



UFC

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

CAMPUS SOBRAL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

LETÍCIA BANDEIRA MASCARENHAS LOPES

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E SINÉRGICA DO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia sidoides* CONTRA ISOLADOS CLÍNICOS DE
Acinetobacter baumannii MULTIRRESISTENTES**

SOBRAL

2024

LETÍCIA BANDEIRA MASCARENHAS LOPES

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E SINÉRGICA DO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia sidoides* CONTRA ISOLADOS CLÍNICOS DE
Acinetobacter baumannii MULTIRRESISTENTES**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Área de concentração: Biotecnologia

Linha de Pesquisa: Bioprospecção de Produtos Naturais e Sintéticos

Orientador: Prof. Dr. Victor A. Carneiro

Coorientadora: Profa. Dra. Magda Elisa Turini da Cunha

SOBRAL

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)

-
- L854c Lopes, Leticia Bandeira Mascarenhas.
 Composição química, eficiência antibacteriana e atividade sinérgica do óleo essencial de *Lippia sidoides* contra isolados clínicos de *Acinetobacter baumannii* multirresistentes / Leticia Bandeira Mascarenhas
Lopes. – 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. Victor Alves Carneiro.
 Coorientação: Prof. Dr. Magda Elisa Turini da Cunha .
1. Farmacorresistência Bacteriana. 2. Infecção Nosocomial. 3. Antimicrobiano Natural. 4. Sinergismo. I.
 Título.
-

CDD 660.6

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA, EFICIÊNCIA ANTIBACTERIANA E ATIVIDADE
SINÉRGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia sidoides* CONTRA ISOLADOS
CLÍNICOS DE *Acinetobacter baumannii* MULTIRRESISTENTES**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia
da Universidade Federal do Ceará, como
requisito à obtenção do título de Mestre em
Biotecnologia.

Área de concentração: Biotecnologia

Linha de Pesquisa: Bioprospecção de Produtos
Naturais e Sintéticos

Aprovada em: 29/02/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof^o. Dr. Victor Alves Carneiro (Orientador)
Centro Universitário INTA - UNINTA

Prof^o. Dr. Vicente de Paulo Teixeira Pinto (Membro interno)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^o. Dr. João Batista Cajazeiras (Membro externo)
Centro Universitário INTA – UNINTA

A Deus,

Ao meu esposo Jefferson, meus filhos Maria Antonella e José Bento, meus amados pais, Zacarias e Gerenilce, e aos meus amigos, pois foram o pilar na construção de um sonho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que permitiu que tudo isso acontecesse, por me proporcionar ir além dos meus sonhos, por estar presente diariamente na minha vida, me protegendo e me encorajando para sempre seguir em frente, com determinação, e força.

A minha família, por acreditar em mim e me apoiar, meu muito obrigado! Sem vocês, eu seria incapaz de tanto. Sem vocês não sou nada!

A meu esposo Jefferson Lopes, que é fonte de inspiração e que nos momentos de minha ausência dedicados ao estudo, sempre fez entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente e pela presença, compreensão e apoio em todas minhas decisões.

Aos meus filhos Maria Antonella e José Bento, que são a razão de minha vida. São por vocês que faço todos os sacrifícios.

Aos meus pais, Zacarias e Gerenilce, que com muito amor e apoio incondicional, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida.

A minha irmã, Eduarda, pela força, suporte e presença constante em minha vida.

Em especial, aos meus amigos, Mateus Gomes, Benise Silva, Paulo Adenes, Nauriana Sampaio por me proporcionarem o conhecimento não apenas racional, mas a afetividade da educação no processo de formação, por tanto que se dedicaram a mim, não somente por terem me ensinado e ajudado neste trabalho, mas por terem me feito aprender.

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

Ao meu orientador Dr. Victor Alves Carneiro, e minha coorientadora, Dra. Magda Elisa Turini da Cunha, pela confiança e total apoio ao projeto. Obrigada por sua sabedoria, sua paciência e sua amizade.

A banca, por aceitarem meu convite e por contribuírem de forma positiva para enriquecer o trabalho.

Agradeço a todos os professores do mestrado, por todo conhecimento repassado e por serem excelentes profissionais.

A todos que torceram por mim ou contribuíram para realização deste trabalho.

“São as perguntas que não sabemos responder
que mais nos ensinam. Elas nos ensinam a
pensar.” (Patrick Rothfuss)

RESUMO

Os antibióticos, desde sua descoberta, têm sido extensivamente empregados como ferramenta terapêutica fundamental contra infecções bacterianas. Contudo, o uso indiscriminado desses medicamentos resultou no surgimento de cepas bacterianas progressivamente mais resistentes. Diante desse cenário, torna-se imprescindível buscar novas substâncias naturais com propriedades antimicrobianas. As atividades biológicas atribuídas ao óleo essencial de *Lippia sidoides* estão principalmente relacionadas ao seu componente químico majoritário, o timol. O objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana e sinérgica com antibióticos convencionais do óleo essencial de *Lippia sidoides* (OELS) contra isolados clínicos de *Acinetobacter baumannii* multirresistentes. O OELS, extraído por hidrodestilação, teve sua atividade antibacteriana determinada utilizando o método de disco-difusão e microdiluição em caldo para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM). A atividade sinérgica foi avaliada usando-se combinações do OELS com antibióticos: ciprofloxacino (CIP), meropenem (MPN) e ceftriaxona (CRO). O OELS teve rendimento de 0,97% p/p, e composição química apresentou como constituintes majoritários o timol (76,16%), p-Cimeno (8,18%) e β -Cariofileno (5,43%). Todas as cepas apresentaram sensibilidade ao OELS com halos de inibição entre 21,67 a 33,33 mm. O OELS apresentou CIM de 500 μ g/mL para todas as cepas e CBM de 500 μ g/mL a 2000 μ g/mL. Foi também observada a interação sinérgica, aditiva e indiferente do OELS quando combinado com antibióticos. Nossos resultados indicam potencial do OELS. Todavia, faz-se necessário mais pesquisas que possam corroborar seu potencial biotecnológico, podendo ser uma alternativa promissora no tratamento e prevenção de doenças infecciosas.

Palavras-chave: Farmacorresistência Bacteriana; Infecção Nosocomial; Antimicrobiano Natural; Sinergismo.

ABSTRACT

Antibiotics, since their discovery, have been extensively used as a fundamental therapeutic tool against bacterial infections. However, the indiscriminate use of these medications has resulted in the emergence of progressively more resistant bacterial strains. Given this scenario, it is essential to search for new natural substances with antimicrobial properties. The biological activities attributed to the essential oil of *Lippia sidoides* are mainly related to its major chemical component, thymol. The objective of the present study was to evaluate the antimicrobial and synergistic activity with conventional antibiotics of *Lippia sidoides* essential oil (OELS) against clinical isolates of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. The OELS, extracted by hydrodistillation, had its antibacterial activity determined using the disk-diffusion and broth microdilution method to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). Synergistic activity was evaluated using combinations of OELS with antibiotics: ciprofloxacin (CIP), meropenem (MPN) and ceftriaxone (CRO). The OELS had a yield of 0.97% w/w, and its chemical composition had thymol (76.16%), p-Cymene (8.18%) and β -Caryophyllene (5.43%) as its main constituents. All strains were sensitive to OELS with inhibition zones between 21.67 and 33.33 mm. The OELS showed MIC of 500 μ g/mL for all strains and MBC of 500 μ g/mL to 2000 μ g/mL. The synergistic, additive and indifferent interaction of OELS when combined with antibiotics was also observed. Our results indicate potential of OELS. However, more research is needed to corroborate its biotechnological potential, which could be a promising alternative in the treatment and prevention of infectious diseases.

Keywords: Bacterial Pharmaco-resistance; Nosocomial Infection; Natural Antimicrobial; Synergism.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AMP	Ampicilina
AMP/SUB	Ampicillina/sulbactam
ATCC	<i>Anatomical Therapeutic Chemical Code</i>
BHI	<i>Brain heart infusion</i>
BZP	Benzilpenicilina
CAZ	Ceftazidima
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CFO	Cefoxitina
CG/DIC	Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização de Chamas
CG/EM	Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massa
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CIP	Ciprofloxacino
CLI	Clindamicina
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CPM	Cefepima
CRO	Ceftriaxona
CRX	Cefuroxima
CRX/AXETIL	Cefuroxima/axetil
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DZI	Diâmetro da Zona de Inibição
ERT	Eritromicina
FAMED	Laboratório de Microbiologia e Parasitologia da Faculdade de Medicina
GEN	Gentamicina
HGCC	Hospital Geral César Calls
HGF	Hospital Geral de Fortaleza
HUVA	Herbário Francisco José de Abreu Matos
HUWC	Hospital Universitário Walter Cantídio
ICIF	Índice de Concentração Inibitória Fracionada
IMP	Imipenem
IR	Índices de retenção

IRAS	Infecção Relacionada à Assistência à Saúde
LEV	Levofloxacino
MDR	Multirresistência
MHA	Mueller Hinton Agar
MPN	Meropenem
MRSA	<i>S. aureus</i> resistentes à meticilina
OELS	Óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i>
OEs	Óleos essenciais
OH	Hidroxila
OMS	Organização Mundial da Saúde
OXA	Oxacilina
PDR	Pan-resistência
PIP/TAZ	Piperacilina/tazobactam
SUT	Sulfametoxazol+trimetoprima
TIG	Tigeciclina
UTI	Unidades de Terapia Intensiva
UVA	Universidade Estadual Vale do Acaraú
XDR	Resistência extrema

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Fluxograma das análises que foram descritas e realizadas utilizando o OELS contra <i>A. baumannii</i> .	27
Figura 2 –	Esquema do processo de extração do óleo essencial de <i>L. sidoides</i> por hidrodestilação utilizando Clevenger.	30
Figura 3 –	Representação esquemática da atividade antimicrobiana do OELS contra as cepas do estudo.	33
Figura 4 –	Representação esquemática da metodologia utilizada para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) do OELS e antibióticos contra cepas de <i>A. baumannii</i> .	34
Figura 5 –	Esquema metodológico do ensaio de <i>checkerboard</i> para determinação de CIM da combinação do OELS com CIP, MPN e CRO contra <i>A. baumannii</i> .	35
Figura 6 –	Estruturas químicas dos principais constituintes do óleo essencial das folhas frescas de <i>L. sidoides</i> .	37
Figura 7 –	Comparação do Índice de Concentração Inibitória Fracionada Média (FIC _i) para o OELS em combinação com os antibióticos Ciprofloxacino, Ceftriaxona e Meropenem contra cepas de <i>A. baumannii</i> .	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Principais mecanismos de resistência bacteriana aos antibióticos.	18
Tabela 2 –	Grau de prioridade de patógenos resistentes aos antimicrobianos.	20
Tabela 3 –	Perfil de resistência à antibióticos das cepas <i>A. baumannii</i> obtidas pelo sistema VITEK®2.	29
Tabela 4 –	Composição química do óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> (OELS) analisado por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG/EM) e por detector de ionização de chama (CG/DIC).	36
Tabela 5 –	Atividade antibacteriana do óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> contra isolados clínicos de <i>A. baumannii</i> .	38
Tabela 6 –	Efeito combinatório do óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> com os antibióticos Ciprofloxacino (CIP), Meropenem (MPN) e Ceftriaxona (CRO) contra isolados clínicos de <i>Acinetobacter baumannii</i> .	39

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1	Infecções hospitalares (nosocomiais).....	16
2.2	Resistência Bacteriana aos antibióticos.....	16
2.3	<i>Acinetobacter baumannii</i>	21
2.4	Óleos essenciais.....	23
2.5	<i>Lippia sidoides</i>	23
3	OBJETIVOS.....	26
3.1	Objetivo Geral.....	26
3.2	Objetivos específicos.....	26
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.1	Planejamento experimental.....	27
4.2	Material botânico e obtenção de exsicata.....	27
4.3	Microrganismos e condições de cultivo.....	28
4.4	Obtenção do óleo essencial.....	30
4.5	Análise da composição química do óleo essencial.....	31
4.6	Solução de OELS e antibiótico.....	32
4.7	Aromatograma.....	32
4.8	Teste de microdiluição.....	33
4.9	Ensaio de <i>checkerboard</i>	34
4.10	Análise estatística.....	35
5	RESULTADOS.....	36
5.1	Composição química e rendimento do óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i>	36
5.2	Atividade antimicrobiana.....	37
5.3	Atividade sinérgica.....	38
6	DISCUSSÃO.....	41
7	CONCLUSÃO.....	45
	REFERENCIAS.....	46
	ANEXO A - EXSICATA (Nº HUVA 26502) <i>Lippia sidoides</i>	56

ANEXO B – CROMATOGRAMA E TABELA DE CONSTITUINTES SECUNDÁRIOS DO OELS.....	57
--	-----------

1 INTRODUÇÃO

Os antibióticos, desde sua descoberta, têm sido extensivamente empregados como uma ferramenta terapêutica fundamental contra infecções bacterianas (Kim *et al.*, 2018). Eles são compostos de origem natural, semissintética ou sintética que exercem ação sobre microrganismos, seja inibindo seu crescimento ou levando à sua destruição (Silva; Batista; Barros, 2022). Dentro desse panorama, os antibióticos são categorizados em duas classes principais: bactericidas, que provocam a morte das bactérias, e bacteriostáticos, que inibem o crescimento e a replicação das bactérias (Santos *et al.*, 2021).

Contudo, o uso indiscriminado desses medicamentos resultou no surgimento de cepas bacterianas progressivamente mais resistentes (Frieri; Kumar; Boutin, 2017), constituindo assim, um desafio de saúde pública de alcance global, visto que esse fenômeno está diretamente relacionado ao aumento da morbidade e da mortalidade, tendo um impacto substancial na saúde e na economia (Santos, 2023). É amplamente reconhecido que a resistência antimicrobiana está em constante aumento, resultando na perda de eficácia de muitos antibióticos que anteriormente eram eficazes contra patógenos suscetíveis (Mancuso, *et al.*, 2021). Uma vez que as bactérias naturalmente já têm estruturas de defesa em sua parede celular, como as porinas e as bombas de efluxo e diante da exposição aos antibióticos, elas desenvolveram mecanismos de resistência (pela recombinação genética) contra os fármacos LI, *et al.*, 2023).

