



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE TRANSLACIONAL

EDUARDO ALVES CAMÊLO

Avaliação do efeito sinérgico da β -lapachona em associação com antibióticos convencionais frente a cepas de *Acinetobacter baumannii* multidroga resistentes

Recife

2024

EDUARDO ALVES CAMÊLO

Avaliação do efeito sinérgico da β -lapachona em associação com antibióticos convencionais frente a cepas de *Acinetobacter baumannii* multidroga resistentes

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Translacional, Centro de Ciências da Saúde, como parte dos requisitos parciais para obtenção do título de Mestre em Saúde Translacional.

Área de concentração: Saúde humana e Tecnologias integrativas.

Orientadora: Profa. Dra. Eulália Camelo Pessoa de Azevedo Ximenes

Recife

2024

Catálogo na fonte:
Bibliotecário: Elaine Freitas, CRB4:1790

C181a Camêlo, Eduardo Alves
Avaliação do efeito sinérgico da β -lapachona em associação com antibióticos convencionais frente a cepas de *Acinetobacter baumannii* multidroga resistentes / Eduardo Alves Camêlo. – 2024.
91 p. : il.

Orientadora: Eulália Camelo Pessoa de Azevedo Ximenes.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Médicas. Programa de Pós-graduação em Saúde Translacional. Recife, 2024.

Inclui referências e apêndices.

1. Naftoquinonas. 2. Efeito sinérgico. 3. *Acinetobacter baumannii*.
4. Produtor de carbapenemases. I. Ximenes, Eulália Camelo Pessoa de Azevedo (orientadora). II. Título.

614 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2024 - 169)

EDUARDO ALVES CAMÊLO

Avaliação do efeito sinérgico da β -lapachona em associação com antibióticos convencionais frente a cepas de *Acinetobacter baumannii* multidroga resistentes

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Translacional, Centro de Ciências da Saúde, como parte dos requisitos parciais para obtenção do título de Mestre em Saúde Translacional.

Área de concentração: Saúde humana e Tecnologias integrativas.

Aprovada em: 29/04/2024

Banca Examinadora

Profa. Dra. Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Profa. Dra. Maria Bernadete de Sousa Maia
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Prof. Dr. Eryvelton de Souza Franco
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Dedico este trabalho a mim, por não ter desistido, aos meus pais, Maria e Josué (*in memoriam*), e aos meus irmãos, com carinho e amor.

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me proporcionado força, coragem e determinação para enfrentar meus temores ao longo dessa caminhada. E que por Sua infinita graça e misericórdia, guiou-me pelas melhores veredas. Sem Ti nada sou, Senhor.

Aos meus queridos pais, Josué e Maria, por ter me dado amor, carinho e proteção. E deram-me ensinamentos que os carregou por toda minha trajetória até aqui.

Aos meus amados irmãos, Ana Marta, Daniel, Ana Lúcia, Luciano, Adriana e Fabiana, por momentos indelévels de conforto e de alegria.

À minha amada e querida esposa, Priscila, pelo companheirismo, pelo acolhimento e pelos conselhos que foram fundamentais para que meus dias se tornassem mais leves.

À Prof^a. Dra. Eulália de Azevedo Ximenes, minha orientadora, pela orientação, pelos ensinamentos e pela confiança ao longo dessa jornada. Sempre me lembrarei dos conselhos, das conversas e dos aprendizados. A ela, meu respeito e muito obrigado!

À Banca Examinadora, composta pelos professores Prof. Dr. Eryvelton de Souza Franco, Prof^a. Dra. Maria Bernadete de Sousa Maia e Prof^a. Dra. Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque, por aceitar o convite e sugerir modificações para aprimorar o trabalho final de dissertação.

À Prof^a. Dra. Isabella Macário Ferro Cavalcanti pela cessão da cepa *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 para incrementar o trabalho.

À Patrícia Campelo, técnica microbiológica no laboratório central do Hospital Agamenon Magalhães, pela colaboração.

Aos meus companheiros do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica dos Microrganismos pelos momentos de descontração, de trocas de experiências e de apoio nos momentos mais difíceis.

A todos do Departamento de Antibióticos que contribuíram indiretamente para realização do trabalho, às secretárias do Programa de Pós-Graduação em Saúde Translacional pelo suporte administrativo, minha gratidão.

Aos meus colegas da pós-graduação pelos momentos de descontração, de troca de saberes e sobretudo pelo apoio e torcida.

Aos meus amigos que torceram por mim, sempre com palavras positivas que trouxeram acalento durante o trabalho.

E a todos aqueles que por algum motivo eu tenha esquecido, minha eterna gratidão.

“Quanto mais me aprofundo na Ciência mais me aproximo de Deus”

(Albert Einstein, 1879-1955).

RESUMO

Acinetobacter baumannii é um microrganismo oportunista associado a diversas infecções nosocomiais e que possui inúmeras estratégias para resistir à ação dos antibióticos. A cepa ATCC 19606 foi utilizada tanto como cepa de referência quanto modelo para o estudo da emergência e evolução de resistência, patogênese e para a descoberta de novos alvos antibacterianos. Diante deste fato, a pesquisa por novos fármacos, bem como novas abordagens terapêuticas como as associações de antimicrobianos são necessárias. Seguindo essa diretriz, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana do lapachol, da β -lapachona e de seis antibióticos (ampicilina/sulbactam, cefepima, ciprofloxacino gentamicina, meropenem e polimixina B) frente a nove cepas de *Acinetobacter baumannii* LFBM 01, LFBM 02, LFBM 06, LFBM 07, LFBM 09, LFBM 14, LFBM 15, LFBM 19 e LFBM 21 com fenótipo de resistência previamente determinado aos carbapenêmicos. Dentre as naftoquinonas, a β -lapachona foi a mais eficaz e apresentou a CIM mais baixa e teve a CIM mais baixa, cujo valor foi 512 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Numa segunda etapa foi avaliado o efeito das associações β -lapachona-antibióticos, realizado pelo método do tabuleiro de xadrez (*Checkerboard*). Os critérios utilizados para essa avaliação, foram definidos pelos valores do Índice da Concentração Inibitória Fracionada (ICIF). As cepas de *Acinetobacter baumannii* mostraram-se sensíveis à polimixina B e resistentes a maioria dos antibióticos avaliados. Os valores de ICIF variaram de 0,06 a 0,5, sugerindo uma interação sinérgica frente as cepas de *Acinetobacter baumannii* produtoras de carbapenemases. Um efeito aditivo foi observado para a associação β -lapachona-cefepima e β -lapachona-meropenem para as cepas LFBM 06 e LFBM 21, respectivamente. De uma forma geral a β -lapachona associada a β -lactâmicos ou fluoroquinolonas ou carbapenêmicos, atua sinergicamente inibindo o crescimento de cepas de *Acinetobacter baumannii*. Além disso, essas associações mostraram-se capazes de reverter o perfil de resistência. Estudos devem ser realizados, tanto *in vivo* quanto *in vitro*, para avaliar a biossegurança, eficácia, efeitos tóxicos, farmacológicos, principalmente em relação aos efeitos colaterais.

Palavras-chave: naftoquinonas; efeito sinérgico; *Acinetobacter baumannii*; produtor de carbapenemases

ABSTRACT

Acinetobacter baumannii is an opportunistic microorganism associated with several nosocomial infections and which has numerous strategies to resist the action of antibiotics. The ATCC 19606 strain was used as both a reference and model strain to study the emergence and evolution of resistance, pathogenesis and for the discovery of new antibacterial targets. Given this fact, research for new drugs, as well as new therapeutic approaches such as combinations of antimicrobials, is necessary. Following this guideline, the present study aimed to evaluate the antimicrobial activity of lapachol, β -lapachone and six antibiotics (ampicillin/sulbactam, cefepime, ciprofloxacin, gentamicin, meropenem and polymyxin B) against nine strains of *Acinetobacter baumannii* LFBM 01, LFBM 02, LFBM 06, LFBM 07, LFBM 09, LFBM 14, LFBM 15, LFBM 19 and LFBM 21 with a previously determined resistance phenotype to carbapenems. Among the naphthoquinones, β -lapachone was the most effective and had the lowest MIC, the value of which was 512 $\mu\text{g/mL}$. In a second stage, the effect of β -lapachone-antibiotic associations was evaluated, using the *Checkerboard* method. The criteria used for this evaluation were defined by the values of the Fractional Inhibitory Concentration Index (FICI). *Acinetobacter baumannii* strains were sensitive to polymyxin B and resistant to most of the antibiotics evaluated. FICI values ranged from 0.06 to 0.5, suggesting a synergistic interaction against *Acinetobacter baumannii* strains that produce carbapenemases. An additive effect was observed for the association β -lapachone-cefepime and β -lapachone-meropenem for strains LFBM 06 and LFBM 21, respectively. In general, β -lapachone associated with β -lactams or fluoroquinolones or carbapenems, acts synergistically to inhibit the growth of *Acinetobacter baumannii* strains. Furthermore, these associations were capable of reversing the resistance profile. Studies must be carried out, both *in vivo* and *in vitro*, to evaluate biosafety, efficacy, toxic and pharmacological effects, especially in relation to side effects.

