authorize/casa?redirect_uri=https://www.nature.com/articles/nrmicro.2017.148&casa_token=9TNYq7ehFuQAAAAA:y2mVgrgsqL510CLPHG2AKa8GO7EqmHiD4FlyXlOK5OsX4tyN53Wp2wlNCIV-tKC_vu3TAwjaBR9hLwPdTXQ. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

HETTA, H. F. et al. Antibiofilm and antivirulence potential of silver nanoparticles against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Scientific Reports**, Londres, v. 11, n. 1, p. 10751, 2021. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-90208-4>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

HOLMES, A. H. et al. Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. **The Lancet**, Londres, v. 387, n. 10014, p. 176-187, 2016. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(15\)00473-0/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(15)00473-0/fulltext). Acesso em: 20 de jan. de 2024.

- HOU, C. D. et al. Insights into an evolutionary strategy leading to antibiotic resistance. **Scientific Reports**, Londres, v. 7, n. 1, p. 40357, 2017. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/srep40357>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.
- HOWARD, A. et al. *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen. **Virulence**, Abingdon, v. 3, n. 3, p. 243-250, 2012. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/viru.19700>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.
- IBRAHIM, S. et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* as an emerging concern in hospitals. **Molecular Biology Reports**, Dordrecht, v. 48, n. 10, p. 6987-6998, 2021. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11033-021-06690-6>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.
- IMPEY, R. E. et al. Overcoming intrinsic and acquired resistance mechanisms associated with the cell wall of gram-negative bacteria. **Antibiotics**, Basileia, v. 9, n. 9, p. 623, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/9/9/623>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.
- INTORASOOT, A. et al. Bactericidal activity of herbal volatile oil extracts against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Journal of Intercultural Ethnopharmacology**, v. 6, n. 2, p. 218, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5429082/>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.
- JAYAPRAKASHA, G. K.; RAO, L. Jagan Mohan. Chemistry, biogenesis, and biological activities of *Cinnamomum zeylanicum*. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Abingdon, v. 51, n. 6, p. 547-562, 2011. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408391003699550?casa_token=9jXe1aIx4AgAAAA:aj-K28NukwPRUcBeya13EDieMtI09_kwEabPBO6Fa6TcmMoY1bn-rbOaOwbB8SkM2ycCpXtG7FDTsNjCYw. Acesso em: 20 jan. 2024.
- JEON, J. H. et al. Structural basis for carbapenem-hydrolyzing mechanisms of carbapenemases conferring antibiotic resistance. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 16, n. 5, p. 9654-9692, 2015. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/16/5/9654>. Acesso em: 20 jan. 2024.
- JERNIGAN, J. A. et al. Multidrug-resistant bacterial infections in US hospitalized patients, 2012–2017. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 382, n. 14, p. 1309-1319, 2020. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1914433>. Acesso em: 20 jan. 2024.
- JIANG, Z.; HE, X.; LI, J. Synergy effect of meropenem-based combinations against *Acinetobacter baumannii*: A systematic review and meta-analysis. **Infection and Drug Resistance**, Londres, v. 11, p. 1083-1095, 2018. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.2147/IDR.S172137>. Acesso em: 20 jan. 2024.
- JUBAIR, N. et al. Review on the antibacterial mechanism of plant-derived compounds against multidrug-resistant bacteria (MDR). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, Londres, v. 2021, 2021. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2021/3663315/>. Acesso em: 20 jan. 2024.
- KARUMATHIL, D. P. et al. Trans-cinnamaldehyde and eugenol increase *Acinetobacter baumannii* sensitivity to beta-lactam antibiotics. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 9, p. 1011, 2018. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.01011/full>. Acesso em: 20 jan. 2024.
- KIM, D. et al. Structural Insights for β -Lactam Antibiotics. **Biomolecules & Therapeutics**, Seul, v. 31, n. 2, p. 141, 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9970833/>. Acesso em: 20 jan. 2024.

KNEZEVIC, P. et al. Antimicrobial activity of *Eucalyptus camaldulensis* essential oils and their interactions with conventional antimicrobial agents against multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii*. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v. 178, p. 125-136, 2016. Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874115302609?casa_token=xo2S04Tm9A0AAAAA:bVT1Mvr_EfQ-kuLU2y_-MvPJ61P9nDk3KZ4xMAbUvk5J8egdCA12wAVNuvnaV2f4GrWs8rDcs3F4. Acesso em: 20 jan. 2024.