Dessa forma, em 2017 a OMS listou bactérias resistentes a antibióticos, incluindo cepas de *Acinetobacter baumannii*, que exibem resistência múltipla a diferentes tipos de antibióticos (Kim *et al.*, 2018; Rocha *et al.*, 2019). *A. baumannii* é um patógeno bacteriano que desafia o sistema de saúde em todo o mundo, pois são responsáveis por uma ampla gama de infecções em pacientes hospitalizados, e sua resistência aos antibióticos representa uma problemática para a medicina moderna (Ramirez; Bonomo; Tolmasky, 2020).

Diante desse cenário, torna-se imprescindível buscar novas substâncias naturais com propriedades antimicrobianas. A utilização de produtos naturais no campo da saúde não é uma prática recente, desde tempos antigos, as civilizações têm recorrido ao uso de plantas para a produção de substâncias terapêuticas (Roos, 2020). Dessa forma, as plantas medicinais possuem um papel importante no tratamento e cura de algumas enfermidades (JUBAIR *et al.*, 2021, 2021). Os óleos essenciais são um exemplo notável dessas substâncias, sendo voláteis e podendo ser obtidos a partir de várias plantas e usados para diversas finalidades (Kuzey, 2021). Logo, dentre os produtos de origem vegetal que têm demonstrado potencial antibacteriano, os

óleos essenciais, podem ser usados como ingredientes ativos importantes em produtos para tratar humanos, pois eles têm múltiplos efeitos farmacológicos (Vieira *et al.*, 2018).

Dentre as muitas espécies existentes que possuem atividades biológicas, destaca-se o gênero *Lippia* pertencente à família Verbenaceae. Na medicina popular, as folhas da *Lippia sidoides*, na forma de infusão, são empregadas como alternativa para o tratamento de infecções bucais e da garganta (Brasil, 2009; Souza *et al.*, 2020). As atividades biológicas atribuídas ao óleo essencial de *Lippia sidoides* estão principalmente relacionadas ao seu componente químico majoritário, o timol. Este composto fenólico demonstra uma notável atividade antimicrobiana contra várias cepas de bactérias de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e fungos das espécies de *Candida albicans* e *Candida tropicalis* (Pinheiro *et al.*, 2022; De Melo *et al.*, 2022).

Tendo em vista as dificuldades relacionadas à resistência bacteriana, o presente trabalho tem por objetivo caracterizar quimicamente e avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial extraído de folhas de *Lippia sidoides* contra isolados clínicos de *Acinetobacter baumannii* multirresistentes. Desta maneira, estudos para descobertas de antimicrobianos de origem natural já estão sendo realizados, justificando a importância para descoberta de novos medicamentos que possam ser utilizados para resolver essa problemática.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Infecções hospitalares (nosocomiais)

As infecções nosocomiais vêm tornando-se um constante e grave problema de saúde pública. Estudos realizados no Brasil informam que cerca de 20% dos pacientes contraem infecções relacionadas à assistência à saúde, fazendo com que aumentem as despesas do sistema de saúde pelo aumento do tempo de internação e cuidados adicionais a serem realizados (Silva; Oliveira, 2019). O termo "infecção hospitalar" está gradualmente sendo substituído por "Infecção Relacionada à Assistência à Saúde (IRAS) Tardia". Essa mudança de nomenclatura é mais abrangente, uma vez que engloba não apenas as infecções adquiridas em ambiente hospitalar, mas também aborda questões relacionadas aos cuidados de saúde, falhas no atendimento, prevenção, diagnóstico e tratamento das infecções associadas à assistência à saúde (ANVISA, 2017).

Um agente infeccioso atinge um indivíduo vulnerável, causando uma enfermidade, esse microrganismo pode ser uma bactéria, vírus, fungo ou parasita e frequentemente tem sua origem em um local de armazenamento, como um paciente, um profissional da saúde, visitantes ou até mesmo em superfícies e objetos dentro do ambiente hospitalar (Opas, 2016). Portanto, é de suma importância que as práticas de prevenção e controle de infecções hospitalares sejam incorporadas à rotina diária de todos os profissionais de saúde, uma vez que a prevenção é um aliado para o controle das infecções. As estratégias implementadas para prevenir e controlar infecções hospitalares têm um impacto positivo, não apenas na diminuição dos índices de morbidade e mortalidade dos pacientes, mas também na redução dos custos associados à hospitalização (Nelson *et al.*, 2021).

Pacientes internados em hospitais e afetados por infecções provocadas por patógenos resistentes enfrentam um risco mais elevado de receber tratamento inadequado, o que, por sua vez, aumenta a probabilidade de insucesso no tratamento. Esse panorama contribui para um aumento na carga de doenças nas Unidades de Terapia Intensiva (UTI) (Karam, *et al.*, 2016).

2.2 Resistência Bacteriana aos antibióticos

A resistência bacteriana é definida pela ANVISA (2020) como a capacidade de microrganismo resistirem a ação de fármacos como antibióticos, antivirais, antifúngicos e

antiparasitário. Além disso, a ANVISA, classifica os microrganismos a partir do perfil de resistência demonstrado por uma determinada espécie dando a origem a critérios interpretativos de multirresistência (MDR), resistência extrema (XDR) e pan-resistência (PDR). A MDR é definida quando uma espécie manifesta resistência a antimicrobianos de três ou mais classes diferentes. Por outro lado, uma espécie bacteriana extensivamente resistente pode mostrar sensibilidade apenas a antimicrobianos de, no máximo, duas classes diferentes. Enquanto isso, uma espécie bacteriana pan-resistente é caracterizada pela resistência a todos os agentes antibacterianos disponíveis, pertencentes a diferentes classes (Magiorakos, *et al.*, 2012; ANVISA, 2020).

A utilização de antibióticos no tratamento de infecções causadas por bactérias revolucionou o campo da medicina e desta forma reduziram potencialmente as taxas de morbidade e mortalidade associados a infecções bacterianas mundialmente (Freires; Júnior, 2022). Contudo, o uso de forma inadequada e sem orientação prévia de um profissional de saúde habilitado desse fármaco, colabora para o aumento da resistência bacteriana (Furtado, *et al.*, 2019). Essa consequência grave do uso indiscriminado é observada no crescente aparecimento de cepas bacterianas que não respondem mais a tratamento com estes medicamentos, tornando uma dificuldade cada vez maior de tratar essas infecções (Bizerra, 2020).

Segundo Gallego, *et al.*, (2018), apesar de atualmente contamos com diversas classes de antibióticos para tratamento de infecções por bactérias, quando o paciente desenvolve uma resistência a maioria dos antibióticos existentes, restam poucas opções para tratamento e por conseguinte dificulta o processo de cura e continuidade do mesmo. Na literatura diversos são os trabalhos que mostram como podem ocorrer os mecanismos de resistência, podendo ser observado na tabela 1 a seguir.

Tabela 1 – Principais mecanismos de resistência bacteriana aos antibióticos.

Mecanismos de Resistência	Características	Referência
Mutação genética	As bactérias podem sofrer mutações em seus genes, o que pode afetar a eficácia dos antibióticos contra elas.	Baptista (2013)
Expressão de bombas de efluxo	Algumas bactérias têm sistemas de bombeamento que eliminam ativamente os antibióticos de dentro das células, impedindo que os medicamentos atinjam seu alvo.	Nikaido; Pagès (2015)
Produção de enzimas inativadoras de antibióticos	Bactérias podem produzir enzimas que desativam ou quebram os antibióticos, tornando-os ineficazes.	Nogueira <i>et al.</i> , (2016)
Modificação do alvo do antibiótico	As bactérias podem alterar a estrutura da proteína alvo do antibiótico, tornando-a menos suscetível ao medicamento.	Blair <i>et al.</i> , (2015)
Biofilme bacteriano	Bactérias podem formar biofilmes que protegem as células bacterianas do ataque dos antibióticos.	Yina <i>et al.</i> , (2018)
Transferência horizontal de genes de resistência	As bactérias podem trocar genes de resistência com outras bactérias, permitindo a rápida disseminação de resistência a antibióticos.	Costa; Júnior (2017)

Fonte: autoria própria (2024).

Dessa forma, a resistência bacteriana aos antibióticos resulta da expressão de genes de resistência, que de forma individual ou sinérgica, regulam os processos subjacentes aos mecanismos de resistência. Estes genes controlam a operação de maquinarias bioquímicas e/ou estruturais que levam à ineficácia do mecanismo de ação do antibiótico (Andrade; Darini, 2020).

Logo, o uso impróprio e indiscriminado de antibióticos exerce uma pressão seletiva sobre os microrganismos, levando-os a sofrer mutações que podem alterar suas características estruturais e funcionais naturais. Esse fenômeno resulta em uma preocupante situação de

resistência bacteriana, na qual representa uma séria ameaça à saúde pública (Who, 2014). Onde as bactérias resistentes deixam de responder aos antimicrobianos tradicionalmente utilizados na prática clínica, reduzindo assim as chances de recuperação do paciente (Bapitista, 2017). Sendo importante ter uma visão holística da problemática da resistência bacteriana aos antimicrobianos existentes. Visto que quase 2/3 de todos os antimicrobianos no mundo são utilizados no campo agropecuário e veterinário, como agentes terapêuticos e/ou profiláticos funcionando como promotores de crescimento (Mcewen; Collignon, 2017).

Isso faz com que esses antimicrobianos sejam utilizados em doses subterapêuticas, favorecendo a seleção de bactérias resistentes que, eventualmente, são transmitidas aos humanos, seja de forma direta (por contato/manipulação) ou indireta (produtos alimentares, solo e água contaminada) (Ryu *et al.*, 2017). Consequentemente, isso resulta em aumentos nos custos do tratamento e eleva o risco de óbito do paciente (Bapitista, 2017).

Na prática clínica, os antibióticos utilizados na rotina hospitalar para tratamento de infecções bacterianas, se destacam os das classes aminoglicosídeos, fluoroquinolonas, carbapenêmicos, cefalosporinas, polimixinas (Rosa *et al.*, 2021). Entretanto, a utilização indevida desses fármacos, despertou para a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2017), uma preocupação, a fim de classificar os microrganismos em ordens de prioridade, para o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos (Tabela 2).

Tabela 2 – Grau de prioridade de patógenos resistentes aos antimicrobianos.

Prioridade 1: CRÍTICA	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Acinetobacter baumannii</i> resistente aos carbapenêmicos • <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente aos carbapenêmicos • <i>Enterobacterales</i>* resistente aos carbapenêmicos, às cefalosporinas de terceira geração
Prioridade 2: ELEVADA	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Enterococcus faecium</i> resistente a vancomicina • <i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina (oxacilina), com sensibilidade intermediária ou resistente à vancomicina • <i>Helicobacter pylori</i> resistente à claritromicina • <i>Campylobacter</i> spp. resistentes às fluoroquinolonas • <i>Salmonella</i> spp. resistente às fluoroquinolonas • <i>Neisseria gonorrhoeae</i> resistente às cefalosporinas e às fluoroquinolonas.
Prioridade 3: MÉDIA	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Streptococcus pneumoniae</i> não sensível à penicilina • <i>Haemophilus influenzae</i>, resistente à ampicilina • <i>Shigella</i> spp. resistentes às fluoroquinolonas

Fonte: OMS (2017). **Klebsiella* spp., *E. coli*, *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Morganella* spp.

Segundo o economista britânico Jim O'Neill (2014), se o cenário atual não sofrer alterações consideráveis, infecções ocasionadas por bactérias multirresistentes estarão entre a principal causa de morte no mundo. Estima-se que em 2050, 10 milhões de pessoas morrerão anualmente em decorrência dessas infecções. Dessa forma, é crucial entender esses mecanismos e tomar medidas para controlar a resistência bacteriana, promovendo o uso responsável de antibióticos, desenvolvendo novos medicamentos e implementando medidas de prevenção eficazes (ANVISA, 2020).

2.3 *Acinetobacter baumannii*

O gênero *Acinetobacter* foi descrito pela primeira vez no começo do século XX, especificamente em 1911, quando o microbiologista holandês Beijerinck caracterizou um organismo denominado *Micrococcus calco-Aceticus* (Beijerinck, 1911). Atualmente, o gênero é composto por 31 espécies reconhecidas (Scarcella; Scarcella; Beretta, 2017). A *A. baumannii* pertence à família Moraxellaceae e possui formato de cocobacilos, Gram-negativa, catalase positivos, oxidase-negativos e não fermentadores (Martin-aspas *et al.*, 2018; Vieira, Picoli, 2015). Essa espécie tem sido relatada em hospitais de diversos países e regiões, incluindo Europa, América do Norte, Argentina, Brasil, China, Taiwan, Hong-Kong, Japão e Coreia do Sul. A *A. baumannii* é conhecida por causar infecções graves em pacientes hospitalizados e em condições críticas de saúde (Scarcella; Scarcella; Beretta, 2017).

A. baumannii, em particular, ganhou notoriedade devido à sua notável capacidade de desenvolver resistência a múltiplos antibióticos, tornando-o um dos principais patógenos associados a infecções nosocomiais (Vázquez-López *et al.*, 2020). Segundo estudos de Li e colaboradores (2019), demonstraram que *A. baumannii* é responsável por 35,8% das infecções secundárias em pacientes hospitalizados com COVID-19 em Wuhan, na China. Já em diversos países, no qual o Brasil também está incluído, têm apresentado a ocorrência de infecções secundárias por cepas de *A. baumannii* resistentes aos carbapenêmicos.

Entre os mecanismos de resistência aos antibióticos, estão inclusos a diminuição da permeabilidade da membrana externa bacteriana, a perda de porinas, modificações nos sítios de ligação dos antibióticos, a hiperexpressão de bombas de efluxo e a produção de β -lactamase (Martins *et al.*, 2013). Contudo, o fator que mais contribui mundialmente para a propagação rápida de cepas multirresistentes em ambientes hospitalares é a aquisição de genes de resistência e a produção de enzimas β -lactamases (Chuang *et al.*, 2014). Pois, elas se disseminam principalmente por meio de plasmídeos, transposons e integrons, além do elemento de inserção ISAbal localizado entre genes de resistência como blaOXA-23, blaOXA-24 e blaAmpC, que têm sido associados ao aumento da resistência aos carbapenêmicos (especialmente penicilinas e cefalosporinas) (Martins *et al.*, 2012). Além de possuir uma resistência inata a vários antibióticos, a plasticidade genômica de *A. baumannii* é programada para adquirir ou regular de forma positiva genes de resistência, diminuindo assim as opções tratamentos eficazes e aumentando as taxas de mortalidade (Gallagher; Baker, 2020).