Keywords: naphthoquinones; synergistic effect; *Acinetobacter baumannii*; carbapenemase producer

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Acinetobacter baumannii</i> na coloração de Gram	18
Figura 2 - Colônias de <i>Acinetobacter baumannii</i> em Ágar Mueller Hinton	19
Figura 3 - Fatores de virulência presentes no <i>Acinetobacter baumannii</i>	21
Figura 4 - Representação esquemática do ciclo de formação de biofilme.....	23
Figura 5 - Rede regulatória da formação de biofilme de <i>Acinetobacter baumannii</i>	24
Figura 6 - Ipês roxo e branco	35
Figura 7 - Estrutura química do lapachol (A), β -lapachona (B) e α -lapachona (C)	38
Figura 8 - Mecanismo de ação das Naftoquinonas.....	39
Figura 9 - Padronização do inóculo do <i>Acinetobacter baumannii</i>	42
Figura 10 - Esquema da metodologia para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) das naftoquinonas e antimicrobianos frente a <i>Acinetobacter baumannii</i>	44
Figura 11 - Associações entre β -lapachona e os antimicrobianos pelo método do tabuleiro de xadrez (<i>Checkerboard</i>).....	45
Figura 12 - Isoblograma representando a interação entre β -lapachona e Ciprofloxacino, frente a <i>Acinetobacter baumannii</i> . A curva côncava indica sinergia (A); Gráfico de dispersão com ponto acima da reta indica aditivo (B).....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Origem do Isolamento e fenótipo de resistência de nove cepas de <i>Acinetobacter baumannii</i>	40
Tabela 2 - Critérios de interpretação dos valores de Concentração Inibitória Mínima para caracterização de <i>Acinetobacter spp.</i> como resistentes	44
Tabela 3 - Critérios de classificação dos valores de ICIF	46
Tabela 4 - Concentração Inibitória Mínima de naftoquinonas e antimicrobianos convencionais frente a cepas de <i>Acinetobacter baumannii multirresistentes</i>	48
Tabela 5 - Associação da β -Lapachona e antimicrobianos frente a <i>Acinetobacter baumannii</i>	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABC-Complexo *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus*

ATP-Adenosina trifosfato

CDC-Centro de Controle e Prevenção de Doenças

CIF-Concentração Inibitória Fracionada

CIM-Concentração Inibitória Mínima

CLSI-Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais

CRAB-*Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenêmicos

DNA-Ácido Desoxirribonucleico

ECDC-Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças

ESBLA-Beta-lactamase de amplo espectro

ESKAPE-*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter spp.*

KPC-*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase

LFBM-Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Microrganismos

MBLs-metalo-beta-lactamases

MDR-Multidroga resistente

MH-Agar Mueller Hinton

NDM-New Nova Deli Metalo-beta-lactamase

OMS/WHO-Organização Mundial da Saúde

OXA-Oxacilinase

PCR- Reação em cadeia da Polimerase

QS-*Quorum Sensing*

RNA-Ácido ribonucleico

RND-Resistência-nodulação-divisão

ROS-Espécies reativas de oxigênio

SENTRY-Programa de Vigilância Antimicrobiana

SME-Enzima de *Serratia marcescens*

SMR-Baixa resistência a multidrogas

SOD-Superóxido Dismutase

UTI-Unidade de Terapia Intensiva

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	OBJETIVO GERAL.....	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3	REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1	GENERO <i>ACINETOBACTER</i>	18
3.2	IMPORTÂNCIA CLÍNICA E EPIDEMIOLÓGICA.....	19
3.2	FATORES DE VIRULÊNCIA E PATOGENICIDADE DE <i>A. baumannii</i>	21
3.2.1	Genes de virulência relacionados ao biofilme	24
3.3	MECANISMOS DE RESISTÊNCIA DE <i>A. baumannii</i> AOS ANTIBIÓTICOS	26
3.4	TRATAMENTO DE INFECÇÕES CAUSADAS POR <i>ACINETOBACTER SPP</i> ..	31
3.4.1	Ciprofloxacino	31
3.4.2	Cefepima	31
3.4.3	Gentamicina	32
3.4.4	Meropenem	32
3.4.5	Ampicilina/sulbactam	32
3.4.6	Polimixinas	33
3.4.6.1	Colistina.....	33
3.4.6.2	Polimixina B.....	33
3.6	<i>TABEBUIA AVELLANEDAE LOR. EX GRISEB.</i> (BIGNONIACEAE)	33
3.6.1	Quinonas	36
3.6.2	Naftoquinonas	37

3.6.3	Atividade Antimicrobiana das Naftoquinonas.....	38
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
4.1	MICROORGANISMOS E PREPARAÇÃO DO INOCULO	40
4.1.1	Culturas de <i>Acinetobacter baumannii</i> e preservação	41
4.1.2	Padronização do inóculo.....	41
4.2	ANTIBIÓTICOS E NAFTOQUINONAS	42
4.3	DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA E CONCENTRAÇÃO BACTERICIDA MÍNIMA.....	43
4.4	CRITÉRIOS DE INTERPRETAÇÃO	44
4.5	ASSOCIAÇÃO DA β - LAPACHONA AOS ANTIBIÓTICOS CONVENCIONAIS	45
4.5.1	Critérios de Interpretação.....	46
4.5.1.1	Sinergismo	46
4.5.1.2	Isoblograma	47
5	RESULTADOS	48
5.1	DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	48
5.2	ASSOCIAÇÃO β - LAPACHONA-ANTIBIÓTICOS	49
6	DISCUSSÃO.....	52
7	CONCLUSÃO.....	57
	REFERÊNCIAS.....	58
	APÊNDICE A - ISOBOLOGRAMAS	73
	APÊNDICE B - MANUSCRITO SUBMETIDO À REVISTA ARCHIVES OF MICROBIOLOGY	89

1 INTRODUÇÃO

Acinetobacter baumannii é uma bactéria oportunista, frequentemente associada a infecções adquiridas em ambientes hospitalares, conhecidas como infecções nosocomiais (Lucidi *et al.*, 2024). O gênero *Acinetobacter spp.* compreende até 74 espécies, entre elas a espécie *Acinetobacter baumannii*, responsável por cerca de 80% das infecções (Vázquez-lópez *et al.*, 2020).

As bactérias multirresistentes podem ser agrupadas em três grupos, a saber MDR (*Multidrug-resistant*), que são as bactérias não suscetíveis a pelo menos três classes de antimicrobianos; XDR (*Extensively drug-resistant*), que são bactérias não suscetíveis a pelo menos um agente em todas as classes, exceto duas classes de antimicrobianos; e PDR (*Pandrug-resistant*), que são bactérias resistentes a todos os antimicrobianos testados (Mills; Marchaim, 2021).

De acordo com essa constatação, a Organização Mundial da Saúde classificou os 'patógenos prioritários' resistentes a antibióticos. *A. baumannii* resistente aos carbapenêmicos é considerada um dos microrganismos de maior relevância em termos de saúde pública (OMS, 2023).

Dessa maneira, a polimixina B representa a última opção terapêutica para o tratamento de infecções causadas por *A. baumannii* multidroga resistente (Zhu *et al.*, 2023).

A resistência à ação dos antimicrobianos adotada pela *Acinetobacter baumannii* engloba a produção de enzimas inativadoras, modificações nas proteínas de ligação à penicilina e o uso de bombas de efluxo. Além disso, o surgimento de cepas de *A. baumannii* que demonstraram resistência a combinações de antibióticos, como ceftazidima-avibactam, piperacilina-tazobactam e ampicilina-sulbactam, restringe ainda mais as opções terapêuticas disponíveis (Shields *et al.*, 2023).

Dada essa realidade, torna-se imprescindível investir em pesquisas e no desenvolvimento de novos fármacos, bem como adotar novas abordagens terapêuticas, como a utilização de associações sinérgicas com antibióticos.

Nesse contexto, as naftoquinonas emergem como metabólitos secundários presentes em microrganismos, algas e plantas superiores, destacando-se por sua vasta gama de propriedades farmacológicas (Mir *et al.*, 2023). A combinação de metabólitos secundários com antibióticos convencionais surge como uma estratégia alternativa para aprimorar a eficácia desses últimos, oferecendo uma solução promissora no tratamento de infecções provocadas por microrganismos que demonstram resistência a múltiplos fármacos, em

particular *A. baumannii* multidroga resistente, para o qual as opções terapêuticas são limitadas (Gong *et al.*, 2021).

A β -lapachona e seu isômero alfa-lapachona, também denominados 3,4-di-hidro- 2,2-dimetil-2H-naftol [1,2-b] piran-5,6-diona, são naftoquinonas de origem natural que podem ser extraídas da casca de diversas plantas brasileiras, como o Lapacho (*Tabebuia avellanedae*), ou produzidas sinteticamente a partir do lapachol ou lomatiol. Essas substâncias são amplamente reconhecidas por suas diversas propriedades farmacológicas, que englobam atividades antitumorais, anti-inflamatórias, antitripanossoma e antimicrobianas (Ramos- Milaré *et al.*, 2023).

Até o momento, não foram conduzidos estudos abordando a inibição do crescimento de *A. baumannii* multidroga-resistente (MDR) por meio do uso de lapachol e seus derivados, como a β -lapachona e alfa-lapachona, nem investigações sobre possíveis sinergias entre naftoquinonas e antibióticos.