KOTHEKAR, A. T. et al. Clinical pharmacokinetics of 3-h extended infusion of meropenem in adult patients with severe sepsis and septic shock: implications for empirical therapy against Gram-negative bacteria. **Annals of Intensive Care**, Londres, v. 10, n. 1, p. 1-9, 2020. Disponível em: <https://annalsofintensivecare.springeropen.com/articles/10.1186/s13613-019-0622-8>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

LANGEVELD, W. T.; VELDHUIZEN, E. J. A.; BURT, S. A. Synergy between essential oil components and antibiotics: a review. **Critical Reviews in Microbiology**, Abingdon, v. 40, n. 1, p. 76-94, 2014. Disponível em:

https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/1040841X.2013.763219?casa_token=WinhRm wCqQ0AAAAA:HzWaAGvdMyDuzsXvC7UJwexvQgXSy7YQZXQs0MbUCO-DWclnXahxHrpSin9N6yAbBFz7KA6AuoHHyIlvwA. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

LEE, C. et al. Biology of *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, antibiotic resistance mechanisms, and prospective treatment options. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, Lausanne, v. 7, p. 55, 2017. Disponível em:

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2017.00055/full>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

LEE, Y. et al. Carbapenemase-producing *Enterobacterales* infections: Recent advances in diagnosis and treatment. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdã, v. 59, n. 2, p. 106528, 2022. Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924857922000188?casa_token=6nGOe8HJtmIAAAAA:KDzcvZhEkxlzvGutTitrKxSiSMITF82FtPyJYu3udj7AYMh0UiJPmvs1wEkMn4oHTTvV514xDSmp. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

LEHTOPOLKU, M. et al. Inaccuracy of the disk diffusion method compared with the agar dilution method for susceptibility testing of *Campylobacter spp.* **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, D.C., v. 50, n. 1, p. 52-56, 2012. Disponível em:

<https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/JCM.01090-11>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

LIMA, W. G. et al. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in patients with burn injury: A systematic review and meta-analysis. **Burns**, Amsterdã, v. 45, n. 7, p. 1495-1508, 2019. Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305417919300282?casa_token=4bSVJp-Fk-4AAAAA:_B2GMnQpBjzRcIWBbQyitur_2V0oYR7BOAtx8Pc4F1603TOkFo6LYpjGMDgEHWlbbtr4-zmYGrrS. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

MALHEIRO, J. et al. Phytochemical profiling as a solution to palliate disinfectant limitations. **Biofouling**, Abingdon, v. 32, n. 9, p. 1007-1016, 2016. Disponível em:

https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/08927014.2016.1220550?casa_token=iyRgWc cfKk0AAAAA:LPsXzP1iZseLgVYPyK-IrA3bJBI56_-FPQB1ldI8DJUk8JaY_i50Vlp-tnEhQWpX7HPTnwt05CJR1zc-ww. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

MANCUSO, G. et al. Bacterial antibiotic resistance: The most critical pathogens. **Pathogens**, Basel, v. 10, n. 10, p. 1310, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-0817/10/10/1310>. Acesso em: 20 jan. 2024.

MANGALAGIRI, N. P.; PANDITI, S. K.; JEEVIGUNTA, N. L. L. Antimicrobial activity of essential plant oils and their major components. **Heliyon**, Amsterdam, v. 7, n. 4, 2021. Disponível em: [https://www.cell.com/heliyon/pdf/S2405-8440\(21\)00938-5.pdf](https://www.cell.com/heliyon/pdf/S2405-8440(21)00938-5.pdf). Acesso em: 20 jan. 2024.

MARTINEZ, J. L. General principles of antibiotic resistance in bacteria. **Drug Discovery Today: Technologies**, Amsterdam, v. 11, p. 33-39, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S174067491400002X>. Acesso em: 20 jan. 2024.

MASCHER, T. et al. Cell wall stress responses in *Bacillus subtilis*: the regulatory network of the bacitracin stimulon. **Molecular Microbiology**, Oxford, v. 50, n. 5, p. 1591-1604, 2003. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1365-2958.2003.03786.x>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

MAYER, C. et al. Quorum sensing as a target for controlling surface associated motility and biofilm formation in *Acinetobacter baumannii* ATCC® 17978TM. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 11, p. 565548, 2020. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.565548/full>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

MEA, H. J.; YONG, P. V. C.; WONG, E. H. An overview of *Acinetobacter baumannii* pathogenesis: Motility, adherence and biofilm formation. **Microbiological Research**, Amsterdam, v. 247, p. 126722, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501321000288>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