Dessa forma, o tratamento desta bactéria é complicado devido à sua capacidade de desenvolver resistência aos antimicrobianos. Diante do exposto, três classes de antibióticos

também estão inseridas neste cenário. Ciprofloxacino (CIP) é um antibiótico que pertence ao grupo das fluoroquinolonas, conhecido por ser amplamente utilizado no tratamento de diversas infecções bacterianas devido à sua eficácia e ao amplo espectro de ação contra bactérias tanto Gram-positivas quanto Gram-negativas (Yu *et al.*, 2020). Seu mecanismo de ação consiste em controlar o excesso de enrolamento no DNA bacteriano, um processo essencial para a replicação, recombinação e reparo do DNA, ao se conectar e inibir as enzimas da DNA girase. Como resultado, o ciprofloxacino interfere no crescimento e na reprodução das bactérias, levando à sua morte. (Hooper *et al.*, 2016; Yang, *et al.*, 2018).

O meropenem (MPN) é um antibiótico que pertence à classe farmacêutica dos carbapenêmicos, são moléculas pertencentes aos β -lactâmicos e são considerados a maior e mais importante classe de agentes antibacterianos utilizados clinicamente em humanos (Steffens *et al.*, 2021). Conhecido por seu extenso espectro de atuação e alta eficácia contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, o MPN é recomendado para o tratamento de diversos tipos de infecções, incluindo aquelas causadas por organismos que produzem β -lactamases, sendo considerado uma opção de última linha para infecções graves ou causadas por bactérias resistentes a outros antimicrobianos (Penido, 2019). No contexto do aumento da resistência bacteriana, é crucial salientar o papel dos antibióticos beta-lactâmicos. Estes antimicrobianos possuem uma estrutura e mecanismo de ação similares, consistindo na inibição da formação do peptidoglicano, que é essencial para a parede celular das bactérias (Vanegas, 2020).

A ceftriaxona (CRO) é um antibiótico de amplo espectro pertencente à classe das cefalosporinas de terceira geração utilizada como alternativa às penicilinas no tratamento de infecções graves (Gonzalez *et al.*, 2019). Age inibindo a síntese da parede celular bacteriana, um mecanismo de ação comum entre os antibióticos beta-lactâmicos, ao qual pertencem as cefalosporinas. Isso resulta na morte celular bacteriana, tornando-a eficaz contra uma ampla gama de organismos patogênicos (Heffernan *et al.*, 2022).

Os fármacos comumente empregados, muitas vezes se mostram ineficazes devido ao surgimento de cepas resistentes. Isso ressalta a necessidade urgente de se desenvolverem novos protocolos de tratamento e alternativas terapêuticas para combater essa bactéria (Cunha, 2019).

2.4 Óleos essenciais

Os óleos essenciais (OEs) são os compostos simples com solubilidade limitada, líquidos, odoríferos e voláteis encontrados nas plantas aromáticas. Em síntese, são misturas de compostos físico-químicos de sua própria natureza que, juntos, conferem ao óleo um cheiro único (Silva, 2018). A sua composição química é estabelecida por fatores genéticos, contudo, outros fatores também podem carrear em alterações na produção dos metabólitos secundários (Silva, 2017), esses fatores podem ser externos (climáticos, agrônômicos e antrópicos), que os tornam extremamente variáveis qualitativa e quantitativamente ao longo do tempo (Napoli *et al.*, 2021). Dessa forma, esses metabólitos representam uma interconexão entre as plantas e o meio ambiente (Silva, 2017).

Segundo Díaz e colaboradores (2017), o OEs exerce função antimicrobiana, não matando o próprio microrganismo, mas afetando diretamente vários eventos-chave durante a infecção. Dessa forma, é possível observar que esses óleos evidenciam promissoras atividades biológicas como agentes bactericidas, fungicidas e parasiticidas. Podendo dessa forma ser um agente crucial na guerra de doenças causadas por bactérias e fungos (Heffernan *et al.*, 2022). Logo, os OEs têm se mostrado muito promissores quando usados isoladamente e em combinação com antibióticos clínicos para eliminar bactérias multirresistentes, tornando-se alvo de importantes pesquisas que visam melhorar a qualidade da população e a expectativa de vida (Melo *et al.*, 2019).

Todavia, apesar de seu vasto potencial de aplicação, os OEs assim como qualquer outro medicamento, apresentam uma série de problemas que têm limitado seu uso em larga escala até o momento. O primeiro obstáculo encontrado se deu sobre o potencial de toxicidade aguda e crônica e o surgimento de possíveis reações alérgicas. Outra dificuldade importante é a variabilidade química das plantas (Wojtunik-Kulesza, 2022).

Portanto, a investigação de compostos antimicrobianos derivados de fontes naturais, como óleos essenciais, surge como uma abordagem promissora para combater o problema da resistência microbiana. Esta estratégia pode levar à descoberta de novos medicamentos e abordagens terapêuticas para a preservação da saúde humana (Cunha, 2019).

2.5 *Lippia sidoides*

Lippia sidoides pertence à família Verbenaceae e é conhecida na cultura popular como “alecrim-pimenta”, “alecrim”, “alecrim-bravo”, podendo variar de acordo com a região

do Brasil e outros países em que se encontra. Ela possui uma maior predominância na região nordeste do Brasil, podendo ser encontrada, também, em outros países da América Latina. Essa planta tem como característica o porte ereto, arbustivo com muitas ramificações, um caule grosso, podendo chegar até três metros de altura, com folhas aromáticas e flores diminutas e esbranquiçadas (Veras *et al.*, 2012; Farias *et al.*, 2012; Monteiro *et al.*, 2007; de Moraes *et al.*, 2016; Souza *et al.*, 2020). Em 2018, a espécie conhecida como *L. sidoides* foi oficialmente renomeada na nomenclatura botânica, passando a ser denominada *Lippia origanoides* (Brasil, 2018).

L. sidoides é extensamente empregada na medicina tradicional devido às propriedades antibacterianas associadas ao seu óleo essencial. No Brasil, essa planta tem sido incorporada em programas governamentais de fitoterapia, em virtude de suas notáveis atividades terapêuticas. Esse cenário tem estimulado um crescente interesse na pesquisa por novas moléculas com atividade antimicrobiana presentes nesse óleo (Penteado, 2021). Dessa forma, por ser considerada como uma das espécies vegetais com um grande potencial para a geração de produtos, foi incluída na Lista Nacional de Plantas Medicinais de interesse para o Sistema Único de Saúde (RENISUS) (Brasil, 2009; Souza *et al.*, 2020).

Os OEs desta planta são formados por combinações de diversas moléculas que possuem características lipofílicas, aromáticas e de baixo peso molecular. Estudos comprovam que esses óleos podem ser constituídos por diversos complexos, como por exemplo: álcoois, cetonas, aldeídos, hidrocarbonetos entre outros, os quais são responsáveis pelas propriedades biológicas e físico-químicas do vegetal (Ganjewala *et al.*, 2009). O potencial farmacológico dos produtos derivados de *L. sidoides*, destacando-se atividades como antimicrobiana, acaricida, anti-inflamatória, antioxidante, antifúngica e gastroprotetora (Veras *et al.*, 2012; Farias *et al.*, 2012; Monteiro *et al.*, 2007; de Moraes *et al.*, 2016; Souza *et al.*, 2020).

Geralmente, essas propriedades estão correlacionadas a presença de alguns componentes químicos proeminentes, como o E-cariofileno, o timol, o 1,8-cineol, o β -mirceno, e outras substâncias relevantes (Veras *et al.*, 2012; Farias *et al.*, 2012; Monteiro *et al.*, 2007; de Moraes *et al.*, 2016; Souza *et al.*, 2020). Alguns estudos demonstraram que o timol e o carvacrol possuem efeitos sinérgicos em relação às suas propriedades antimicrobianas (Vale *et al.*, 2021; Sousa; Silveira *et al.*, 2020).

Esses compostos são classificados como monoterpenos aromáticos e são os principais constituintes de vários óleos essenciais extraídos de plantas aromáticas que proporcionam notórias características farmacológicas. (Almeida, 2015). Similares estruturalmente, variando apenas a posição do grupo hidroxila no anel fenólico. Estudos

apontam que as propriedades antifúngicas e antibacterianas desses dois monoterpenos estão relacionadas principalmente com a interação que estes compostos possuem com as membranas celulares e capacidade de ligações por meio de suas hidroxilas (OH) com os grupos amina e hidroxilamina de proteínas presentes nas membranas, ocasionando uma alteração da permeabilidade das mesmas (Paul *et al.*, 2011; Bouyahya *et al.*, 2019). Portanto, a criação de substâncias sintéticas, que são modificações químicas de compostos ativos encontrados em plantas, representa uma nova e promissora alternativa de tratamento para cepas multirresistentes (Shin; Park, 2017).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Determinar a composição química, atividade antibacteriana e sinérgica do óleo essencial de *Lippia sidoides* (OELS) contra isolados clínicos de *Acinetobacter baumannii* multirresistentes.

3.2 Objetivos específicos

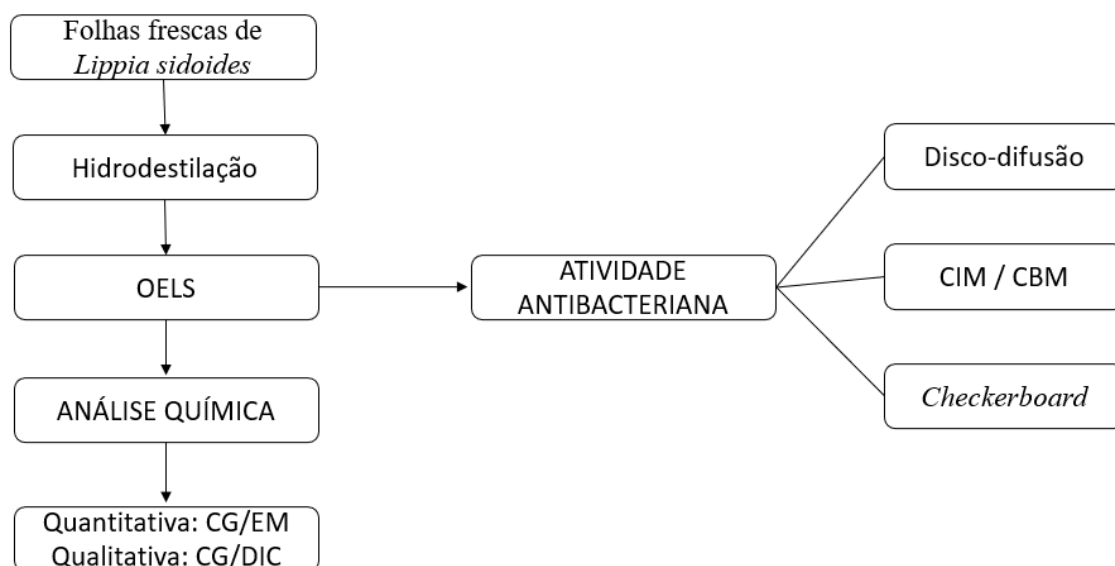
- Determinar a composição química dos compostos e rendimento total do OELS;
- Avaliar a atividade antimicrobiana do OELS por disco-difusão e microdiluição (determinação da concentração inibitória e bactericida mínima – CIM/CBM) contra isolados clínicos de *A. baumannii*;
- Determinar atividade sinérgica entre o OELS com antibióticos ciprofloxacino (CIP), meropenem (MPN), ceftriaxona (CRO) contra isolados clínicos de *A. baumannii*.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Planejamento experimental

O fluxograma a seguir apresenta as principais etapas desenvolvidas no estudo, desde a obtenção do OELS e sua utilização nas análises microbiológicas (figura 1).

Figura 1 – Fluxograma das análises que foram descritas e realizadas utilizando o OELS contra *A. baumannii*.



Fonte: autoria própria (2024). CG/EM: Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa; CG/DIC: Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização de Chamas; CIM: Concentração Inibitória Mínima. CBM: Concentração Bactericida Mínima.

4.2 Material botânico e obtenção de exsicata

Para o presente estudo foram utilizadas as folhas de *Lippia sidoides*, coletadas no Horto de Plantas Medicinais do UNINTA (Quadro 1).

Quadro 1 – Origem do material botânico utilizado neste estudo.

Espécie	Localidade	Coordenadas	Nº da exsicata	Período da coleta
<i>Lippia sidoides</i>	Rua Roma, nº 67 - Dom Expedito, Sobral – CE	Latitude: 3° 41' 44" S Longitude: 40° 20' 34"O	26502	Outubro de 2019 às 08:00 horas da manhã

Fonte: autoria própria (2024).

4.3 Microrganismos e condições de cultivo

Para este estudo foram utilizadas as cepas clínicas de *A. baumannii* (AB03, AB04, AB07, AB13), foram isoladas e identificadas por Brito (2018) no Laboratório de Microbiologia dos hospitais de ensino: Hospital Geral de Fortaleza (HGF), no Hospital Geral César Calls (HGCC) e no Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC) de Fortaleza, Ceará, Brasil, como parte da rotina hospitalar. Todas as cepas foram submetidas a determinação do perfil de resistência pelo sistema VITEK®2 (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, França). E atualmente se encontram no Banco Biológico do Laboratório de Microbiologia e Parasitologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, *campus* Sobral (FAMED, UFC/Sobral), o perfil de resistência das cepas está descrito na tabela 3.

Tabela 3 – Perfil de resistência à antibióticos das cepas *A. baumannii* obtidas pelo sistema VITEK®2.