Diante dessa premissa, o presente estudo foi conduzido com o objetivo de, em um primeiro momento, determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) de substâncias como lapachol e β -lapachona, além de medicamentos comerciais amplamente utilizados em clínica tais como ampicilina/sulbactam, cefepima, ciprofloxacino, gentamicina, meropenem. Além disso, procurou-se avaliar o efeito sinérgico da β -lapachona em associação com antibióticos convencionais frente a cepas de *A. baumannii* produtoras de carbapenemases.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade antimicrobiana e sinérgica do lapachol, da β -lapachona e de seis antimicrobianos (ampicilina/sulbactam, cefepima, ciprofloxacino, gentamicina, meropenem e polimixina B) frente a nove cepas de *Acinetobacter baumannii* produtoras de carbapenemases.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) do lapachol, da β -lapachona, bem como dos seguintes antimicrobianos ampicilina/subactam, cefepima, ciprofloxacino, gentamicina, meropenem e polimixina, frente a cepas de *Acinetobacter baumannii* produtoras de carbapenemases;

Identificar a naftoquinona com melhor atividade antibacteriana (mais potente);

Avaliar o efeito sinérgico da β -lapachona em associação com antimicrobianos convencionais frente a cepas de *Acinetobacter baumannii* produtoras de carbapenemases.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 GÊNERO *ACINETOBACTER*

Inicialmente descrito pelo microbiologista holandês Beijerinck em 1911 como *Micrococcus calcoaceticus*, o gênero *Acinetobacter* (do grego “akinetos”, imóvel) foi proposto 43 anos depois por Brisou e Prevot para diferenciá-lo dos organismos móveis do gênero *Achromobacter* spp (Brisou; Prevot, 1954).

Entretanto, apenas em 1971 o Subcomitê em Taxonomia de Moraxella e Bactérias Afins reconheceu oficialmente o gênero *Acinetobacter* spp. com base nos resultados da publicação de Baumann e recomendou que o gênero deveria incluir apenas cepas citocromo-oxidase negativas (Lessel, 1971).

O gênero *Acinetobacter* spp. pertence ao domínio Bacteria, ao filo Proteobacteria, à classe Gammaproteobacteria, à ordem Pseudomonadales e à família Moraxellaceae. Esse gênero comporta bactérias Gram-negativas, identificadas bioquimicamente como oxidase e indol negativos, catalase positiva, não são seletivas quanto ao crescimento em meios de cultura, são imóveis, aeróbias, não formadoras de esporos, e podem apresentar cápsula e fímbrias para adesão e formação de biofilmes (Almasaudi, 2018).

Quanto à morfologia na coloração de Gram (Figura 1), apresentam-se como bastonetes curtos e espessos, com diâmetro de 1,0 a 1,5µm e 1,5 a 2,5 µm de comprimento na fase exponencial de crescimento, tornando-se cocobacilares durante a fase estacionária, geralmente presentes aos pares ou em longas cadeias de comprimento variável (Almasaudi, 2018).

Figura 1. *Acinetobacter baumannii* na coloração de Gram.



Fonte: O autor (2024).

As espécies de *Acinetobacter* em placas de Ágar Mueller Hinton (Figura 2) apresentam-se com colônias de formas e tamanhos característicos, podendo ser incolores, decor branca ou creme, lisas ou mucóides. Quando encápsuladas, são leitosas, com diâmetro de

1,0 a 2,0 mm, após 18 a 24 h de incubação a 37° C. Em meio Ágar Eosina Azul de Metileno, as colônias apresentam cor azulada a cinza azulada (Almasaudi, 2018).

Figura 2. Colônias de *Acinetobacter baumannii* em Ágar Mueller Hinton.



Fonte: O autor (2024).

Muitas cepas são incapazes de reduzir o nitrato a nitrito e a temperatura ideal de crescimento é de proximamente 33 a 35°C. A parede celular de *Acinetobacter* é típica das bactérias Gram-negativas, porém a descoloração é difícil porque o cristal violeta fixa fortemente na parede celular e isso pode levar à identificação errônea como cocos Gram-positivos (Nguye; Joshi, 2021).

Atualmente, o gênero *Acinetobacter* contém 74 espécies. Em nível de espécies, os isolados de *Acinetobacter* não são facilmente identificados devido às similaridades fenotípicas e genotípicas. Desse modo, testes moleculares, como a Reação em cadeia da Polimerase (PCR), são necessários para auxiliar na correta identificação (Vijayakumar, 2019). Por esta razão, espécies de *Acinetobacter* tais como *A. baumannii*, *A. nosocomialis*, *A. pittii*, *A. seifertii* e *A. lacticae*, além das espécies ambientais como *A. calcoaceticus*, consideradas membros do chamado complexo *Acinetobacter baumannii*-*Acinetobacter calcoaceticus* (ABC) são clinicamente significativas quando isoladas (Nguye; Joshi, 2021).

3.2 IMPORTÂNCIA CLÍNICA E EPIDEMIOLÓGICA

Embora outras espécies do gênero tenham sido relatadas em seres humanos, como *A. johnsonii* e *A. radioresistens*, *A. lwoffii*, os membros do Complexo *Acinetobacter calcoaceticus*-*baumannii* (ABC), com exceção do *A. calcoaceticus*, são os que apresentam significância clínica (Vijayakumar, 2019).

No tocante ao Complexo, *A. baumannii* tem maior incidência em espécimes clínicos, e está envolvida na colonização e infecção de muitos pacientes que são admitidos em serviços de saúde. Além disso, *A. baumannii* apresenta maior resistência a um número maior de

antibióticos quando comparada ao complexo ABC, sendo habitualmente associada a uma maior taxa de mortalidade (Rosenthal, 2021).

Apesar dos carbapenêmicos, mereopenem e imipenem, por exemplo, pertencerem à classe dos β -lactâmicos e apresentarem maior espectro e atividade *in vitro* contra bacilos gram-negativos, o aumento das taxas de resistência tem comprometido a utilização desses antibióticos na clínica (Rosenthal, 2021).

Contudo, as taxas de suscetibilidade aos carbapenêmicos apresentam variações a depender da região geográfica. Entre as espécies de *Acinetobacter* coletadas entre os anos de 2016 a 2018 pelo Programa de Vigilância Antimicrobiana (SENTRY), as taxas de suscetibilidade mais baixas ao meropenem foram observadas na África e no Oriente Médio 17,2%, seguidas pela América Latina 19,6%, Ásia-Pacífico Sul 31,4%, Europa 33,8% e América do Norte 63,6% (Seifert, 2022).

De acordo com o último relatório da Organização Mundial da Saúde (OMS) e do Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças (ECDC), os índices percentuais de espécies de *Acinetobacter* resistentes a carbapenêmicos variaram na Europa em 2020. Dos 38 países e áreas que reportaram os dados, três países apresentaram taxas de ocorrência inferiores a 1%, enquanto 35 revelaram taxas igual ou superior a 50%. Os países com as taxas mais baixas de resistência aos carbapenêmicos foram a Irlanda, os Países Baixos e a Noruega, enquanto aqueles que apresentaram taxas iguais ou superiores a 50% estão localizados sobretudo no Leste e no Sul Europeu (ECDC; OMS, 2022).

Na Itália, por exemplo, dois estudos chamaram a atenção dos pesquisadores. O primeiro revelou um aumento da colonização ou da infecção pelo *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenêmicos (CRAB) nas unidades de terapia intensiva (UTIs) destinadas aos pacientes com COVID-19. Esse estudo mostrou que 19% dos pacientes com COVID-19 foram colonizados ou infectados por CRAB durante sua permanência na UTI (Montrucchio, 2022).

Num segundo trabalho realizado também na Itália, conduzido em três importantes centros médicos durante janeiro e abril de 2020, foi observado um aumento das mesmas taxas de incidência de infecção e de colonização pelo CRAB em UTI observado no primeiro estudo (Durán-Manuel, 2021).