MEC. Portal – Educação. Metodologia Científica: Tipos de pesquisa. Brasília, 2013. Disponível em: <https://www.portaleducacao.com.br/conteudo/artigos/pedagogia/metodologia-cientifica-tipos-de-esquisa/50264>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

MIKLASIŃSKA-MAJDANIK, M. Mechanisms of resistance to macrolide antibiotics among *Staphylococcus aureus*. **Antibiotics**, Basel, v. 10, n. 11, p. 1406, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/10/11/1406>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

MILENKOVIĆ, M.; STOŠOVIĆ, J.; SLAVKOVSKA, V. Synergy between essential oils of *Calamintha* species (Lamiaceae) and antibiotics. **Natural Product Communications**, v. 13, n. 3, p. 1934578X1801300325, 2018. Thousand Oaks. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/1934578X1801300325>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

MUKHERJEE, S.; BASSLER, B. L. Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments. **Nature Reviews Microbiology**, Londres, v. 17, n. 6, p. 371-382, 2019. Disponível em: https://idp.nature.com/authorize/casa?redirect_uri=https://www.nature.com/articles/s41579-019-0186-

5&casa_token=bTHb1JvpUTYAAAAA:JfsNpRamc2vkmFZVmuMjKpyfwqKkVCdIhEmqfa3y9qTBPKC9Zf9qxnWZbsYmDcUzPaqktoyBkbz5_GskOSM. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

MURRAY, N. J. Mapas globais de alta resolução de ecossistemas de planícies de maré de 1984 a 2019. *Sci Data* **9**, Londres, n. 542, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41597-022-01635-5>

MUNEKATA, P. E. S. *et al.*, The role of essential oils against pathogenic *Escherichia coli* in food products. *Microorganisms*, Lausanne, v. 8, n. 6, p. 924, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-2607/8/6/924>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

MORJAN, W. E.; PEDIGO, L. P.; LEWIS, L. C. Fungicidal effects of glyphosate and glyphosate formulations on four species of entomopathogenic fungi. *Environmental Entomology*, Oxford, v. 31, n. 6, p. 1206-1212, 2002.

NAFIS, A. *et al.*, Antioxidant activity and evidence for synergism of *Cannabis sativa* (L.) essential oil with antimicrobial standards. *Industrial Crops and Products*, Amsterdam, v. 137, p. 396-400, 2019. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669019303668?casa_token=ZDiEFnVYh20AAAAA:RuFdr4pN0vLUivOLmvo4miIBctuj3cCys0JYvc3UdE_nkVe_Sx8qeyOuDC3lHhEXGcEngSWfKgvC. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

Nazzaro, F.; Fratianni, F.; Coppola, R.; De Feo, V. Essential oils and antifungal activity. *Pharmaceuticals*, Basel, v. 10, p. 86, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph10040086>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

NEWMA, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, Washington, v. 83, n. 3, p. 770-803, 2020. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

NGUYEN, M.; JOSHI, S. G. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*, and their importance in hospital-acquired infections: a scientific review. *Journal of Applied Microbiology*, Oxford, v. 131, n. 6, p. 2715-2738, 2021. Disponível em: <https://academic.oup.com/jambio/article-abstract/131/6/2715/6716335>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

OMS. Organização Mundial da Saúde (2017). Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. Disponível em: <http://www.who.int/medicines/publications/global-priority-list-antibiotic-resistant-bacteria/en/>

O'TOOLE, G. A. Microtiter dish biofilm formation assay. *JoVE Journal of Visualized Experiments*, Cambridge, n. 47, p. e2437, 2011. Disponível em: <https://www.jove.com/t/2437/microtiter-dish-biofilm-formation-assay>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

OYEJOBI, G. K. *et al.* *Acinetobacter baumannii*: More ways to die. *Microbiological Research*, Amsterdam, v. 261, p. 127069, 2022. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501322001094>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

PAPP-WALLACE, K. M. et al. Carbapenems: past, present, and future. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 55, n. 11, p. 4943-4960, 2011. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/AAC.00296-11>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

PARRINO, B. et al. Inhibitors of antibiotic resistance mechanisms: Clinical applications and future perspectives. **Future Medicinal Chemistry**, Londres, v. 12, n. 5, p. 357-359, 2019. Disponível em: <https://www.future-science.com/doi/full/10.4155/fmc-2019-0326>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

PINHEIRO, L. G. et al. Inhibitory and bactericidal activities of *Lippia origanoides* essential oil against *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* multidrug resistant. **Research, Society and Development**, São Paulo, v. 11, n. 9, p. e6811931478-e6811931478, 2022. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/31478>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