Espécie	Cód.	Fonte	Gene OXA	Resistência antibiótica
<i>A. baumannii</i>	AB03	Liquor	OXA-24	AMP, CPM, CFO, CAZ, CRO, CEF, CRX/AXETIL, CIP, GEN, IMP, MPN, PIP/RAZ
	AB04	Aspirado traqueal	OXA-23	AMP, AMP/SUB, CPM, CFO, CAZ, CRO, CEF, CRX/AXETIL, CIP, IMP, MPN, PIP/RAZ
	AB07	Sangue	OXA-23	AMP, AMP/SUB, CPM, CFO, CAZ, CRO, CRX/AXETIL, CIP, GEN, IMP, MPN, PIP/TAZ
	AB13	Sangue	OXA-24	AMP, CPM, CFO, CAZ, CRO, CEF, CRX/AXETIL, CIP, GEN, IMP, MPN, PIP/TAZ

Fonte: ROCHA, 2019; BRITO, 2018. BZP: benzilpenicilina; CLI: clindamicina; ERT: eritromicina; GEN: gentamicina; LEV: levofloxacino; OXA: oxacilina; SUT: sulfametoxazol+trimetoprima. AMP: ampicilina; AMP/SUB: ampicilina/sulbactam; CPM: cefepima; CFO: ceftazidima; CAZ: ceftazidima; CRO: ceftriaxona; CRX: cefuroxima; CRX/AXETIL: cefuroxima/axetil; CIP: ciprofloxacina; GEN: gentamicina; IMP: imipenem; MPN: meropenem; PIP/TAZ: piperacilina/tazobactam; TIG: tigeciclina.

Inicialmente as cepas foram estocadas em meio *Brain Heart Infusion* (BHI), em alíquotas de 200 µL com 20% de glicerol e armazenadas a - 80°C no Banco biológico do Laboratório de Microbiologia e Parasitologia da Faculdade de Medicina (FAMED, UFC/Sobral).

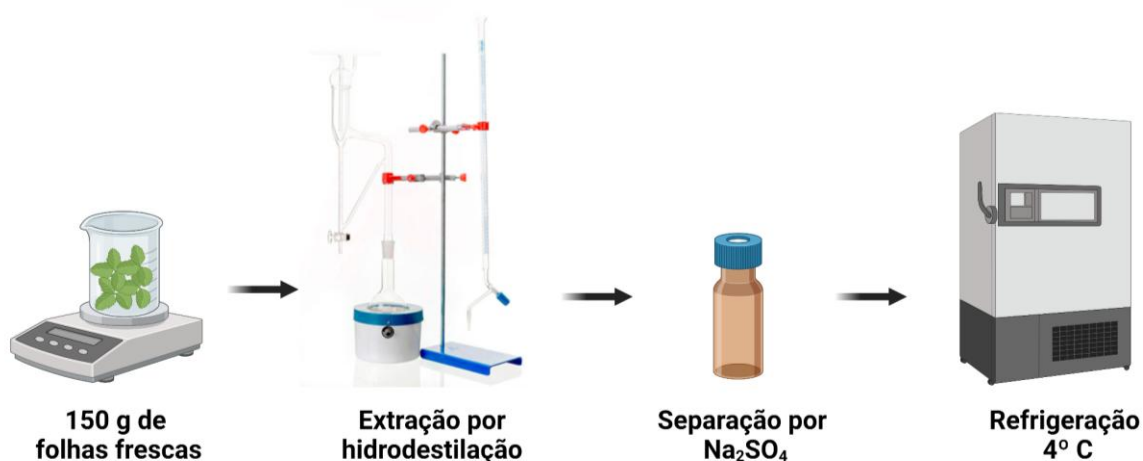
A ativação das cepas bacterianas foi realizada a partir de uma cultura estoque contendo meio de cultura BHI com uma adição de 20 % de glicerol. Essa cultura de estoque foi previamente mantida em armazenamento a uma temperatura de -80° C. Para iniciar a ativação, 50 µL da cultura foi inoculada em 5 mL de meio de cultura BHI. O sistema resultante foi então submetido a uma incubação a 37° C ao longo de um período de 24 horas, mantendo-se condições de ambiente aeróbico. Após um intervalo de 18 horas, no qual as células bacterianas atingiram a fase de crescimento exponencial, realizou-se a quantificação ajustada do número

de células bacterianas destinadas a cada ensaio experimental. Esse ajuste foi conduzido com base na densidade óptica proporcionada pelo padrão de turbidez McFarland 0.5, seguindo as diretrizes estabelecidas pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* M100-S25 (CLSI, 2019).

4. 4 Obtenção do óleo essencial

As folhas de *L. sidoides* foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais do UNINTA – Sobral CE, no mês de outubro de 2019 às 8:00 horas da manhã. Dado início ao processo de beneficiamento primário, as plantas passaram por uma avaliação na qual houve uma pré-seleção da mesma. A fim de eliminar qualquer material contaminante e injuriado. Após a seleção do material correto, as folhas frescas da *L. sidoides* foram preparadas para em seguida ser realizado o processo de obtenção do óleo essencial. A obtenção do óleo essencial da *L. sidoides* foi efetuada a partir de 150g de folhas frescas, cortadas em pequenos pedaços, acondicionadas em balão (5 L) juntamente com 2 L de água destilada e submetida ao processo de hidrodestilação em aparelho doseador tipo Clevenger, por um período de 2 horas (Figura 2).

Figura 2 - Esquema do processo de extração do óleo essencial de *L. sidoides* por hidrodestilação utilizando Clevenger.



Fonte: autoria própria (2024).

Em seguida, o óleo essencial obtido foi seco com sulfato de sódio anidro e mantido em refrigerador até a análise. Para realizar o cálculo do rendimento, foi utilizado o peso das folhas frescas e o peso do óleo essencial obtido. Aplicando onde: m_1 = massa de óleo extraído e m_2 = peso das folhas:

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{m_1 \text{ (g)}}{m_2 \text{ (g)}} \times 100$$

4.5 Análise da composição química do óleo essencial

A análise do óleo essencial foi realizada por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM) no Laboratório de Cromatografia e Espectrometria (LACRE) do curso de Química da UVA. Foi utilizada CG/EM e CG/DIC na análise qualitativa e quantitativa do óleo essencial. Para análise qualitativa da composição química efetuada em Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM), no equipamento da marca Shimadzu modelo QP-2010 Plus, quadrupolo, com impacto de elétrons a 70 eV, coluna HP-5MS metilpolisiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m, Agilent), gás carreador hélio com fluxo 1,00 mL.min⁻¹, temperatura do injetor a 250 °C, detector a 150 °C e linha de transferência a 280 °C. O forno cromatográfico foi programado da seguinte maneira: temperatura inicial de 70 °C, com rampa de aquecimento de 4 °C.min⁻¹ até 180 °C e acréscimo de 10 °C/min até 250 °C ao término da corrida (34,5 min). Já a análise quantitativa da composição química do óleo foi efetuada em Cromatografia Gasosa acoplada a Ionização de Chama (CG/DIC, Shimadzu modelo GC-2010 Plus), coluna RTX-5 metilpolisiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m), modo de injeção com divisão de fluxo 1:30, gás carreador nitrogênio com fluxo 1,00 mL.min⁻¹, com a temperatura do injetor a 250 °C e temperatura do detector a 280 °C. A programação do forno cromatográfico será similar à usada nas análises realizadas em CG/EM.

O percentual de cada constituinte foi calculado através da área de integral de seus picos, relacionada com a área total de todos os constituintes da amostra. Os diversos constituintes químicos do óleo essencial foram identificados através da comparação visual de seus espectros de massas com os existentes na literatura (Adams, 2017) e espectros fornecidos pelo banco de dados (NIST08) do equipamento e, também, pela comparação dos índices de retenção com aqueles existentes na literatura (Adams, 2017). Uma solução padrão de n-alcanos foi colocada nas mesmas condições cromatográficas da amostra, e deverá ser utilizada para alcançar os índices de retenção conforme descrito por Van Den Dool and Kratz (1963).

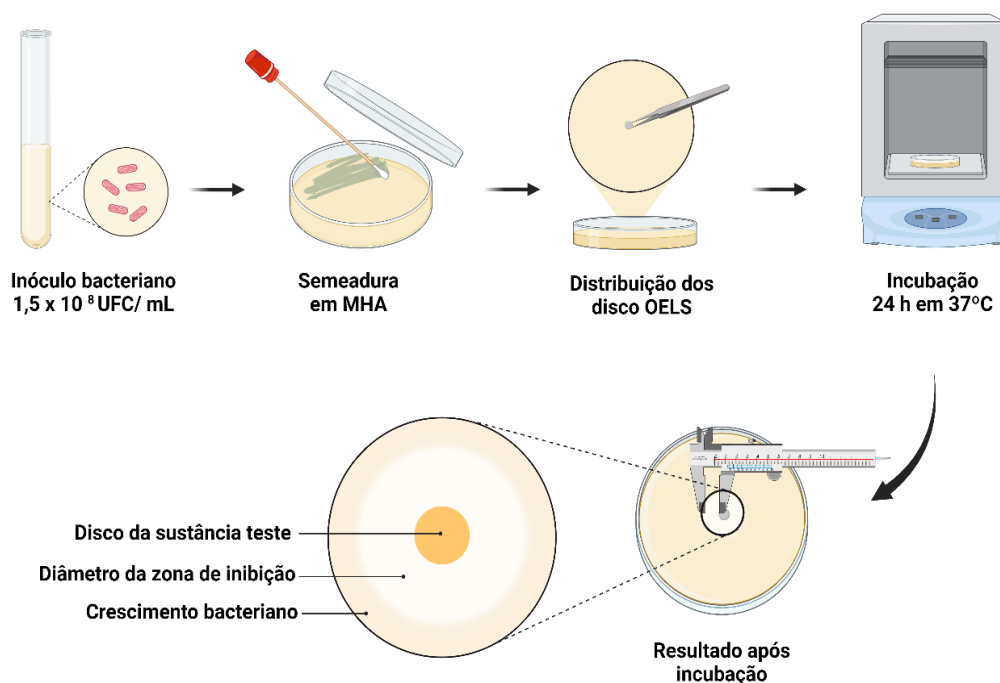
4.6 Solução de OELS e antibiótico

A solução estoque de OELS foi preparada na concentração de 16.000 µg/mL em *Brain Heart Infusion* (BHI, Acumedia®, Michigan, EUA) solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO) a 1 %. E para o controle, foi utilizado caldo BHI solubilizado em DMSO a 1 %. Os antibióticos Ciprofloxacino 2mg/mL (CIP, Fresenius Kabi Brasil Ltda, São Paulo, Brasil), Meropenem 1g e Ceftriaxona 1g (CRO, ABL Antibióticos do Brasil Ltda, São Paulo, Brasil) foram obtidos comercialmente e reconstituídos em solução salina 0,9 % estéril, e diluídos com caldo BHI para concentrações desejadas.

4.7 Aromatograma

Foi utilizado uma versão do teste de disco-difusão preconizado pelo CLSI (2019) conhecido como aromatograma para avaliação inicial da capacidade antimicrobiana do OELS (figura 3). Inicialmente, *swabs* estéreis foram mergulhados e rotacionados na parede interna do tubo no qual continham a suspensão bacteriana ajustada para 0,5 McFarland em solução salina a 0,9%. Após este procedimento, as placas contendo em sua superfície Mueller Hinton Agar (MHA, Acumedia®, Michigan, EUA) foram inoculadas. Posteriormente discos de papel de 6mm (Larboclin®, Paraná, Brasil) foram impregnados com 10 µL do OELS, distribuídos de forma simétrica na superfície contendo MHA e incubados por 24 horas a 37°. A leitura do diâmetro do halo de inibição em milímetros foi realizada com o auxílio de um paquímetro (Digimess, São Paulo, Brasil) (CLSI, 2019).

Figura 3 – Representação esquemática da atividade antimicrobiana do OELS contra as cepas do estudo.



Fonte: autoria própria (2024).

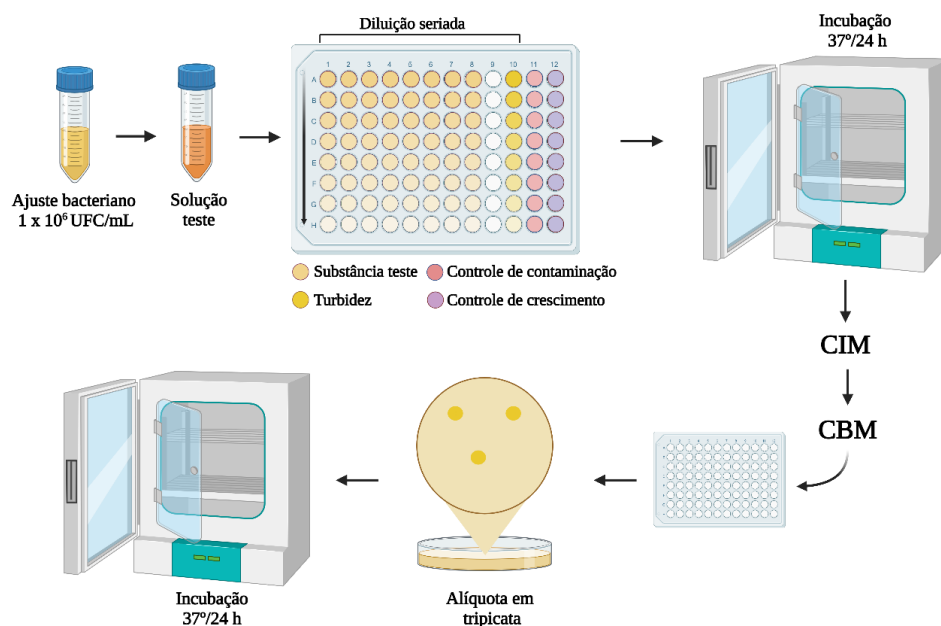
4.8 Teste de microdiluição

Para a análise da atividade antimicrobiana dos produtos naturais foi determinada a concentração inibitória mínima (CIM) em placas de poliestireno de 96 poços de fundo em “U” padronizada de acordo com a norma de aplicação global desenvolvida mediante o processo consensual do CLSI (2019). Todas as análises realizadas neste método foram realizadas em triplicata. Os poços foram devidamente preenchidos com 100 μ L de OELS em caldo de BHI, e as concentrações foram decrescentes de 8.000 a 125 μ g/mL. Sendo adicionado em seguida aos poços uma quantidade de 100 μ L da suspensão bacteriana (1×10^6 UFC/mL). Como um padrão de controle negativo foi utilizado apenas meio de BHI. A incubação desta placa foi no período de 24 horas com a temperatura a 37°C. Foi definido como CIM a menor concentração responsável por inibir o crescimento bacteriano de forma visível.