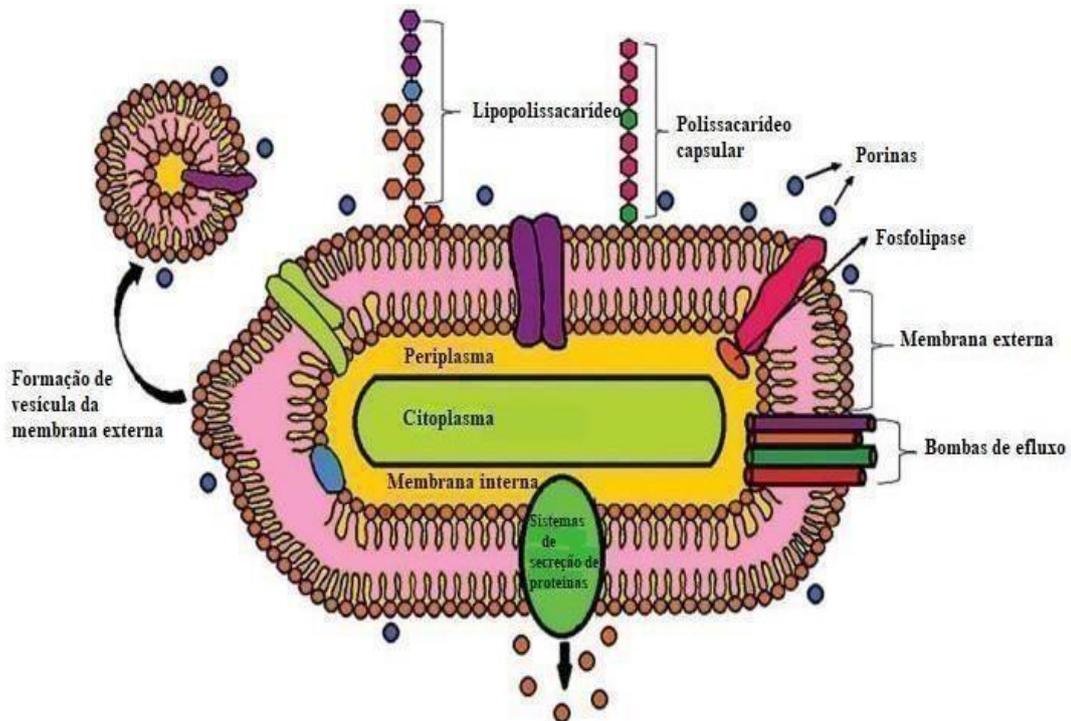
Em relação à colonização por CRAB, o segundo estudo registrou um aumento de 7,5 vezes em relação ao primeiro, enquanto as infecções por CRAB aumentaram em 5,5 vezes. Esses dados destacam a tendência de aumento da presença desse patógeno resistente em ambientes de cuidados médicos no país europeu durante o período em análise (Pascale, 2022).

Vale ressaltar que o aumento no número de infecções por *A. baumannii* durante a pandemia de COVID-19 não está restrito a uma única localidade, mas essa tendência foi observada em várias regiões geográficas. Isso ressalta a importância de uma vigilância global e de esforços coordenados para entender e controlar o impacto dessa resistência bacteriana em meio à crise de saúde pública causada pelo coronavírus (Durán-Manuel, 2021).

3.3 FATORES DE VIRULÊNCIA E PATOGENICIDADE DE *A. baumannii*

Acinetobacter baumannii apresenta diversos fatores de virulência, os quais são cruciais na sobrevivência e na adaptação ao ambiente (Cangussu, 2020). A combinação desses fatores conflui para a patogenicidade do *A. baumannii* que, em conjunto, leva à infecção. A constituição da superfície bacteriana desse patógeno é formada por diversos componentes moleculares (Mea; Yong; Wong, 2021). O componente mais encontrado, nas cepas de *A. baumannii*, é a proteína de membrana externa A (OmpA). Além desse constituinte, estão envolvidas outras estruturas, como o lipopolissacarídeo (LPS), as fosfolipases e os biofilmes (Figura 3) (Jacobs *et al.*, 2010).

Figura 3. Fatores de virulência presentes no *Acinetobacter baumannii*.



Fonte: Adaptado de Skariyachan *et al.*, 2019.

Acinetobacter baumannii apresenta fatores de patogenicidade, como as fímbrias, cápsula bacteriana e biofilme, que estão em constante evolução, adaptando-se para enfrentar o sistema imunológico do hospedeiro e sobreviver em diferentes ambientes (Bartal *et al.*, 2022).

Os *pili* de *A. baumannii* desempenham um papel na aderência a superfícies, tanto inertes quanto vivas, bem como na formação de biofilmes bacterianos. Além de promover a aderência, os *pili*, quando acoplados aos receptores das células hospedeiras, têm a capacidade de induzir a inflamação, desencadeando a produção de mediadores, incluindo quimiocinas e citocinas (Iruegas *et al.*, 2023).

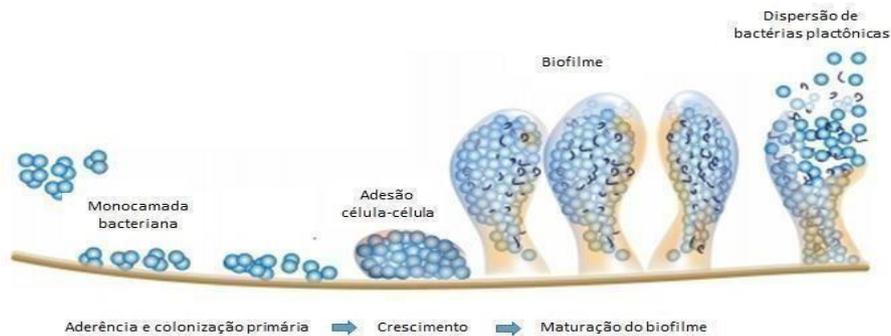
Outro importante fator de patogenicidade é a cápsula lipopolissacarídea. Ela é formada por polímeros de alto peso molecular de repetidas unidades de oligossacarídeos, os quais são compostos pela união de açúcares, sintetizados por vias específicas. Esse revestimento está intimamente associado a doenças em mamíferos. Acredita-se que a camada de exopolissacarídeos que constitui a cápsula fornece uma barreira protetora que protege as células bacterianas do ambiente externo. Isso resulta em uma maior resistência à fagocitose, processos de desinfecção e dessecação (Akoolo *et al.*, 2022).

A capacidade das bactérias do gênero *Acinetobacter* spp. de formar biofilme é um fator importante em sua virulência e resistência aos antibióticos. O biofilme é uma comunidade microbiana aderida a uma superfície e envolta por uma matriz extracelular. Essa matriz é composta de várias substâncias poliméricas, incluindo proteínas, exopolissacarídeos e ácidos nucleicos, que são secretados pelas próprias bactérias (Zeighami *et al.*, 2019).

A formação de biofilmes ocorre em três etapas: aderência e colonização, formação de matriz e maturação (Figura 4) (Azizi *et al.*, 2016). Na primeira fase da formação de biofilme, os microrganismos se aderem à superfície, num processo e se dividem a partir das microcolônias. Por sua vez, estas se fundem em grandes agregados, deixando canais abertos para permitir a passagem de fluidos contendo nutrientes. Ao passo que o biofilme envelhece, as células sésseis tornam-se cobertas com a matriz polimérica e exopolissacarídica, comportando-se como barreira de difusão contra os antimicrobianos, células fagocitárias e contra a atividade bacteriana do soro sérico. O *quorum sensing* (QS) é um mecanismo de comunicação entre as células bacterianas que envolve a produção e detecção de moléculas de sinal chamadas autoindutores. Estas moléculas são liberadas pelas células bacterianas à medida que crescem e sua concentração aumenta com a densidade celular. Quando a

concentração de autoindutores atinge um determinado limiar, as células respondem coordenadamente, desencadeando diversas respostas fenotípicas e genotípicas (Roy *et al.*, 2022).

Figura 4. Representação esquemática do ciclo de formação de biofilme.



Fonte: Adaptação de Mermel, 2014.

Dessa forma, o crescimento das interações celulares, mediante o aumento da detecção de lactonas N-acil-homoserina (AHLs) que é um autoindutor, resulta na aceleração do processo de formação de biofilme mediada por vias QS (Kyriakidis *et al.*, 2021). De acordo com Azizi e colaboradores (2016), a lactona N-(3-oxododecanoil)-L-homoserina (AHL-12) ativa funções importantes para a defesa de células fagocíticas, que abrange o aumento da fagocitose, aumento da expressão de receptores de adesão e indução de quimiotaxia. Isso leva à hipótese de que o reconhecimento precoce de biofilmes em desenvolvimento pode ser a chave para uma defesa bem sucedida do hospedeiro contra infecções por biofilme (azizi *et al.*, 2016).

Os biofilmes são estruturas ativas, nas quais as transições entre os modos de crescimento planctônico e sésil ocorrem em resposta a diferentes sinais ambientais. As células de *A. baumannii* quando em biofilme, comparadas com células planctônicas, mostraram uma maior organização no metabolismo de aminoácidos e ácidos graxos, motilidade, transporte ativo, metilação de DNA, aquisição de ferro, regulação transcricional e *quorum sensing* (Roy *et al.*, 2022).

As infecções associadas a dispositivos médicos por *A. baumannii* são frequentemente relacionadas à formação de biofilme em superfícies abióticas, tais como intubação endotraqueal e cateteres vasculares, o que contribui para a sobrevivência desse microrganismo, aumentando, desse modo, os riscos de infecções respiratórias e da corrente

com superfícies abióticas, como células epiteliais humanas. O gene *csuE* codifica parte do sistema de montagem do *Csu pili* e atua como uma adesina de ligação à superfície, contribuindo, desse modo, para a formação de biofilme (Pakharukova *et al.*, 2022). Além disso, o sistema BfmR/BfmS consiste em um sensor-quinase que detecta as condições ambientais e um regulador de resposta (Zeighami *et al.*, 2019). De acordo com Liou *et al.*, 2014, o *bfmS* inativado reduziu a formação de biofilme em *A. baumannii* ATCC 17978. Esse sistema tem sido considerado alvo potencial de fármacos, conforme estudo de Russo *et al* 2016, que relatou que a inibição do BfmR aumentou significativamente a suscetibilidade de *A. baumannii* em relação aos antimicrobianos.