PORMOHAMMAD, A.; HANSEN, D.; TURNER, R. J. Antibacterial, antibiofilm, and antioxidant activity of 15 different plant-based natural compounds in comparison with ciprofloxacin and gentamicin. **Antibiotics**, Basel, v. 11, n. 8, p. 1099, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/11/8/1099>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

RAMIREZ, M. S.; BONOMO, A.; TOLMASKY, M. E. Carbapenemases: Transforming *Acinetobacter baumannii* into a yet more dangerous menace. **Biomolecules**, Basel, v. 10, n. 5, p. 720, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2218-273X/10/5/720>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

REYGAERT, W. C. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. **AIMS Microbiology**, Basel, v. 4, n. 3, p. 482, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6604941/>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

ROMANO, J. D.; TATONETTI, N. P. Informatics and computational methods in natural product drug discovery: a review and perspectives. **Frontiers in Genetics**, Lausanne, v. 10, p. 368, 2019. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2019.00368/full>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

ROY, S. et al. Convergence of biofilm formation and antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii* infection. **Frontiers in Medicine**, Lausanne, v. 9, p. 793615, 2022. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2022.793615/full>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

SABET, M.; TARAIZI, Z.; GRIFFITH, D. C. Pharmacodynamics of meropenem against *Acinetobacter baumannii* in a neutropenic mouse thigh infection model. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 64, n. 4, p. e02388-19, 2020. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/aac.02388-19>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

SANTOS, M. I. S. et al. Applications of essential oils as antibacterial agents in minimally processed fruits and vegetables—A review. **Microorganisms**, Basel, v. 10, n. 4, p. 760, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-2607/10/4/760>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

SCHLEICHER, X. et al. Molecular epidemiology of *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter nosocomialis* in Germany over a 5-year period (2005–2009). **Clinical Microbiology and Infection**, Amsterdam, v. 19, n. 8, p. 737-742, 2013. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X1461421X>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

SHI, C. et al. Synergistic interactions of nisin in combination with cinnamaldehyde against *Staphylococcus aureus* in pasteurized milk. **Food Control**, Amsterdam, v. 71, p. 10-16, 2017. Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713516303279?casa_token=YpaJ1PM-r1oAAAAA:ojuxlNcBMh-7vka9FOUJ-UmDHQbM707jfnZCp9FRvL6ieZB5fOccP-c6p2EKLBlfQf94t_EdV2wC. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

SNEADER, W. **Drug discovery: a history**. John Wiley & Sons, 2005. Disponível em:

[https://books.google.com.br/books?hl=pt-](https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=Cb6BOKj9fK4C&oi=fnd&pg=PP11&dq=SNEADER,+W.+DRUG+DISCOVERY%3B+JOHN+WILEY+and+Sons:+Chichester,+UK%3B+Hoboken,+NJ,+USA,+2006%3B+pp.+18-23.&ots=NR7IH5Ffb_&sig=xskzxfuQU5ZxgwrnW8W2JmhJkIc)

[BR&lr=&id=Cb6BOKj9fK4C&oi=fnd&pg=PP11&dq=SNEADER,+W.+DRUG+DISCOVERY%3B+JOHN+WILEY+and+Sons:+Chichester,+UK%3B+Hoboken,+NJ,+USA,+2006%3B+pp.+18-23.&ots=NR7IH5Ffb_&sig=xskzxfuQU5ZxgwrnW8W2JmhJkIc](https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=Cb6BOKj9fK4C&oi=fnd&pg=PP11&dq=SNEADER,+W.+DRUG+DISCOVERY%3B+JOHN+WILEY+and+Sons:+Chichester,+UK%3B+Hoboken,+NJ,+USA,+2006%3B+pp.+18-23.&ots=NR7IH5Ffb_&sig=xskzxfuQU5ZxgwrnW8W2JmhJkIc). Acesso em: 20 de jan. de 2024.