Em seguida, foi realizada a determinação da concentração bactericida mínima (CBM). Nos poços onde não ocorrerem crescimento microbiano visível, foram transferidos 10 μ L com a ajuda da pipeta para placas contendo BHI. Em condições aeróbicas, estas placas foram incubadas no período de 24 horas (figura 4) a 37 °C e considerados CBM onde houve a

menor concentração capaz de inibir completamente o crescimento microbiano na superfície ágar (El-guendouz *et al.*, 2018).

Figura 4 – Representação esquemática da metodologia utilizada para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) do OELS e antibióticos contra cepas de *A. baumannii*.



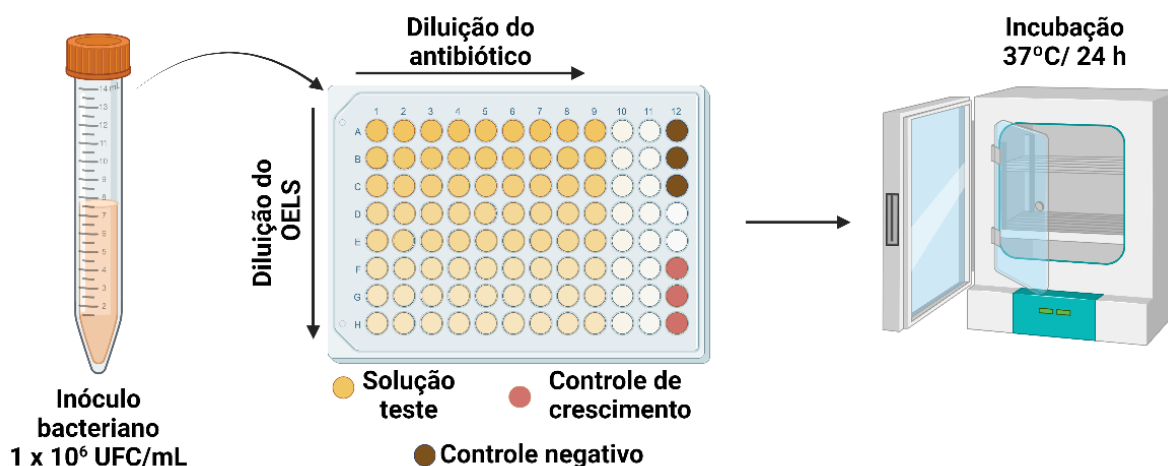
Fonte: autoria própria (2024).

4.9 Ensaio de *checkerboard*

Para análise do efeito combinatório do OELS associado aos antibióticos CIP, MPN, CRO foi realizado o ensaio de checkerboard descrito por Vasconcelos *et al.*, (2023) com modificações (figura 5). As cepas de *A. baumannii* (AB03, AB04, AB07 E AB13) foram selecionadas por possuírem um perfil de múltipla resistência conforme indicado pelo sistema VITEK®2. O OELS e os antibióticos foram previamente diluídos em uma placa de 96 poços em concentrações decrescentes a partir da concentração inicial de 2000 µg/mL do OELS e 2000 µg/mL do ciprofloxacino, 2000 µg/mL do meropenem e 4000 µg/mL da ceftriaxona. Para a realização do ensaio, 50 µL do OELS foram dispostos em colunas (1 a 9) e posteriormente acrescidos 50 µL dos antibióticos, previamente diluídos nas linhas (A a H) da placa até a obtenção final das concentrações de 250 µg/mL de OELS, 250 µg/mL do ciprofloxacino, 250 µg/mL do meropenem e 500 µg/mL da ceftriaxona. Assim, em cada poço obteve-se uma combinação de concentrações das duas substâncias. Em seguida, 100 µL dos inóculos

bacterianos (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 ($ICIF \geq 4$) (LEWIS et al., 2002).

Figura 5 – Esquema metodológico do ensaio de *checkerboard* para determinação de CIM da combinação do OELS com CIP, MPN e CRO contra *A. baumannii*.



Fonte: autoria própria.

4.10 Análise estatística

Todos os experimentos foram realizados com 3 réplicas de cada tratamento divididos em três experimentos. Os dados coletados possibilitaram a organização em planilha do Microsoft Office Excel® (Versão 2021 para Windows) e em seguida a análise estatística no software GraphPad Prism® (Versão 5.0 para Windows). Para a análise de diferenças entre os grupos foi realizado o teste de ANOVA com pós-teste de Tukey considerando o nível de significância de $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1 Composição química e rendimento do óleo essencial de *Lippia sidoides*

A média da massa em g do óleo essencial obtido a partir de folhas frescas de *L. sidoides* submetidas à hidrodestilação em aparelho Clevenger foi de 1,45g, e o peso da massa de folhas frescas utilizadas para a extração foi de 150 g que resultaram em um rendimento de 0,97% p/p. A análise do OELS por CG/EM e CG/DIC gerou 15 picos identificáveis (ANEXO B). A composição química do OELS foi realizada pela análise dos padrões de fragmentação exibidos nos espectros de massas com aqueles presentes na base de dados fornecidos pelo equipamento, cálculos dos índices de retenção (IR) e de dados da literatura (ADAMS, 2017) que estão listados na tabela 4.

Tabela 4 – Composição química do óleo essencial de *Lippia sidoides* (OELS) analisado por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG/EM) e por detector de ionização de chama (CG/DIC).

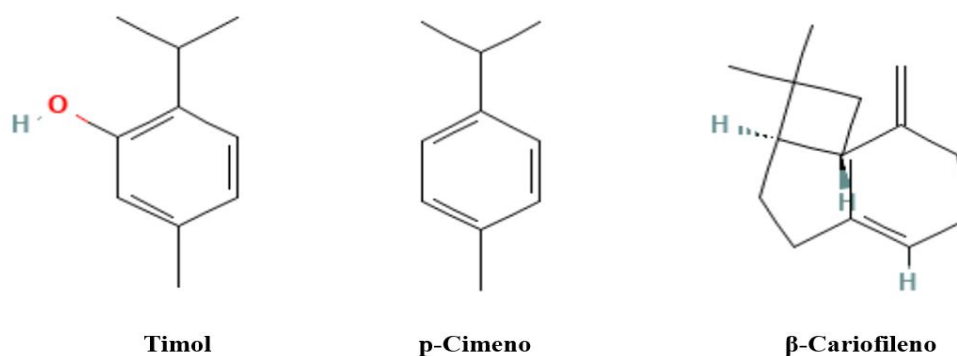
Classe	Composto	IR _{calc} ¹	IR _{lit} ²	Área relativa (%)
Monoterpenos de Hidrocarboneto	α -Tujene	926	924	0,53
	α -Pineno	935	392	0,41
	β -Mirceno	989	988	1,37
	α -Terpineno	1018	1014	0,87
	p-Cimeno	1025	1020	8,18
	Limoneno	1029	1024	0,72
	γ -Terpineno	1058	1054	2,07
Monoterpeno Oxigenado	Eucaliptol	1033	1026	1,14
	1-Octeno-3-ol	975	974	0,2
	Terpinen-4-ol	1180	1174	0,69
Sesquiterpeno de Hidrocarboneto	Timol	1294	1289	76,16
	Ipsdienol	1145	1140	0,81
	β -Cariofileno	1424	1417	5,43

Sesquiterpenos Oxigenados	Óxido de Cariofileno	1589	1582	0,44
Fenilpropanóide	Timol metil éter	1235	1232	0,82
Total				99,84

Fonte: autoria própria (2024). ¹ Índice de Retenção calculado. ² Índice de Retenção da literatura (ADAMS, 2017).

A análise dos componentes presentes no OELS, representou 99,84% dos constituintes. O componente volátil mais prevalente foi o timol (76,16%) seguido por p-Cimeno (8,18%) e β -Cariofileno (5,43%) (figura 6). Sendo dessa forma, rico em hidrocarbonetos monoterpênicos, monoterpênicos oxigenados e sesquiterpenos oxigenados.

Figura 6 – Estruturas químicas dos principais constituintes do óleo essencial das folhas frescas de *L. sidoides*.



Fonte: PubChem Database (2024).

5.2 Atividade antimicrobiana

Todas as cepas testadas (n=4) apresentaram sensibilidade ao OELS. Os resultados da atividade antibacteriana *in vitro* do OELS contra as cepas de *A. baumannii* estão detalhados na tabela 5, apresentando os dados relativos ao diâmetro da zona de inibição (DZI), às concentrações inibitórias mínimas (CIM) e às concentrações bactericidas mínimas (CBM).

Tabela 5 – Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia sidoides* contra isolados clínicos de *A. baumannii*.

<i>A. baumannii</i>	DZI (mm) ¹	CIM (µg/mL) ²	CBM (µg/mL) ³	CBM/CIM
AB03	33,33 ± 1,97	500	500	1
AB04	22,67 ± 2,13	500	2000	4
AB07	30,67 ± 0,95	500	500	1
AB13	21,67 ± 1,26	500	1000	2

Fonte: autoria própria (2024). ¹Diâmetros das zonas de inibição usando discos de 6mm; ²CIM: Concentração Inibitória Mínima; ³CBM: Concentração bactericida mínima.

A avaliação antibacteriana pelo método de disco-difusão demonstrou que o OELS possui atividade contra as cepas testadas por apresentarem DZI variando de 21 a 33mm. Dentre as cepas testadas, a mais sensível ao OELS foi a *A. baumannii* (AB03) com DZI de 33,33±1,97, sendo a AB13 a que apresentou menor DZI (21,67±1,26). Conforme os resultados obtidos pelo teste de microdiluição, as cepas deste estudo mostraram ser sensíveis ao OELS apresentando CIM de 500 µg/mL para todas as estirpes testadas. O efeito bactericida, avaliado pela CBM, permaneceu na mesma concentração de CIM, com exceção para duas estirpes, *A. baumannii* (AB13 e AB04).

5.3 Atividade sinérgica

Foram testadas diferentes combinações dos antibióticos (CIP, MPN e CRO) e OELS para cada cepa de *A. baumannii*, sendo o efeito sinérgico para as cepas AB04 (CIP) e AB07 (MPN), aditivo para AB03 (CIP), AB04 (MPN, CRO), AB07 (CIP) e AB13 (CRO), e indiferente para AB03 (MPN, CRO), AB07 (CRO) E AB13 (MPN) conforme listado na tabela 6 a seguir.

Tabela 6 – Efeito combinatório do óleo essencial de *Lippia sidoides* com os antibióticos Ciprofloxacino (CIP), Meropenem (MPN) e Ceftriaxona (CRO) contra isolados clínicos de *Acinetobacter baumannii*.

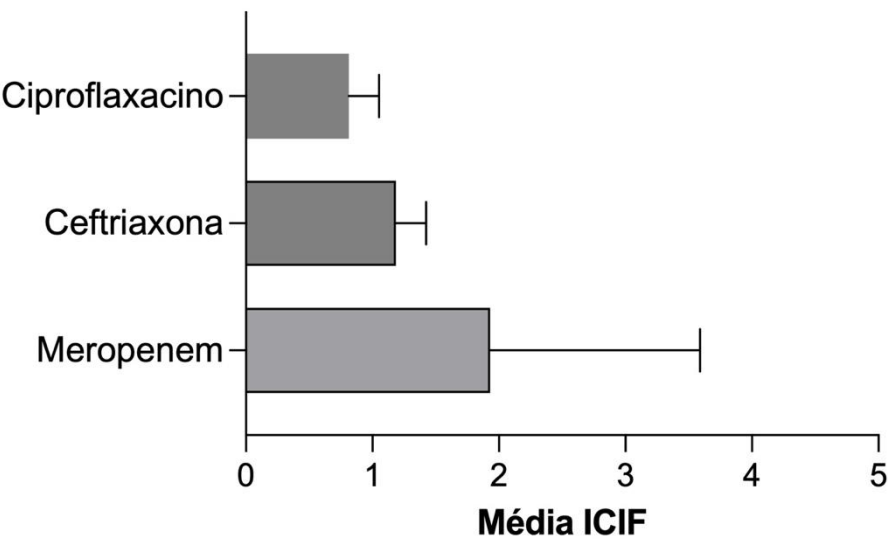
Cepa	Composto	CIM ¹ (µg/mL)		ICIF ²	Interpretação	Redução
		Individual	Combinado			
AB03	OELS	500	250	0,75	Aditivo	2x
	CIP	125	31,2			4x
	OELS	500	1,35	4	Indiferente	370x
	MPN	31,2	125			0,2x
	OELS	500	250	1,5	Indiferente	2x
	CRO	125	125			1x
AB04	OELS	500	125	0,5	Sinérgico	4x
	CIP	125	31,2			4x
	OELS	500	1,95	1	Aditivo	256x
	MPN	62,5	62,5			1x
	OELS	500	250	1	Aditivo	2x
	CRO	250	125			2x
AB07	OELS	500	7,81	1	Aditivo	4x
	CIP	7,8	7,81			1x
	OELS	500	1,95	0,25	Sinérgico	256x
	MPN	125	31,2			4x
	OELS	500	125	1,25	Indiferente	4x
	CRO	125	125			1x
AB13	OELS	500	3,90	1	Aditivo	128x
	CIP	31,25	31,2			2x

OELS	500	250	2,5	Indiferente	2x
MPN	62,5	125			0,5x
OELS	500	3,90	1	Aditivo	128x
CRO	250	250			1x

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

Os ICIFs foram comparados para indentificar possível diferença estatística entre as combinações, entretanto, após plotar os valores, observou-se que os grupos em comparação não obtiveram diferença, quando considerado $p < 0,05$ (figura 7).

Figura 7 – Comparação do Índice de Concentração Inibitória Fracionada Média (ICIFi) para o OELS em combinação com os antibióticos Ciproflaxacino, Ceftriaxona e Meropenem contra cepas de *A. baumani*.