Nas cepas de *A. baumannii*, a OmpA é uma porina codificada pelo gene *ompA*, e tem várias funções na patogênese bacteriana, como na adesão e formação de biofilme, resistência antimicrobiana, entre outras. A interrupção do gene *ompA* diminuiu as concentrações inibitórias mínimas (CIMs) dos antimicrobianos cloranfenicol, aztreonam e ácido nalidíxico, o que sugere que OmpA participa da expulsão de antibióticos do espaço periplasmático através de sistemas de bomba de efluxo. Em consonância com o potencial antibiofilme da xantona natural α -mangostina, Sivaranjani *et al.*, 2018 observaram que a redução no nível de expressão do gene *ompA in vitro* configurou dificuldade de adesão de *A. baumannii*. Nesse sentido, a OmpA é um alvo atraente para o desenvolvimento de novos antimicrobianos e estratégias de prevenção terapêutica (Lee, *et al.*, 2019).

Um passo determinante na colonização dos tecidos do hospedeiro é a aderência às células eucarióticas e pode, por isso, ser considerado um dos primeiros passos na progressão da doença. A proteína Bap, codificada pelo gene *bap*, é uma adesina de superfície que medeia a ligação primária às superfícies bióticas e abióticas e está envolvida na adesão intercelular dentro do biofilme maduro. A mutação do gene *bap* na *A. baumannii* ocasiona diminuição na espessura e no volume do biofilme. Esses dados sugerem que a proteína Bap é um componente-chave na formação de biofilme em *A. baumannii* e pode ter participação na persistência da bactéria nas infecções em ambiente hospitalar (Aldali, 2023).

A síntese de substâncias poliméricas extracelulares (EPS), que consiste essencialmente em polissacarídeos, ácidos nucleicos, lipídios e proteínas é crucial durante a formação de biofilme. Essas substâncias poliméricas ocupam o espaço intercelular de agregados bacterianos que, por sua vez, fornecem uma estrutura tridimensional e uma arquitetura complexa para a matriz de biofilme. A EPS produzida

pela *A. baumannii* é codificada pelo gene *epsA*. A produção de EPS está envolvida na adesão célula-superfície e célula-célula, como também protege as bactérias contra os mecanismos de defesa do hospedeiro. Logo, inibir a produção de EPS pode aumentar a suscetibilidade bacteriana aos antimicrobianos e facilitar a inibição da formação de biofilme (Sivaranjani *et al.*, 2018).

3.4 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA DE *A. baumannii* AOS ANTIBIÓTICOS

Atualmente a maioria das cepas de *Acinetobacter baumannii* se tornou resistente aos antibióticos de amplo espectro utilizados na prática clínica. A resistência nesse patógeno é complexa e multifacetada, abrangendo diversas estratégias de evasão aos tratamentos disponíveis. *Acinetobacter baumannii* demonstra uma capacidade de desenvolver mecanismos de resistência que atingem várias classes de fármacos (Smitten, 2020).

A resistência desse patógeno tem implicações sérias, comprometendo a capacidade da comunidade médica em tratar efetivamente infecções e garantir a segurança dos pacientes (Aldali, 2023).

Um dos principais mecanismos da *Acinetobacter baumannii* envolve a redução da permeabilidade da membrana bacteriana. Esse processo permite que a bactéria intensifique a atividade de suas bombas de efluxo, que atuam como 'porteiros' celulares, bombeando ativamente os antibióticos para fora da célula bacteriana impedindo que alcancem alvo molecular (Zhang, 2021).

Os sistemas de efluxo desempenham um papel essencial na desintoxicação de metabólitos intracelulares, na sinalização intercelular, na manutenção da homeostase celular e na patogenicidade bacteriana (Xu *et al.*, 2019).

Os sistemas de efluxo podem ser agrupados em seis principais famílias: a família MATE (extrusão de compostos tóxicos e multidrogas), a super-família ATP “*binding cassette*” (ABC), a super-família facilitadora principal (MFS), a família RND (resistência-nodulação-divisão), a família SMR (baixa resistência a multidrogas) e a família de efluxo de compostos antimicrobianos de proteobactérias (Rafiei *et al.*, 2022).

Dentre essas famílias, a RND apresenta papel de destaque na resistência intrínseca de bactérias Gram-negativas aos antimicrobianos, seguida pelas famílias MFS e SMR. As bombas RND são compostas por três componentes e exibem ampla especificidade de substrato, incluindo biocidas e antissépticos. Em *A. baumannii*, três sistemas RND foram

caracterizados até o momento: *AdeABC*, *AdeIJK* e *AdeFGH*, todos associados à resistência aos antimicrobianos pelo esse patógeno (Kaviani *et al.*, 2020).

Em relação à família MATE, a proteína *AbeM* está envolvida no efluxo de fluoroquinolonas, aminoglicosídeos, cloranfenicol, trimetoprim e brometo de etídio. No entanto, estudos mais recentes sugerem que esse sistema exerce impacto relativamente limitado na resistência antimicrobiana quando comparado a outros sistemas (Coyne *et al.*, 2011).

Na família MFS, destacam-se as proteínas *TetA*, *TetB*, *AmvA*, *CmlA*, *FloR* e a mais prevalente *CraA*. Essa última confere resistência intrínseca ao cloranfenicol. Além disso, *FloR* proporciona resistência tanto ao cloranfenicol quanto ao florfenicol, enquanto *CmlA* confere resistência exclusivamente ao cloranfenicol. *AmvA*, por sua vez, é responsável pela resistência a desinfetantes e eritromicina, sendo sua superexpressão associada ao aumento da resistência em amostras clínicas de *A. baumannii*. A proteína *TetA* é a principal envolvida no efluxo de tetraciclinas, enquanto *TetB* está relacionada não apenas à resistência a tetraciclinas, como também a doxiciclina e a minociclina (Kim *et al.*, 2021).

O sistema *AbeS* é codificado no cromossomo e pertence à família SMR. Essa bomba de efluxo apresenta resistência ao cloranfenicol, as fluoroquinolonas, a eritromicina e acnovobiocina (Yu *et al.*, 2020).

O segundo mecanismo envolve a inativação direta dos antibióticos por meio de modificações ou hidrólise. Nesse contexto, as bactérias desenvolvem a capacidade de alterar quimicamente os antibióticos ou quebrá-los, tornando-os inativos (Zhang, 2021).

Além disso, *Acinetobacter baumannii* apresenta mecanismos que incluem alterações em proteínas presentes na membrana externa da bactéria, a produção de β -lactamases (enzimas que quebram antibióticos β -lactâmicos), a degradação pela enzimas modificadoras de aminoglicosídeos - EMAs que atuam catalisando uma modificação nos grupos químicos --OH ou -NH₂ do núcleo da 2-desoxitreptamina ou porções açúcares dos fármacos aminoglicosídeos, impedindo que o fármaco se ligue às subunidades dos ribossomos, além daquelas relacionadas à permeabilidade celular e mudanças nos locais onde os antimicrobianos exercem sua ação (Montrucchio, 2022).

Todos esses fatores contribuem para que a *A. baumannii* tenha progressivamente acumulado resistência às penicilinas, cefalosporinas, quinolonas e aminoglicosídeos.

Consequentemente, os carbapenêmicos tornaram-se a terapia de escolha para as infecções graves causadas pelo gênero (Montrucchio, 2022).

O principal mecanismo de resistência a β -lactâmicos é a produção de β -lactamases cromossomais ou plasmidiais, como a hiper-expressão do gene cefalosporinase cromossomal do tipo C (*AmpC*). A resistência à penicilinas, cefalosporinas e aztreonam é observada principalmente pela expressão de genes de β -lactamases de espectro estendido (ESBL) e, muitas vezes, responsável pelo fenótipo de multirresistência (Longjam *et al.*, 2023).

As β -lactamases estão agrupadas em quatro classes de acordo com a classificação de Ambler (A-D), compreendendo as classes A (penicilinases), B (metalo-betalactamases), C (adenosina monofosfato clíco-*AmpC*) e D (oxacilinases), que se baseia na sequência específica de aminoácidos que as compõem. Essa classificação é essencial para entender a diversidade dessas enzimas e suas variações na capacidade de hidrólise do anel β -lactâmico. Essas enzimas possuem a capacidade de hidrolisar antimicrobianos carbapenêmicos, bem como degradar outras penicilinas e cefalosporinas (Tsivkovski *et al.*, 2020, Wu, 2023).

As β -lactamases de amplo espectro (ESBL), que pertencem à Classe A de Ambler, conferem resistência a um amplo leque de cefalosporinas, com exceção das cefamicinas (Ingti *et al.*, 2019). A aquisição de várias variantes de ESBL em *A. baumannii* é mediada por mecanismos específicos. No entanto, a prevalência dessas enzimas ainda não é totalmente compreendida devido às técnicas de detecção laboratorial (Philippon *et al.*, 2019).

As principais enzimas da Classe A de Ambler são TEM, SHV, CTX-M e KPC. As enzimas TEM, CTX-M e KPC são capazes de hidrolisar penicilina, cefalosporina e carbapenem. Dentre elas, a família CTX-M é a predominante na América do Sul, Espanha e no Leste Europeu. Além disso, o uso de antibióticos possibilita a evolução dessas enzimas e o desenvolvimento de resistência a medicamentos cada vez mais potentes (Longjam *et al.*, 2023).