STREIT, F. et al. Personalised beta-lactam therapy: basic principles and practical approach. **LaboratoriumsMedizin**, Berlin, v. 40, n. 6, p. 385-397, 2016. Disponível em:

<https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/labmed-2016-0050/html>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

TAPIA-RODRIGUEZ, M. R. et al. Inhibition of *Acinetobacter baumannii* biofilm formation by terpenes from *Oregano (Lippia graveolens)* essential oil. **Antibiotics**, Basel, v. 12, n. 10, p. 1539, 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/12/10/1539>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

THIRAPANMETHEE, K. et al., Cinnamaldehyde: A plant-derived antimicrobial for overcoming multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infection. **European Journal of Integrative Medicine**, Amsterdam v. 48, p. 101376, 2021. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876382021000949>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

URUÉN, C. et al. Biofilms as promoters of bacterial antibiotic resistance and tolerance. **Antibiotics**, Basel, v. 10, n. 1, p. 3, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/10/1/3>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

USAI, F.; DI SOTTO, A. Trans-cinnamaldehyde as a novel candidate to overcome bacterial resistance: An overview of in vitro studies. **Antibiotics**, Basel, v. 12, n. 2, p. 254, 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/12/2/254>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

VAOU, N. et al., Interactions between medical plant-derived bioactive compounds: Focus on antimicrobial combination effects. **Antibiotics**, Basel, v. 11, n. 8, p. 1014, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/11/8/1014>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

VASCONCELOS, B. M. et al., Enhancement of chlorhexidine activity against planktonic and biofilm forms of oral streptococci by two *Croton* spp. essential oils from the caatinga biome. **Biofouling**, Abingdon, v. 38, n. 10, p. 984-993, 2022. Disponível em:

https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/08927014.2022.2159393?casa_token=8-6mdYfDoTEAAAAA:cfOKDNpPW9UPl-u2XWVncT_At8_E-

CK5Fi_28tz5yx10OGcSqGlCxW1aslZLevN6UuTXQEKcjV60eLBHEA. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

VASCONCELOS, N. G.; CRODA, J.; SIMIONATTO, S. Antibacterial mechanisms of cinnamon and its constituents: A review. **Microbial pathogenesis**, Londres, v. 120, p. 198-203, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0882401018305667>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

WALSH, C. *et al.*, Antibiotics: actions, origins, resistance. **American Society for Microbiology (ASM)**, Washington, 2003. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20043133125>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

WANG, X. *et al.*, Antibacterial activity and mechanism of ginger essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Molecules**, Basel, v. 25, n. 17, p. 3955, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/17/3955>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

WHITEWAY, C. *et al.*, *Acinetobacter baumannii*. **Trends in microbiology**, Cambridge, v. 30, n. 2, p. 199-200, 2022. Disponível em: [https://www.cell.com/trends/microbiology/pdf/S0966-842X\(21\)00274-2.pdf](https://www.cell.com/trends/microbiology/pdf/S0966-842X(21)00274-2.pdf). Acesso em: 20 de jan. de 2024.

WHO. **WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed**. World Health Organization, 2017. Acesso em: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

YADAV, A. *et al.*, Differential regulation of antagonistic pleiotropy in synthetic and natural populations suggests its role in adaptation. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, Oxford, v. 5, n. 5, p. 699-709, 2015. Disponível em: <https://academic.oup.com/g3journal/article-abstract/5/5/699/6025545>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

YAN, Y.; LI, G.; LI, G.. Principles and current strategies targeting metallo- β -lactamase mediated antibacterial resistance. **Medicinal Research Reviews**, Hoboken, v. 40, n. 5, p. 1558-1592, 2020. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/med.21665>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

YANAKIEV, S. Effects of cinnamon (*Cinnamomum* spp.) in dentistry: A review. **Molecules**, Basel, v. 25, n. 18, p. 4184, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/18/4184>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

ZAHRA, N.; ZESHAN, B.; ISHAQ, M. Carbapenem resistance gene crisis in *A. baumannii*: a computational analysis. **BMC microbiology**, Londres, v. 22, n. 1, p. 1-17, 2022. Disponível em: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-022-02706-8>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

ZHANG, Y. *et al.*, Comparative analysis of carbapenemases, RND family efflux pumps and biofilm formation potential among *Acinetobacter baumannii* strains with different carbapenem susceptibility. **BMC Infectious Diseases**, Londres, v. 21, n. 1, p. 1-7, 2021. Disponível em: <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-021-06529-2>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

ZHE, J.; STEVEN, G.; BOXER. β -Lactamases evoluem contra antibióticos adquirindo grandes campos elétricos de sítio ativo. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, 2022. Doi: 10.1021/jacs.2c10791

ZINN, S. *et al.*, Structure determination of *trans*-cinnamaldehyde by broadband microwave spectroscopy. **Physical Chemistry Chemical Physics**, Londres, v. 17, n. 24, p. 16080-16085, 2015. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2015/cp/c5cp02582f>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.