Fonte: autoria própria (2024).

6 DISCUSSÃO

Na presente pesquisa o rendimento do OELS coletado foi de 0,97% ($\pm 0,07$). O aproveitamento apresentado pelo OELS foi maior que o obtido por Guimarães *et al.*, (2014), igual a 0,87% ($\pm 0,23$). Em seu estudo Monteiro *et al.*, (2021), encontraram rendimento médio do OELS de 13,08 g (4,36%, p/p), enquanto Gomes *et al.*, (2008), identificaram que os rendimentos das amostras do óleo essencial de *Lippia sidoides* foram de 2.93%, 2.93%, 2.80%, 3.00% e 2.80% e variam de acordo com o horário coleta, sendo o horário de 14:00h para coleta da planta o que forneceu o maior teor de óleo. No presente estudo, as folhas de *Lippia* foram coletadas as 08:00h, o que pode ser um fator influenciador no percentual de rendimento, diferindo dos demais autores.

A composição química do óleo essencial de *L. sidoides* deste estudo apresentou como constituintes majoritários o timol (76,16%), p-Cimeno (8,18%) e β -Cariofileno (5,43%). Enquanto Monteiro *et al.*, (2021), identificaram principalmente monoterpenóides oxigenados (80,3%) na composição do seu óleo, sendo os majoritários o timol (76,6%), seguido por p-cimeno (6,3%) e (E)- γ -cariofileno (5,0%), Santos *et al.* (2023), encontrou em uma concentração menor os valores de Timol (23,89%), carvacrol (21,78%) e p-cimeno (18,87%). Em um estudo feito por Texeira *et al.* (2023), os principais constituintes do óleo essencial foram carvacrol (41,51%), p-cimeno (18,36%) e γ -terpineno (17,03%). Guimarães *et al.* (2014) identificou na composição de seu óleo carvacrol (isômero do Timol, 26,44%) e o 1,8- cineol (22,63%) no óleo de *L. sidoides*, com a quantidade inferior do que a encontrada neste estudo.

Diferindo parcialmente de relatos anteriores que encontraram o timol como composto majoritário, Nonato *et al.*, (2022) identificaram P-cimeno (44,83%), timol (29,92%) e eucaliptol (8,52%) como os compostos majoritários. Outro estudo apresentou o 1,5 cineol como composto majoritário, seguido de carvacrol e p-cimeno (Ribeiro *et al.*, 2021). De maneira geral, supõe-se que o potencial biológico dos óleos essenciais está atribuído aos seus componentes majoritários. Neste contexto, os terpenóides, como o timol, demonstram atividade antibacteriana por meio do grupo funcional que atua na membrana externa das bactérias, alterando a permeabilidade e/ou fluidez das membranas, afetando suas proteínas e enzimas periplasmáticas, culminando na morte celular (Cunha *et al.*, 2018).

Diversos elementos podem influenciar o metabolismo das plantas, alterando significativamente tanto a produção quanto a composição dos componentes do óleo essencial. Entre esses fatores estão a variação sazonal, as mudanças de temperatura, o ciclo circadiano, a quantidade de luz recebida, a disponibilidade de água e nutrientes, a altitude e o ataque de

patógenos (Nazarro *et al.*, 2013). Essas variáveis podem ser responsáveis pelas diferenças observadas nos aspectos qualitativos e quantitativos dos óleos essenciais analisados nesta pesquisa em comparação com os óleos reportados em outros estudos da literatura.

Quanto aos ensaios de atividade antibacteriana, na presente pesquisa foi possível verificar inibição do crescimento por disco-difusão de cepas *A. baumannii* entre 21,67 e 33,33 mm. Velascos *et al.* (2007), observou a atividade do óleo essencial de *L. sidoides* contra *A. baumannii* multirresistente com halos de inibição variando de 29 a 31 mm e contra *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA), exibindo halos de inibição com diâmetros entre 26 e 38 mm. Já no estudo de Ribeiro *et al.* (2021), foi realizado testes com diferentes concentrações do OELS contra as cepas Gram-positivas *S. aureus* SA1199-B e Gram-negativas *A. baumannii* HUT41, obtendo maiores halos de inibição na maior concentração testada. De acordo com a concentração para *S. aureus* SA1199-B os halos variaram de 12 a 37 mm e para *A. baumannii* HUT41 de 12 a 45 mm. Em 2021, Trindade *et al.*, relatam em sua pesquisa o efeito do mesmo óleo essencial sobre a capacidade de crescimento de *P. aeruginosa*, constatando zonas de inibição bacteriana numa média de 9 e desvio padrão de $\pm 0,058$ e para *Salmonella choleraesuis* a média de 10,67 e desvio padrão de $\pm 1,25$. Já Penteado *et al.* (2021), encontrou um halo de inibição para cepas de *S. aureus* ATCC 13565 ($46,0 \pm 0,0$) e para *S. typhimurium* ATCC 13311 ($51,0 \pm 0,5$).

Segundo Souza *et al.* (2018), considera-se que os extratos de plantas possuem uma atividade antimicrobiana eficaz quando a CIM < 100 $\mu\text{g/mL}$, atividade moderada com uma CIM de 100 a 500 $\mu\text{g/mL}$, fraca atividade com uma CIM de 501 a 1000 $\mu\text{g/mL}$ e inativo com uma CIM > 1000 $\mu\text{g/mL}$. Assim, verificou-se que *A. baumannii* apresentou CIM (500 $\mu\text{g/mL}$) e CBM (500 a 2000 $\mu\text{g/mL}$) independente do perfil de resistência antibiótica. Segundo as diretrizes do CLSI (2019), um composto é considerado bactericida se a proporção entre a CBM e a CIM estiverem no intervalo de 1 a 4. Caso essa proporção exceda 4, é classificado como bacteriostático, significando que ele é capaz de reduzir o número de bactérias, mas não de induzir a morte celular. Dentro dessas definições, o OELS teve ação bactericida para todas as cepas testadas, pois as relações CBM/CIM foram de 1 para *A. baumannii* (AB03 e AB07), 2 para *A. baumannii* (AB13) e 4 para *A. baumannii* (AB04). Isso ocorre pelo fato que os OEs possuem compostos ativos que são capazes de penetrar na estrutura lipídica da parede celular da bactéria, ocasionando a desnaturação das proteínas e na ruptura da membrana celular, levando ao extravasamento do citoplasma, lise celular e consequentemente, à morte bacteriana (Rocha *et al.*, 2013).

Com um maior valor de CIM do que o descrito neste estudo, Quiguanás-Guarín, *et al.* (2021), encontrou resultados de CIM de 1.808 µg/mL semelhante para cepas de *Acinetobacter spp.* ATCC 49139, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13882 e CIM de 5.424 µg/mL para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 com óleo essencial de *L. origanoides* (sinonímia de *L. sidoides*). Já Pinheiro (2021), encontrou CIM (312 a 625 µg/mL) e CBM (312 a 1250 µg/mL) do OELS frente a isolados de *E. coli* e CIM (312 a 2500 µg/mL) e CBM (312 a 2500 µg/mL) para isolados de *K. pneumoniae*. Em se tratando do óleo essencial da espécie *Lippia*, Bandeira *et al.* (2014), revelaram que este possui uma ação antimicrobiana mais potente contra bactérias gram-positivas, incluindo *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Micrococcus flavus*. Velascos *et al.* (2007), estudou a forte atividade antibacteriana do óleo essencial de *L. sidoides* contra vinte e três cepas de *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA), exibindo valores de CIM entre 20 e 40 µg/mL e contra cinco cepas de *A. baumannii* com valores de CIM de 20 µg/mL.

Além de seus efeitos isolados, os óleos essenciais podem exibir um efeito sinérgico quando combinados entre si ou com antibióticos (Orchard *et al.*, 2017; Lee; Leung; Wong, 2014). Nesta pesquisa foram obtidos resultados sinérgicos para as cepas AB04 (CIP) e AB07 (MPN), aditivo para AB03 (CIP), AB04 (MPN, CRO), AB07 (CIP) e AB13 (CRO), e indiferente para AB03 (MPN, CRO), AB07 (CRO) E AB13 (MPN). Em 2006, Oliveira *et al.* relataram que na maioria das interações das cepas Gram-negativas (*E. coli*), o OELS apresentou efeito sinérgico ou indiferente à atividade dos antibióticos (ampicilina, cefalotina, cloranfenicol, gentamicina e tetraciclina). A combinação do óleo essencial de *L. origanoides* com antibióticos aminoglicosídeos apresentou efeitos sinérgicos, resultando em uma redução de 10 vezes na CIM para a neomicina e a amicacina contra uma cepa de *S. aureus* MRSA (Barreto *et al.*, 2014).

Os resultados do *checkerboard* no estudo de Correia (2018) mostrou que a combinação da OELS com eritromicina diminuiu a CIM do antibiótico de 62,5 µg/mL para 15,6 µg/mL frente a cepa de *S. aureus* de isolados clínicos multirresistentes e ainda conseguiu reduzir a CIM do antibiótico para 1,95 µg/mL frente a outras cepas de *S. aureus*. Apesar da redução na CIM, a combinação de tratamentos não altera a resistência do *S. aureus*, já que, conforme estabelecido pelo CLSI em 2019, apenas CIM inferiores a 0,5 µg/mL para esse microrganismo indicam sensibilidade à eritromicina.

Além da reconhecida relevância e dos efeitos sinérgicos já estabelecidos, alguns autores corroboram a noção de que combinações que resultam em aditividade também podem ser igualmente eficazes. Isso se deve à sua capacidade semelhante de causar danos à membrana

(Yang *et al.*, 2017; Melo *et al.*, 2019). Nesta pesquisa verificou-se tanto o efeito sinérgico, aditivo como indiferente nas combinações do OELS e os antibióticos (CIP, MPN, CRO), chegando a apresentar em uma das combinações uma redução de 370x na concentração de OELS. Pesquisas mais recentes destacam que a redução da virulência surge como uma abordagem promissora no enfrentamento de infecções bacterianas prejudiciais (Dong *et al.*, 2020).

7 CONCLUSÃO

O óleo essencial (OE) extraído de folhas frescas de *L. sidoides*, colhidas no Ceará, Brasil, mostrou eficácia antibacteriana contra cepas de *A. baumannii* resistentes a múltiplas drogas. Foi também observada a interação sinérgica entre OELS e os fármacos CIP, MPN, quando testados as *A. baumannii* AB04 e AB07, respectivamente; aditiva para a combinação com CIP (AB03, AB07, AB13), MPN (AB04), CRO (AB04, AB13), e indiferente para MPN e CRO (AB03), CRO (AB07) e MPN (AB13). Com base nos resultados alcançados, faz-se necessário a realização de mais pesquisas que possam confirmar com o potencial biotecnológico do OELS. Até o momento, nossos dados apontam para o OELS como uma alternativa promissora no tratamento e prevenção de doenças infecciosas.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography, mass spectroscopy**. Gruver, TX USA: Texensis Publishing: ed. 4.1, 30 Jan. 2017. ISBN 978-1-932633-21-4. Acesso em: 20 de jan. de 2024.
- ALMEIDA, RR. **Mecanismos de ação dos monoterpenos aromáticos: timol e carvacrol**. Monografia de TCC – Química – Bacharelado – UFSJ; São João del-Rei: Universidade Federal de São João del-Rei, 01-26, 2015. *Disponível* em: https://www.ufsj.edu.br/portal2-repositorio/File/coqui/TCC/Monografia-TCC-Regiamara_R_Almeida-20151.pdf. Acesso em: 20 de jan. de 2024.
- ANDRADE, L.N; DARINI, A.L.C. **Mecanismos de resistência bacteriana aos antibióticos**. Curso Básico de Antimicrobianos Divisão de MI – CM – FMRP-USP. São Paulo, 2020. Acesso em: 20 de jan. de 2024.
- BANDEIRA, M. G. L., OLIVEIRA FILHO, R. D., PAIVA, W. D. S., ABRANTES, M. R., SILVA, J. B. A. D., & DAMACENO, M. N. Perfil de sensibilidade de *Staphylococcus* spp. a frações protéicas extraídas de *Erva Cidreira* (*Lippia alba* (Mill.) NE Brown). **Blucher Food Science Proceedings**, São Paulo, v. 1, n. 1, p. 21-22, 2014. *Disponível* em: <https://www.proceedings.blucher.com.br/article-details/perfil-de-sensibilidade-de-staphylococcus-spp-a-fraes-proteicas-extradadas-de-erva-cidreira-lippia-alba-mill-ne-brown-11570>. Acesso em; 20 de jan. 2024.
- BAPTISTA, Anderson Barbosa. As bactérias multirresistentes hospitalares e as plantas medicinais. **DESAFIOS-Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins**, Tocantins, v. 4, n. 4, p. 1-2, 2017. *Disponível* em: <https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/desafios/article/view/5030>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.
- BAPTISTA, M. G. F. M. (2013). **Mecanismos de Resistência aos Antibióticos**.,monografia (Dissertação de Mestrado) Curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, Lisboa, 2013. *Disponível* em: <https://recil.ensinolusofona.pt/handle/10437/3264>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.
- BEIJERINCK M. Pigmenten als oxydatieproducten gevormd door bacterien. **Vers Konin Akad Wet Ams**. Amsterdam, v. 19, p. 1092–1103, 1911. Acesso em: 20 de jan. de 2024.
- BIZERRA, Valéria Santos. **Antimicrobial Stewardship Program: Diagnóstico e impacto da implantação na Unidade de Terapia Intensiva em Hospital do Sistema Único de Saúde**. 2020. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. Pernambuco, *Disponível* em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/37630>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.
- BLAIR, J. M., WEBBER, M. A., BAYLAY, A. J., OGBOLU, D. O., & PIDDOCK, L. J. Molecular Mechanisms of Antibiotic Resistance. **Nature**. Nova Iorque, v. 13, p. 42-51, 2015. *Disponível* em:https://idp.nature.com/authorize/casa?redirect_uri=https://www.nature.com/articles/nrmicro3380&casa_token=YSQKhMKQD-

8AAAAA:NEsIMuVPjlyVailL25Qd749h8JedXPcGYv3fPN5qDOMfQtw4lc6KM_r2EL10TU_ST4fQxEotSRUFas7Kj-g. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

BOUYAHYA, A., ABRINI, J., DAKKA, N., & BAKRI, Y. Essential oils of *Origanum compactum* increase membrane permeability, disturb cell membrane integrity, and suppress quorum-sensing phenotype in bacteria. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, China, v. 9, n. 5, p. 301-311, 2019. *Disponível em:* <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095177918305008>.