A classe A de Ambler abriga diversas carbapenemases, incluindo a NMC-A (carbapenemase que não é uma metaloenzima), a IMI-1 (imipenemase) e a SME (enzima de *Serratia marcescens*), que são codificadas no cromossomo bacteriano. Além disso, temos a KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) e a GES (Guiana extended-spectrum), cujos genes estão frequentemente presentes em integrons e ou plasmídeos. Estas classes de enzimas têm a capacidade de hidrolisar um amplo espectro de substratos, englobando penicilinas, algumas cefalosporinas, aztreonam e carbapenêmicos. Observa-se que, dentre essas enzimas,

tanto KPC quanto GES já foram identificadas em *A. baumannii*, o que representa um desafio em relação à resistência antimicrobiana (Ramirez *et al.*, 2020).

As metalo- β -lactamases (MBLs) da Classe B de Ambler, que dependem de zinco, são frequentemente encontradas associadas a cassetes genéticos de integrons, o que facilita sua disseminação entre diversas variedades de bactérias (Nikibakhsh *et al.*, 2021). As metalo- β -lactamases (MBLs) são classificadas em três subclasses distintas. As subclasses B1 e B3 são caracterizadas pela sua inativação catalítica através da presença de dois íons de Zn^{2+} , enquanto a subclasse B2 é cataliticamente inativada por apenas um íon de Zn^{2+} . Essa diversidade na ativação e inibição dessas enzimas é um aspecto fundamental de seu funcionamento bioquímico (Ramirez *et al.*, 2020).

As principais enzimas da Classe B de Ambler são New Delhi Metalo-betalactamase (NDM), Verona imipenemase (VIM), São Paulo MBL (SPM), Seoul imipenemase (SIM), e Imipenemase (IMP). A presença de plasmídeos facilita a rápida disseminação do gene MBL, e a propagação do NDM-1 está intimamente associada à resistência a medicamentos em *Acinetobacter baumannii*. Com exceção da família SIM, todas as outras já foram previamente identificadas em *A. baumannii*, inclusive em amostras coletadas no Brasil (López *et al.*, 2019).

Outra enzima que confere resistência antimicrobiana é a NDM. Após a identificação do NDM-1 na Índia, foram subsequentemente identificadas mais de 24 variantes deste gene (Ejaz *et al.*, 2020). As enzimas NDM, que consistem em 270 aminoácidos, têm a capacidade de hidrolisar a maioria dos β -lactâmicos, inclusive os carbapenêmicos, porém não afetam os monobactâmicos. É importante destacar que essas enzimas NDM não podem ser inibidas pelos inibidores de β -lactamases utilizados em clínica, como avibactam, clavulanato, sulbactam e tazobactam (Wu *et al.*, 2019).

Por outro lado, a produção de várias β -lactamases do tipo serina oxacilinasas (OXA) é a mais comumente observada na resistência aos carbapenêmicos. As enzimas β -lactamases classe D hidrolisadoras de carbapenêmicos (CHDLs) não apenas degradam as penicilinas, mas também apresentam capacidade de hidrolisar o imipenem e o meropenem, ainda que com menor eficácia, enquanto não demonstram uma ação significativa sobre cefalosporinas de amplo espectro e o aztreonam. Atualmente, diferentes grupos de CHDLs são reconhecidos com base na sequência de aminoácidos que os codificam. As carbapenemases do tipo OXA mais comuns incluem OXA-23, OXA-24, OXA-48, OXA-51 e OXA-58. Entre elas, OXA-23,

OXA-24, OXA-48 e OXA-58 são carbapenemases adquiridas, enquanto OXA-51 é intrínseca ao *Acinetobacter baumannii* (Shi *et al.*, 2021).

Embora as bombas de efluxo, a deficiência de porinas e a hiperprodução da cefalosporinase AmpC desempenhem um papel significativo nos elevados níveis de resistência aos carbapenêmicos em *A. baumannii*, as enzimas do tipo OXA ainda são reconhecidas como a causa primária de sua não susceptibilidade a essa classe de antibióticos (Hamidian *et al.*, 2019).

Essas enzimas são subdivididas em vários grupos, sendo sua classificação baseada em características estruturais e bioquímicas. Essa diversidade de grupos reflete a sua complexidade e capacidade de adaptação a diferentes β -lactâmicos (Seifert, 2022).

As enzimas do tipo OXA são importantes por seu papel na resistência aos β -lactâmicos em bactérias como *Acinetobacter* spp. e *Pseudomonas aeruginosa*. Elas demonstram a capacidade de hidrolisar antibióticos como metacilina, amoxicilina e algumas cefalosporinas e principalmente em oxacilina (Gill, 2023).

Em geral, as enzimas do tipo OXA não são classificadas como β -lactamases de espectro estendido (ESBLs), pois não têm a capacidade de hidrolisar cefalosporinas de amplo espectro. No entanto, há algumas exceções a essa regra, como a OXA-20 encontrada em *P. aeruginosa* e a OXA-37 em *A. baumannii*, que apresentam a capacidade de hidrolisar cefalosporinas de amplo espectro (Gill, 2023).

Até o momento, foram identificadas aproximadamente 350 enzimas OXA, e esse número continua a crescer, à medida que novas variantes são descobertas em resposta à pressão seletiva exercida pelo uso generalizado de antibióticos. Essas enzimas podem ser codificadas tanto no cromossomo bacteriano quanto em plasmídeos, o quais facilitam a disseminação de genes de resistência (Boral, 2019).

A primeira identificação do gene *blaOXA-5* ocorreu em *Pseudomonas aeruginosa* e subsequentemente foram identificadas variantes como *blaOXA-23-like*, *blaOXA-51-like* e *blaOXA-134*, em diferentes espécies de *Acinetobacter*, incluindo *Acinetobacter radioresistance*, *Acinetobacter baumannii* e *Acinetobacter lwofii* (Boral, 2019).

3.5 TRATAMENTO DE INFECÇÕES CAUSADAS POR *ACINETOBACTER SPP.*

Quando as infecções são causadas por cepas de *Acinetobacter* suscetíveis a antibióticos, geralmente há várias opções terapêuticas disponíveis. Essas escolhas podem envolver o uso de uma cefalosporina de amplo espectro como a ceftazidima ou a cefepime, uma combinação de um antibiótico beta-lactâmico com um inibidor de beta-lactamase como aqueles que contêm sulbactam ou um carbapenêmico por exemplo, imipenem ou meropenem (Kanj *et al.*, 2022).

Os carbapenêmicos demonstram alta eficácia bactericida contra cepas suscetíveis de *Acinetobacter*. No entanto, é importante observar que, dado que isolados suscetíveis ao imipenem podem apresentar resistência ao meropenem e vice-versa, a suscetibilidade ao carbapenêmico específico deve ser confirmada antes de sua administração (Smitran *et al.*, 2023).

O inibidor de beta-lactamase sulbactam também demonstra uma atividade bactericida contra isolados de *Acinetobacter*. Nos Estados Unidos, o sulbactam está disponível exclusivamente em combinação com a ampicilina. Dados de estudos observacionais indicam que a ampicilina-sulbactam é comparável em eficácia ao imipenem (Onita *et al.*, 2023).

3.5.1 Ciprofloxacino

O cloridrato de ciprofloxacino pertence a classe das fluoroquinolonas, cujo mecanismo de ação se dá pela inibição da enzima DNA topoisomerase I, causando desse modo, danos celulares às bactérias. Essa classe apresenta ação lenta, visto que, é possível observar células viáveis por aproximadamente duas horas após a exposição com o antimicrobiano, isso pode estar ligado ao desenvolvimento de fatores de resistência (Ojkic *et al.*, 2020).

3.5.2 Cefepima

O cloridrato de cefepima é um antimicrobiano da classe das cefalosporinas classificado como de quarta geração, possui amplo espectro de eficácia para microrganismos Gram positivos e Gram-negativos. Ele é indicado para infecções bacterianas em vários sistemas, tais como: trato urinário, epitelial e respiratório. O seu mecanismo de ação se dá pela inibição da síntese da parede celular bacteriana, ligando-se a uma ou mais proteínas ligadoras de penicilina (*Penicillin-binding proteins-PBPs*). Estas estão situadas na face

externa da membrana citoplasmática, e conseqüentemente, inibe a fase final da transpeptidação peptidoglicano havendo lise osmótica, impedido assim a síntese da parede celular (Pais *et al.*, 2022).

3.5.3 Gentamicina

A gentamicina faz parte da classe dos antibióticos aminoglicosídeos, assim como a amicacina e a tobramicina. Seu mecanismo de ação se dá por indução de estresse no retículo endoplasmático (RE) visto que, diferente da amicacina, age através da ligação ao ribossomo 80S eucariótico (Prokhorova *et al.*, 2017). Além de que, a gentamicina também é responsável por ativar a resposta de proteína desdobrada (UPR) e danifica as mitocôndrias em células eucarióticas (Peyrou *et al.*, 2007). Desse modo, o uso da gentamicina deve ser comedido devido aos seus potenciais efeitos adversos como a nefrotoxicidade, ototoxicidade e, menos comumente, o bloqueio neuromuscular (Fowler *et al.*, 2006).

3.5.4 Meropenem

O Meropenem é um antibiótico beta-lactâmico da classe dos carbapenêmicos com amplo espectro de ação e baixa toxicidade. Esse composto exerce a sua atividade bactericida através da inibição da síntese da parede da célula bacteriana, em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, através da ligação a proteínas que se ligam às penicilinas (PBPs). O uso do meropenem é indicado para tratar infecções bacterianas graves, além de ser utilizado no tratamento de doentes com neutropenia (Steffens *et al.*, 2021).