BRASIL, ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Gerência de Vigilância e Monitoramento em Serviços de Saúde, Gerência Geral de Tecnologia em Serviços de Saúde. **Critérios diagnósticos de infecção relacionada à Assistência à Saúde – Neonatologia**. Brasília, DF. 2017. Acesso em: 20 de jan. de 2024. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

BRASIL. ANVISA - **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 10 – Detecção dos Principais Mecanismos de Resistência Bacteriana aos Antimicrobianos pelo Laboratório de Microbiologia Clínica/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília, DF, 2020.

BRASIL. **Lista Nacional de Plantas Medicinais de interesse para o Sistema Único de Saúde (RENISUS)**. Diário Oficial da União, Brasília, DF 2009. *Disponível em:* <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sectics/pnpmf/ppnmpf/renisus>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Informações Sistematizadas da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS : *Lippia sidoides* Cham., Verbenaceae (Alecrim-pimenta) / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. – Brasília, DF, 2018. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

BRITO, I. L. P. **Diversidade genômica de isolados nosocomiais de *Acinetobacter baumannii* multirresistentes produtores de carbapenemases em hospitais de ensino do Ceará**. Dissertação. Mestrado em Ciências da Saúde. Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2018. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

CHUANG, Y. C.; SHENG, W. H.; LAUDERDALE, T. L.; LI, S. Y.; WANG, J. T.; CHEN, Y. C.; CHANG, S. C. Epidemiologia molecular, susceptibilidade antimicrobiana e determinantes da resistência à carbapenemase entre isolados clínicos de *Acinetobacter baumannii* em Taiwan. **Journal Microbiol Immunol Infect**, Taiwan, v. 47, n. 4, p. 324- 332, 2014. *Disponível em:* <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/56261>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

CLSI - CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. M100. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 29. ed. Wayne, PA: CLSI, 2019. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

CORREIA, A. J. C. **Contribuição do conhecimento popular para a descoberta de novos antimicrobianos**. Dissertação. Doutorado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal

do Pernambuco, Recife, 2018. *Disponível em:*
<https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/32039>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

COSTA, A.L.P.D, JUNIOR, A.C.S. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica: (UNIFAP)**. v. 7, n. 2, p. 45-57, Macapá, 2017. *Disponível em:* <https://periodicos.unifap.br/index.php/estacao/article/view/2555/0>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

CUNHA, J. A.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. The effects of essential oils and their major compounds on fish bacterial pathogens—a review. **Journal of applied microbiology**, Reino Unido, v. 125, n. 2, p. 328-344, 2018. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

CUNHA, J. P. N. **Avanços na terapia antimicrobiana em infecções causadas pela espécie *Acinetobacter baumannii***. Monografia de especialização em Microbiologia. Universidade Federal de Minas Gerais, MG. 2019. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

DE MELO, J. O., BLANK, A. F., DE SOUZA NUNES, R., ALVES, P. B., DE FÁTIMA ARRIGONI-BLANK, M., GAGLIARDI, P. R.; DE CASTRO NIZIO, D. A. Essential oils of *Lippia gracilis* and *Lippia sidoides* chemotypes and their major compounds carvacrol and thymol: nanoemulsions and antifungal activity against *Lasiodiplodia theobromae*. **Research, Society and Development**, Itabira, v. 11, n. 3, p. e36511326715-e36511326715, 2022. *Disponível em:* <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/26715>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

DE MORAIS, S., OLIVEIRA, T., DE OLIVEIRA, L., TRESVENZOL, L., DA CONCEIÇÃO, E., REZENDE, M., FIUZA, T. DE S., ET AL. Essential oil composition, antimicrobial and pharmacological activities of *Lippia sidoides* cham. (verbanaceae) from São Gonçalo do Abaeté, Minas Gerais, Brazil. **Pharmacognosy Magazine**. v. 12, n. 48, p. 262–270. 2016. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

DE SOUZA, A. M., DE OLIVEIRA, C. F., DE OLIVEIRA, V. B., BETIM, F. C. M., MIGUEL, O. G., & MIGUEL, M. D. Traditional uses, Phytochemistry, and antimicrobial activities of *Eugenia* species—a review. **Planta medica**, Alemanha, v. 84, n. 17, p. 1232-1248, 2018. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

DONG, J., ZHANG, L., LIU, Y., XU, N., ZHOU, S., YANG, Q., AI, X. Thymol protects channel catfish from *Aeromonas hydrophila* infection by inhibiting aerolysin expression and biofilm formation. **Microorganisms**, Suíça, v. 8, n. 5, p. 636, 2020. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

EL-GUENDOZ, S., AAZZA, S., LYOUSSE, B., BANKOVA, V., POPOVA, M., NETO, L., MIGUEL, M. D. G. Moroccan propolis: A natural antioxidant, antibacterial, and antibiofilm against *Staphylococcus aureus* with no induction of resistance after continuous exposure. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**., Portugal, v. 2018, n. 1, p. 1 - 19, jul./nov. 2018. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

FARIAS, E. M. F. G., XIMENES, R. M., MAGALHÃES, L. P. M., DE ANDRADE CHIAPPETA, A., DE ALBUQUERQUE, J. F. C. Antifungal activity of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) against clinical isolates of *Candida* species. **Journal Herb. Med.** Irã, v. 2, p. 63–67. 2012. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

FREIRES, M. S.; RODRIGUES JUNIOR, O. M. Resistência bacteriana pelo uso indiscriminado da azitromicina frente a Covid-19: uma revisão integrativa. **Research, Society and Development**, Itabira, v. 11, n. 1, p. e31611125035, 2022. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

FRIERI, M.; KUMAR, K.; BOUTIN, A. Antibiotic resistance. **Journal of Infection and Public Health**, United State, v. 10, n. 4, p. 369-378, mai./ago. 2017. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

FURTADO, D.M.F.; SILVEIRA, V.S; CARNEIRO, I.C.R.S.; FURTADO, D.M.F.; KILISHEK, M.P. Consumo de antimicrobianos e o impacto na resistência bacteriana em um hospital público do estado do Pará, Brasil, de 2012 a 2016. **Revista Pan Amaz Saude**. 2019. Pará, v.10; e201900041. 2019. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

GALLAGHER, P.; BAKER, S. Desenvolvendo novas abordagens terapêuticas para o tratamento de infecções causadas por *Acinetobacter baumannii* multirresistente: terapêutica de *Acinetobacter baumannii*. **Journal Infectar**. v. 81, p. 857–861. 2020. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

GALLEGO G.M, et al. Resistência bacteriana a múltiplas drogas: desafio terapêutico no transplante de rim. **Revista Universidad Y Salud**. Colômbia, v.1, p. 72-87. 2018. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

GANJEWALA, D. Cymbopogon essential oils: Chemical compositions and bioactivities. **International journal of essential oil therapeutics**, França, v. 3, n. 2-3, p. 56-65, 2009. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Deepak-Ganjewala/publication/236108921_Cymbopogon_essential_oils_Chemical_compositions_and_bioactivities/links/0c9605160085744047000000/Cymbopogon-essential-oils-Chemical-compositions-and-bioactivities.pdf.

GONZÁLEZ MENDOZA J, MAGUIÑA VARGAS C, GONZÁLEZ PONCE FM. Resistência aos antibióticos: um problema muito sério. **Registo médico Peru** 2019; Peru, 36(2): 145-51. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

GUIMARÃES, L. G. de L.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, R. M.; ZACARONI, A. B., SANTOS, G. R. Óleo essencial de *Lippia sidoides* nativas de Minas Gerais: Composição, estruturas secretoras e atividade antibacteriana. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 2, p. 267-275, abr-jun, 2014 Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

HEFFERNAN, A. J., SIME, F. B., LIM, S. M. S., ADIRAJU, S., WALLIS, S. C., LIPMAN, J., ROBERTS, J. A Pharmacodynamics of ceftriaxone for the treatment of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*: is it a viable treatment option?. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v. 59, n. 3, p. 106537, 2022. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924857922000279?casa_token=918LQ1H4PyEAAAAA:lpwLm2yF4M3IJq1DGejtJu5J4ioseTz77JIL3ZNeU_tyiSN-YVCUO4JS9VvHDcs-vuuQIRgxYhV.

HOOPER, David C.; JACOBY, George A. Topoisomerase inhibitors: fluoroquinolone mechanisms of action and resistance. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, Nova Iorque, v. 6, n. 9, 2016. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

JUBAIR, N., RAJAGOPAL, M., CHINNAPPAN, S., ABDULLAH, N. B., FATIMA, A. Review on the antibacterial mechanism of plant-derived compounds against multidrug-resistant bacteria (MDR). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, EUA, v. 2021, 2021. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2021/3663315/>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

KARAM, G; CHASTRE, J; WILCOX, M.H; VINCENT, J.L. Antibiotic strategies in the era of multidrug resistance. **Crit Care**. Brasil, v. 20, n. 1, p.136. 2016. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

KIM, M. K.; KANG, H.K.; KO, S.J.; HONG, M.J.; BANG, J.K.; SEO, C.H.; PARK, Y. Mechanisms driving the antibacterial and antibiofilm properties of Hp1404 and its analogue peptides against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. **Scientific Reports.**, Coreia, v. 8, n.1763, p. 1-16, jul./jan. 2018. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

KUZEY, Camila de Abreu. **ÓLEOS ESSENCIAIS: aspectos gerais e potencialidades**. TCC (Graduação) – Curso de Tecnologia e Gestão do Agronegócio, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Farroupilha – Campus Santo Ângelo., Santo Ângelo, 2021. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

LEE, R. L. P.; LEUNG, P. H. M.; WONG, T. K. S. A randomized controlled trial of topical tea tree preparation for MRSA colonized wounds. **International Journal of Nursing Sciences.**, Hong Kong, v. 1, n. 1, p. 7–14, jan./mar. 2014. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

LEWIS, R. E., DIEKEMA, D. J., MESSER, S. A., PFALLER, M. A., & KLEPSE, M. E. Comparison of Etest, checkerboard dilution and time–kill studies for the detection of synergy or antagonism between antifungal agents tested against *Candida* species. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy.**, Houston, v. 49, n.2, p. 345-351, fev. 2002. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

LI, R., FANG, L., TAN, S., YU, M., LI, X., HE, S., WU, M. Type I CRISPR-Cas targets endogenous genes and regulates virulence to evade mammalian host immunity. **Cell research**, Xangai, v. 26, n. 12, p. 1273-1287, 2016. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

LI, T., WANG, Z., GUO, J., DE LA FUENTE-NUNEZ, C., WANG, J., HAN, B., WANG, X. Bacterial resistance to antibacterial agents: mechanisms, control strategies, and implications for global health. **Science of The Total Environment**, Amsterdam, v. 860, p. 160461, 2023. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969722075635?casa_token=g1WdQKK_xXsAAAAA:-Vu8hEmCiFk34v94ItWvd-VuqsRxU6vdIh2mS7uXCq5czqWFMuF_R6NtHROJTI5wDY7rvzOC905. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

MAGIORAKOS, A. P., SRINIVASAN, A., CAREY, R. B., CARMELI, Y., FALAGAS, M. E., GISKE, C. G., MONNET, D. L. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for

acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection**. Amsterdam, v. 18, n. 3, p.268–81. 2012. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

MANCUSO, G., MIDIRI, A., GERACE, E., BIONDO, C. Bacterial antibiotic resistance: The most critical pathogens. **Pathogens**, Suíça, v. 10, n. 10, p. 1310, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-0817/10/10/1310>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

MARTÍN-ASPAS, A., GUERRERO-SÁNCHEZ, F. M., GARCÍA-COLCHERO, F., RODRÍGUEZ-ROCA, S., AND GIRÓN-GONZÁLEZ, J.-A. Differential characteristics of *Acinetobacter baumannii* colonization and infection: risk factors, clinical picture, and mortality. **Inf. Drug Resist.** Reino Unido, v.11, p. 861–872. 2018. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

MARTINS AF, KUCHENBECKER RS, PILGER KO, PAGANO M, BARTH AL. High endemic levels of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* among hospitals in southern Brazil. **American Journal of Infection Control**. Amsterdam, v. 40, n.2, p. 108–112. 2012. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

MARTINS, A.F.; BARTH, A.L. *Acinetobacter* spp. multirresistente –um desafio para a saúde pública. **Scientia Medica**, v. 23, n. 1, p. 56-62, 2013. Acesso em: 20 de jan. de 2024.
MCEWEN SA & COLLIGNON PJ. Antimicrobial Resistance: A One Health Perspective. **Microbiol Spectr**. Washington, v. 6, n. 2, p. ARBA-0009. 2017. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

MEDEIROS BARRETO, H., CERQUEIRA FONTINELE, F., PEREIRA DE OLIVEIRA, A., ARCANJO, D. D. R., CAVALCANTI DOS SANTOS, B. H., DE ABREU, A. P. L., DANTAS LOPES, J. A. Phytochemical prospection and modulation of antibiotic activity in vitro by *Lippia origanoides* HBK in methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. **BioMed Research International**, Reino Unido, v. 2014, 2014. Disponível: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/305610/abs/>. Acesso em: 20 de jan. 2024.