3.5.5 Ampicilina/sulbactam

A ampicilina/sulbactam é uma combinação de antibióticos composta por ampicilina, um beta-lactâmico e sulbactam, um inibidor de beta-lactamases. A ampicilina inibe a biossíntese do mucopeptídeo da parede celular de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas aeróbias e anaeróbias, enquanto que o sulbactam é inibidor irreversível da beta-lactamase, ampliando o espectro da ampicilina contra as betalactamases mediadas por plasmídeo nos organismos resistentes à penicilina. Desse modo, promove a lise bacteriana. Sobre o uso desta combinação de ampicilina/sulbactam, ela é indicada no tratamento de infecções do trato respiratório superior e inferior (Peechakara; Gupta 2024).

3.5.6 Polimixinas

3.5.6.1 Colistina

A Colistina é um antibiótico polipeptídico, isto é, da classe das polimixinas, também é conhecido como polimixina E. É considerada como um dos últimos recursos terapêuticos em infecções por microrganismos multirresistentes, por esse motivo, o surgimento de cepas resistentes a ação desse composto representa grave ameaça à saúde pública. Seu mecanismo de ação se dá pela alteração da permeabilidade celular, através da ligação entre moléculas de lipídios A aniônicos de Gram-negativas, levando ao extravasamento celular e, conseqüentemente, à lise (Andrade *et al.*, 2020). No entanto, a colistina é considerada nefrotóxica e neurotóxica, razão pela qual limita sua utilização em hospitais (Gogry *et al.*, 2021).

3.5.6.2 Polimixina B

São antibióticos polipeptídicos catiônicos, que causam morte celular bacteriana através da sua ligação com o lipídeo A dos lipopolissacarídeos presentes na membrana celular das bactérias Gram-negativas, desse modo, as polimixinas são ineficazes para Gram-positivas (Hancock, 1997; Clausell *et al.*, 2007; Meredith *et al.*, 2009). Esse processo leva a um aumento da permeabilidade da membrana celular bacteriana, extravasamento de constituintes celulares e conseqüentemente, lise celular (Velkov *et al.*, 2010; Yun *et al.*, 2018).

3.6 *TABEBUIA AVELLANEDAE* LOR. EX *GRISEB.* (BIGNONIACEAE)

Esta árvore possui várias denominações na medicina popular devido às suas propriedades medicinais e à sua ampla distribuição geográfica na América do Sul. O Ipê-Roxo, Pau D'Arco ou Lapacho é valorizado por suas propriedades medicinais e tem sido usado tradicionalmente para tratar uma variedade de condições de saúde. Suas características e usos podem variar entre diferentes regiões e culturas na América do Sul (Lorenzi; Matos, 2002).

O Brasil representa o centro da diversidade dessa família, abrigando 56 gêneros e cerca de 340 espécies, incluindo muitos táxons endêmicos. As espécies de Bignoniaceae são

encontradas em uma variedade de ambientes, desde o Cerrado até florestas tropicais, tornando-a principal família de lianas nas florestas brasileiras. As espécies desse grupo, como os jacarandás (*Jacaranda brasiliana*) e os ipês amarelos e roxos (*Tabebuia alba* e *Tabebuia avellanedae*), são os exemplos mais representativos da família e estão distribuídas em regiões tropicais em todo o mundo, embora sejam mais comuns no continente americano (Bramara *et al.*, 2017).

Esta árvore atinge uma altura de 20 a 35 metros e possui uma casca grossa de cor marrom escura, com fissuras longitudinais finas e espaçadas. Suas ramificações são robustas e sinuosas, formando uma copa ampla com folhagem verde-escura esparsa. As folhas são digitadas, coriáceas, sem pelos, com margens serrilhadas e compostas por 5 folíolos desiguais. Suas flores têm tonalidades que variam de rosa a violeta e desabrocham entre agosto e meados de setembro. O fruto é uma sílica deiscente, coriácea e pontilhada, com aproximadamente 25 a 30 centímetros de comprimento. As sementes são retangulares e aladas, o que facilita seu transporte pelo vento (Lorenzi; Matos, 2002).

Dentre as espécies catalogadas, destacam-se o Ipê-roxo (*Tabebuia avellanedae*) Lord (Figura 6), cujas flores podem ser encontradas nas cores roxas, rosas ou lilás. Esta espécie possui diversos sinônimos científicos, incluindo *Tabebuia ipê* (Martius), *Tecoma curialis* (Freire), *Tecoma violaceae* (Hub), *Tecoma ipê* (Martius), bem como as espécies relacionadas *Tabebuia impetiginosa* (Martius) e *Tabebuia serratifolia* (Vahl). Essas espécies compartilham características semelhantes, componentes químicos, propriedades farmacológicas e são amplamente utilizadas na medicina popular (Panizza, 1997).

Figura 6. Ipês roxo e branco.



Fonte: Adaptado Ferreira *et al.*, 2010.

A denominação conhecida entre os índios do pau d'arco em Tupi; rorot, deve-se a utilização para preparo de arcos e bодоques, devido à sua resistência e durabilidade. Os efeitos conhecidos do Ipê para tratar diversas doenças, consagrou sua utilização na cultura Indígena (Lorenzi; Matos, 2002).

Na região amazônica, as populações indígenas costumavam preparar infusões das cascas secas para tratar uma variedade de condições de saúde, incluindo anemia, malária, colite, doenças respiratórias, distúrbios gastrintestinais, resfriados, infecções fúngicas, febres, artrite e reumatismo, picadas de cobras, problemas circulatórios, sífilis e câncer (Almeida, 2009).

As naftoquinonas do Ipê-roxo, como o lapachol e a β -lapachona, foram objeto de estudos pioneiros realizados pelo Instituto de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) na metade do século passado. As pesquisas iniciais *in vitro* com essas quinonas do Ipê-roxo revelaram uma gama de atividades, incluindo propriedades antitumorais, antiúlcera, anti-inflamatórias e antifúngicas, com ênfase especial em seu potencial antitumoral e antimicrobiano (Santana *et al.*, 1968).

Além do lapachol, várias naftoquinonas e antraquinonas foram isoladas de *Tabebuia avellanedae* Lor. ex Griseb (*Bignoniaceae*) e de outras espécies. Entre as naftoquinonas,

destacam-se a menaquinona-1, α -lapachol, β -lapachol, desoxilapachol, xiloidona, e lapachenol. As antraquinonas incluem a 2-metilantraquinona (tectoquinona), 2-aldeído-antraquinona, 2-carboxiantraquinona, 2-hidro-3-metilantraquinona, 1-hidroxiantraquinona, 1-metoxiantraquinona, 2-hidroximetilantraquinona, 2-acetoximetilantraquinona e tabebuína. Também foram identificados compostos como quercetina, ácido orto-hidroxibenzóico e para-hidroxibenzóico. A presença de filoquinona (vitamina K) foi registrada apenas nas folhas desta planta. As substâncias mais estudadas nesta espécie incluem o lapachol, seus isômeros α -lapachona e β -lapachona, e a xiloidona (desidro- α -lapachona), todos conhecidos por suas atividades biológicas (Burnett; Thomson, 1967).

Tabebuia avellanadae possui um amplo espectro de ação contra várias infecções cutâneas causadas por microrganismos. Diversos estudos demonstraram uma forte atividade *in vitro* contra uma variedade de bactérias, fungos filamentosos e leveduras, destacando-se sua eficácia contra *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Brucella spp.* e *Helicobacter pylori* (Futuro *et al.*, 2018).

Em estudos que avaliaram a atividade antimicrobiana de extratos de 54 plantas conhecidas por suas propriedades antimicrobianas, o Ipê-roxo demonstrou a mais alta atividade em comparação com os extratos das outras plantas estudadas. O extrato aquoso da casca de Ipê-roxo demonstrou capacidade de inibir diversas bactérias Gram-negativas, incluindo os gêneros *Haemophilus*, *Moraxella*, *Campylobacter* e *Helicobacter* (Nagata *et al.*, 1998).

3.6.1 Quinonas

As quinonas são uma categoria de compostos orgânicos que se caracterizam por conter dois grupos carbonila, os quais podem estar posicionados próximos ou separados, frequentemente encontrados em anéis insaturados de seis átomos. Esses compostos compõem uma vasta e variada família de metabólitos naturalmente distribuídos na natureza (Subhasmita *et al.*, 2022).

Além de serem amplamente distribuídos no ambiente, esses compostos desempenham papéis essenciais na bioquímica celular, exibindo uma atividade biológica devido à sua capacidade de oxidação e redução. Entre esses compostos, as ubiquinonas e as plastoquinonas desempenham funções vitais no ciclo de vida dos organismos, atuando como moléculas

móveis no transporte de elétrons durante os processos de respiração e fotossíntese. Elas desempenham múltiplos papéis nos sistemas enzimáticos, servindo como cofatores essenciais para uma variedade de reações metabólicas (Balachandran *et al.*, 2021).