MELO, R. S., ALBUQUERQUE AZEVEDO, Á. M., GOMES PEREIRA, A. M., ROCHA, R. R., BASTOS CAVALCANTE, R. M., CARNEIRO MATOS, M. N., CARNEIRO, V. A. Chemical composition and antimicrobial effectiveness of *Ocimum gratissimum* L. essential oil against multidrug-resistant isolates of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Molecules**, Suíça, v. 24, n. 21, p. 3864, 2019. Acesso em: 20 de jan. de 2024. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

MONTEIRO, M. V. B., LEITE, A. K. R. M., BERTINI, L. M., MORAIS, S. M.; NUNES-PINHEIRO, D. C. S. Topical anti-inflammatory, gastroprotective and antioxidant effects of the essential oil of *Lippia sidoides* Cham. Leaves. **Journal Ethnopharmacol**. Irlanda, v. 111, p. 378–382. 2007. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

NAZZARO, F.; FRATIANNI, F.; DE MARTINO, L.; COPPOLA, R.; DE FEO, V. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. **Pharmaceuticals (Basel)**. 2013, Suíça, Nov 25;6(12):1451-74. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

NELSON, R. E., HATFIELD, K. M., WOLFORD, H., SAMORE, M. H., SCOTT, R. D., REDDY, S. C., BAGGS, J. National estimates of healthcare costs associated with multidrug-resistant bacterial infections among hospitalized patients in the United States. **Clinical**

Infectious Diseases, Reino Unido, v. 72, n. Supplement_1, p. S17-S26, 2021. *Disponível em:* https://academic.oup.com/cid/article-abstract/72/Supplement_1/S17/6123350.

NIKAIDO, H., PAGÈS, J. M. Broad specificity efflux pumps and their role in multidrug resistance of Gram-negative bacteria. **Fems Microbiology Reviews**. Reino Unido, v.36, n.2, p.340-63, 2012.

NOGUEIRA, H. S., DE OLIVEIRA XAVIER, A. R. E., DE SOUSA XAVIER, M. A., CARVALHO, A. A., MONÇÃO, G. A., & BARRETO, N. A. P. Antibacterianos: principais classes, mecanismos de ação e resistência. **Revista unimontes científica**, Minas Gerais, v. 18, n. 2, p. 96-108, 2016. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

OLIVEIRA, F. P. D., LIMA, E. D. O., SIQUEIRA JÚNIOR, J. P. D., SOUZA, E. L. D., SANTOS, B. H. C., BARRETO, H. M. Effectiveness of *Lippia sidoides* Cham (Verbenaceae) essential oil in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical material. **Review Brazilian Farmacognosy**, Paraíba, v.16, n.4, p.510-6, 2006. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

OPAS, Organização Pan-Americana da Saúde. Centro Latino-Americano de Perinatologia, Saúde da Mulher e Reprodutiva. **Prevenção de infecções relacionadas à assistência à saúde em neonatologia**. Montevideu, UY. 2016. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

ORCHARD, A., VAN VUUREN, S. Commercial essential oils as potential antimicrobials to treat skin diseases. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, Egito, v. 2017, 2017. *Disponível em:* <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2017/4517971/>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

Organização Mundial da Saúde. **OMS** 2017. *Disponível em:* <https://www.who.int/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-areurgently-needed>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

PAUL, S., DUBEY, R. C., MAHESWARI, D. K., & KANG, S. C. *Trachyspermum ammi* (L.) fruit essential oil influencing on membrane permeability and surface characteristics in inhibiting food-borne pathogens. **Food Control**, Amsterdam, v. 22, n. 5, p. 725-731, 2011. *Disponível em:* https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713510003592?casa_token=G2PosdkOFRMAAAA:IkRzTzowyHRJqZl-O3tIEh3LLKQWoqTRq2D0oOiFGoEPz3HnABXWc2HiP1VLVMFJm7KLjL2MrCeE.

PENIDO, Claudio. Carbapenêmicos (beta-lactâmicos). Universidade de São Paulo, USP. 2019. *Disponível em:* https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4496201/mod_folder/content/0/6.%20Carbapen%C3%AAmicos.pdf. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

PENTEADO, A. L., ESCHIONATO, R. A., DE SOUZA, D. R. C., QUEIROZ, S. D. N. Avaliação in vitro de atividade antimicrobiana de óleos essenciais contra *Salmonella typhimurium* e *Staphylococcus aureus*. **Revista Higiene Alimentar**. Jaguariuna, v. 35, n. 293. 2021. *Disponível em:* <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1137345>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

PINHEIRO, L. G., DOS SANTOS FONTENELLE, R. O., RODRIGUES, T. H. S., PINTO, V. D. P. T., BARBOSA, F. C. B. 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/26715>.

QUIGUANÁS-GUARÍN, E. S., AGUDELO, J. P. B., LÓPEZ-CARVAJAL, J. E., TABARES, Y. A. R., SANABRIA, L. P., CASTAÑO-OSORIO, J. C. In vitro antimicrobial and cytotoxic activity of *Lippia origanoides* essential oil against bacteria of potential health concern. **bioRxiv**, Nova Iorque, p. 2021.09. 02.458771, 2021. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.09.02.458771.abstract>. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

RAMIREZ, M. S.; BONOMO, R. A.; TOLMASKY, M. E. Carbapenemases: Transforming *Acinetobacter baumannii* into a Yet More Dangerous Menace. **Biomolecules**, Suíça, v. 10, n. 5, p. 720, 6 maio 2020. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

RIBEIRO, F. P., SANTANA DE OLIVEIRA, M., DE OLIVEIRA FEITOSA, A., SANTANA BARBOSA MARINHO, P., MOACIR DO ROSARIO MARINHO, A., DE AGUIAR ANDRADE, E. H., FAVACHO RIBEIRO, A. Chemical Composition and Antibacterial Activity of the *Lippia origanoides* Kunth Essential Oil from the *Carajás National Forest*, Brazil. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, Nova Jersey, EUA, v. 2021, 2021. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

ROCHA, A. J.; BARSOTTINI, M. R. de O.; ROCHA, R. R.; LAURINDO, M. V.; MORAES, F. L. L.; ROCHA, S. L. *Pseudomonas Aeruginosa*: Virulence Factors and Antibiotic Resistance Genes. **Brazilian Archives of Biology and Technology**., Sobral, v. 62, n. 19180503, p. 1-15, set./mai. 2019. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

ROCHA, M.; FERREIRA, F. a; SOUZA, M. M.; PRENTICE, C. Antimicrobial films- a review. Microbial Pathogens and Strategies for Combating them: **Science, Technology and Education**, Nigéria, p. 23–31, 2013. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

ROOS, V. C. **Atividade antifúngica, antibiofilme e antioxidante do óleo essencial de *Citrus deliciosa* Tenore**. Dissertação. Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Santa Maria, RS. 2020. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

ROSA, L. N., DE CASTRO, A. P., DE LIMA, W. G., SIMIÃO, D. C., DE PAIVA, M. C. Pneumonia associada à ventilação mecânica por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a polimixina: Uma revisão sistemática. **Research, Society and Development**, São Paulo, v. 10, n. 13, p. e555101321480-e555101321480, 2021. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

RYU S; KIM BI; LIM JS; TAN CS; CHUN BC. One Health Perspectives on Emerging Public Health Threats. **Journal Prev Med Public Health**. Seul, Coreia do Sul, v. 50; p. 411-414. 2017. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

SANTOS, G. J. V. A.; COMARELLA, L. O uso indiscriminado de antibióticos e as resistências bacterianas. **Saúde e Desenvolvimento**, Curitiba, v.10, n.18, p.78-87, 2021. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

SANTOS, L.A.D. **Biodiversidade bacteriana resistente aos carbapenêmicos em amostras clínicas na Amazônia sul ocidental**. 2023. Dissertação (Mestrado em Conservação e Uso de Recursos Naturais) - Fundação Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, 2023. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

SANTOS, V.D. Plantas medicinais. **Mundo Educação**. São Paulo, 2022. *Disponível em*: <<https://mundoeducacao.uol.com.br/saude-bem-estar/plantas-medicinais.htm>>. Acessado em: 26 set. de 2023. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

SCARCELLA, A.C. DE A; SCARCELLA A.S DE A; BERETTA, A.L.R.Z. Infection related to health assistance associated to *Acinetobacter baumannii*: literature review. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. Rio de Janeiro, v.49, n.1. 2017. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

SHIN, B.; PARK, W. Antibiotic resistance of pathogenic *Acinetobacter* species and emerging combination therapy. **Journal of Microbiology**, Seul, Coreia do Sul, v. 55, n. 11, p. 837–849, 2017. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

SILVA, B.R.; BATISTA, F. L.; BASTOS, F. M. O uso indiscriminado de antibacterianos para o desenvolvimento de microrganismos resistentes. **SAÚDE & CIÊNCIA EM AÇÃO – Revista Acadêmica do Instituto de Ciências da Saúde**. Goiás, v. 8, n 01, p. 45-55, 2022. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

SILVA, E. C. M.; OLIVEIRA, E. Infecção em unidade de terapia intensiva: a auditoria hospitalar na prevenção e controle. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**. São Paulo, v. 1, n. 5, p. 58-74. 2019. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

SOUZA, Z. N. DE, BARROS, B. R. DA S., SILVA, K. S. DA, SILVA, R. S. DA, & MELO, C. M. L. DE. Plantas Medicinais Utilizadas No Nordeste Do Brasil: Uma Revisão De Literatura. **Ciências Da Saúde E Suas Contribuições Sociais**. Brasília, DF, p. 115–132. 2020. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

STEFFENS, N. A., ZIMMERMANN, E. S., NICHELLE, S. M., & BRUCKER, N. Meropenem use and therapeutic drug monitoring in clinical practice: a literature review. **Journal of clinical pharmacy and therapeutics**, Nova Jersey, EUA, v. 46, n. 3, p. 610-621, 2021. *Disponível em*: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jcpt.13369>.

TEIXEIRA, M. L., CARDOSO, M. D. G., FERREIRA, V. R. F., CAMPOLINA, G. A., CAETANO, A. R. S., OLIVEIRA, C. D., NELSON, D. L. Evaluation of the antioxidant activity of the essential oils from *Cantinoa carpinifolia* (Benth.) and *Lippia origanoides* (Kunth.) by various methods. **Journal of Essential Oil Research**, Reino Unido, v. 35, n. 2, p. 143-153, 2023. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

TRINDADE, S. C., PEREIRA-FILHO, J. N., BARRETO NETO, L. O., MOURA, T. B. D. O., FARIAS, A. P. F. D., ROCHA FILHO, J. T. R., LUCCHESI, A. M. Antimicrobial

activity of methanol extracts from different species of the genus *Lippia*. 2021. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, D.J. A generalization of the relation index system including liner temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, USA, v.11, n. 1, p.463-7, dez. 1963. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

VANEGAS, M.J.M., JIMÉNEZ, Q.J.N. Resistência antimicrobiana no século XXI: rumo a uma era pós-antibiótica? **Revista. Fac. Nac. Saúde Pública**. São Paulo, v.38, n.1, p.e337759-e65, 2020. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

VASCONCELOS, B. M., PEREIRA, A. M. G., COELHO, P. A. T., CAVALCANTE, R. M. B., CARNEIRO-TORRES, D. S., BANDEIRA, P. N., CARNEIRO, V. A. Enhancement of chlorhexidine activity against planktonic and biofilm forms of oral streptococci by two *Croton* spp. essential oils from the caatinga biome. **Biofouling**, Reino Unido, 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:cfOKDNoPW9UPl-u2XWVncT_At8_E-CK5Fi_28tz5yx1OOGcSqGlCxW1aslZLevN6UuTXQEkcjV60eLBHEA. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

VÁZQUEZ-LÓPEZ, R., SOLANO-GÁLVEZ, S. G., JUÁREZ VIGNON-WHALEY, J. J., ABELLO VAAMONDE, J. A., PADRÓ ALONZO, L. A., RIVERA RESÉNDIZ, A., ... & BARRIENTOS FORTES, T. *Acinetobacter baumannii* Resistance: A Real Challenge for Clinicians. **Antibiotics**, Suíça, v. 9, n. 4, p. 205, 23 abr. 2020. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

VERAS, H. L. H. ET AL. Synergistic antibiotic activity of volatile compounds from the essential oil of *Lippia sidoides* and thymol. **Fitoterapia**. Amsterdam, v83, p. 508–512. 2012. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

VELASCO, J., ROJAS, J., SALAZAR, P., RODRÍGUEZ, M., DÍAZ, T., MORALES, A., & RONDÓN, M. Antibacterial activity of the essential oil of *Lippia oreganoides* against multiresistant bacterial strains of nosocomial origin. **Natural product communications**, Ohio, EUA, v. 2, n. 1, p. 1934578X0700200117, 2007.

VIEIRA, A.J.; BESERRA, F. P.; SOUZA, M.C; TOTTI, B.M; ROZZA, A. Limonene: Aroma of innovation in health and disease. **ChemBiolInteract**, Amsterdam, v.283, p.97- 106. 2018. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

VIEIRA, P.B.; PICOLI, S.U. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: Clinical and Epidemiological Aspects. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 151- 156, 2015. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance**. Genebra, 2014. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

WOJTUNIK-KULESZA, Karolina A. Toxicity of selected monoterpenes and essential oils rich in these compounds. **Molecules**, Suíça, v. 27, n. 5, p. 1716, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/5/1716>.

YANG, S. K., YUSOFF, K., MAI, C. W., LIM, W. M., YAP, W. S., LIM, S. H. E., LAI, K. S. Additivity vs synergism: investigation of the additive interaction of Cinnamon Bark oil and meropenem in combinatory therapy. **Molecules.**, Malaysia, v. 22, n. 1733, p. 1-14, ago./nov. 2017. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

YINA, S., JIANG, B., HUANG, G., ZHANG, Y., YOU, B., CHEN, Y., PENG, Y. The Interaction of N-Acetylcysteine and Serum Transferrin Promotes Bacterial Biofilm Formation. **Cellular Physiology and Biochemistry.**, China, v. 4, n. 5, p. 1399-1409, jan./fev. 2018. Acesso em: 20 de jan. de 2024.

YU, S., WANG, S., ZOU, P., CHAI, G., LIN, Y. W., VELKOV, T., ZHOU, Q. T. Inhalable liposomal powder formulations for co-delivery of synergistic ciprofloxacin and colistin against multi-drug resistant gram-negative lung infections. **International journal of pharmaceutics**, Amsterdam, v. 575, p. 118915, 2020.

ANEXO A: EXSICATA (N° HUVA 26502) *Lippia sidoides*

**ANEXO B: CROMATOGRAMA E TABELA DE CONSTITUINTES SECUNDÁRIOS
DO OELS**