Como cofatores, as quinonas desempenham um papel semelhante à vitamina K na coagulação sanguínea. Quanto à sua estrutura molecular, elas podem ser agrupadas em diferentes categorias com base no tipo de sistema aromático presente no anel quinonoide: Benzoquinonas, que apresentam um anel benzênico; Naftoquinonas, com um anel naftalênico; e Antraquinonas, que podem ter um anel antracênico linear ou angular (Badave *et al.*, 2020). Houve um crescente interesse nessas substâncias, impulsionado pela sua relevância nos processos bioquímicos essenciais, bem como pela descoberta de diversas atividades terapêuticas de estudos farmacológicos (Gomes *et al.*, 2021).

3.6.2 Naftoquinonas

As naftoquinonas são compostos importantes tanto na química quanto na farmacologia. As análises fitoquímicas da madeira do Ipê-roxo identificaram as naftoquinonas como os principais componentes, com ênfase no lapachol, que é amplamente reconhecido como um dos representantes mais importantes do grupo das quinonas. Além disso, seus principais derivados, a β -lapachona e a α -lapachona, também são de grande interesse e relevância (Futuro *et al.*, 2018).

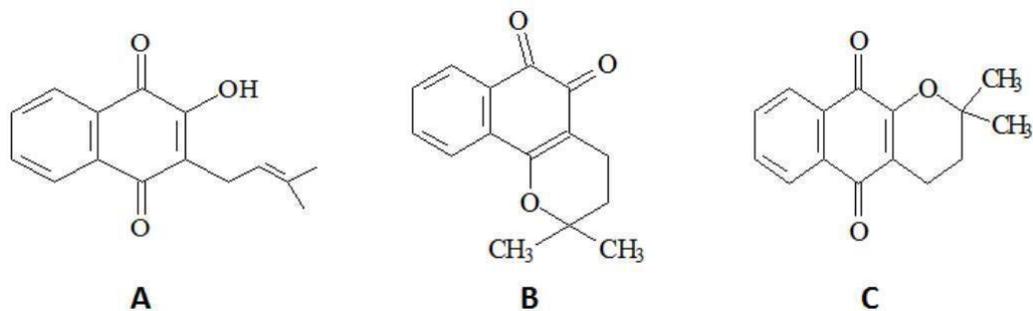
O lapachol (Figura 7.A) é uma substância que vem sendo estudada há muito tempo, remontando ao século passado. Sua descoberta inicial ocorreu em 1882, sendo que sua estrutura química foi completamente elucidada em 1896 por Hooker. Ele foi identificado como uma naftoquinona com a fórmula 2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftalenodiona, com peso molecular de 242,26 g/mol. Este composto cristaliza em prismas e possui uma fórmula química $C_{15}H_{14}O_3$, com ponto de fusão na faixa de 139,5 a 140,2°C. Quando submetido ao calor controlado, o lapachol passa por transformações, dando origem à desidrolapachona (xiloidona) e aos isômeros α - e β -lapachona (Chang *et al.*, 2022).

A α -lapachona (Figura 7.C) é uma naftoquinona que é derivada do lapachol, um dos metabólitos encontrados na espécie vegetal *Tabebuia avellanadae*. Essa substância possui propriedades que têm despertado interesse na pesquisa científica (Hussain; Green, 2017).

A β -lapachona (Figura 7.B) é uma naftoquinona que ocorre como um componente

minoritário em extratos da casca do caule da árvore Ipê-roxo (*Tabebuia avellanediae*). A produção em larga escala dessa substância é realizada por meio da ciclização ácida do lapachol, um composto natural mais abundante nos extratos de Ipê-roxo. A β -lapachona tem sido extensivamente estudada devido ao seu potencial farmacológico em relação a diversas doenças. Essa molécula demonstra diversas atividades farmacológicas, incluindo antitumoral, moluscicida, antiulcerante, anti-inflamatória, antifúngica e antiprotozoária, mas se destaca principalmente por suas propriedades antitumorais e antimicrobianas (Gomes *et al.*, 2021).

Figura 7: Estrutura química dolapachol (A), β -lapachona (B) e α -lapachona (C).



Fonte: Adaptado de Gomes *et al.*, 2021.

3.6.3 Atividade Antimicrobiana das Naftoquinonas

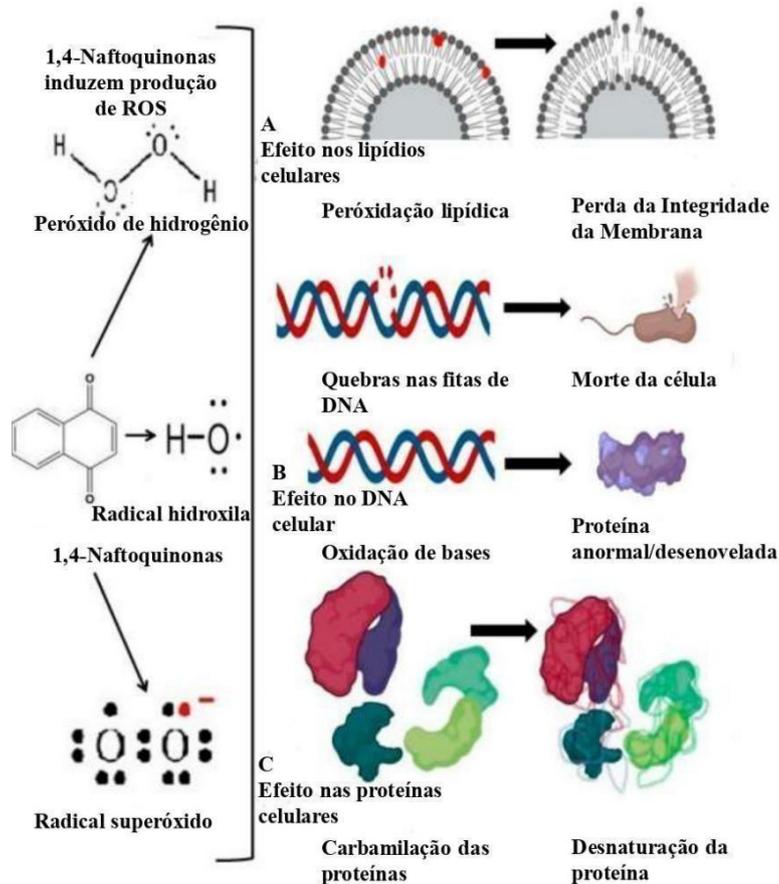
Desde os primeiros estudos conduzidos por Oswaldo G. de Lima e sua equipe (1962), a atividade antibiótica do lapachol tem sido investigada. Foi observado que o lapachol exibe uma atividade predominante contra certos microrganismos Gram-positivos e ácido-resistentes, enquanto sua eficácia contra Gram-negativos é geralmente baixa, com a exceção do gênero *Brucella*. Além disso, esses pesquisadores constataram que, à medida que o lapachol é purificado em maior grau, sua atividade antimicrobiana diminui progressivamente. Isso pode ser explicado pelo fato de que outras naftoquinonas presentes junto com o lapachol também possuem atividade antimicrobiana (Macedo *et al.*, 2013).

Em um estudo realizado por Guiraud e sua equipe em 1994, foi conduzida uma comparação entre a atividade bactericida e fungicida do lapachol e da β -lapachona, com a determinação das concentrações inibitórias mínimas. Os resultados revelaram que a β -lapachona demonstrou uma eficácia antimicrobiana superior em comparação com o lapachol, corroborando os achados previamente relatados por Gonçalves de Lima e colegas em 1962. Além disso, observou-se que os fungos eram mais sensíveis às substâncias testadas do que as

bactérias, com destaque para a β -lapachona. Tanto o lapachol quanto a β -lapachona exibiram atividade mais pronunciada em comparação com o cetoconazol, um agente antifúngico de referência.

O mecanismo de ação das naftoquinonas ($C_{10}H_6O_2$) é semelhante a outras quinonas, como a benzoquinona e a antraquinona, por possuírem um sistema eletrônico conjugado que pode participar de reações químicas transportando elétrons para outras moléculas (Lee *et al.*, 2019). Essas reações podem resultar na geração de radicais livres, incluindo radicais de oxigênio altamente ativos denominados espécies reativas de oxigênio (ROS) (Bardaweel *et al.*, 2018). A produção de (ROS) ocorre quando as quinonas são reduzidas a semiquinonas e, posteriormente, a hidroquinonas por reduções de um ou dois elétrons através de diferentes enzimas. Enquanto as ROS, em níveis intracelulares baixos e altamente regulados, contribuem para a função normal de sinalização celular, o excesso delas desempenha um papel importante na lesão de componentes celulares como proteínas, lipídios e ácidos nucleicos (None *et al.*, 2021).

Figura 8. Mecanismo de ação das Naftoquinonas.



Fonte: Adaptado de Mone *et al.*, 2021.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MICRORGANISMOS E PREPARAÇÃO DO INOCULO

De acordo com a tabela 1, culturas de estoque de *Acinetobacter baumannii* foram mantidas no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Microrganismos (LFBM) e selecionadas com base no fenótipo de resistência previamente avaliado aos antibióticos, amicacina, ciprofloxacino, gentamicina, imipenem, levofloxacino, meropenem, trimetoprim/sulfametoxazol. Essas cepas foram isoladas de diversas amostras de secreção clínica, como traqueal (LFBM 01, LFBM07, LFBM15), ponta de cateter (LFBM 19), ferida (LFBM 06, LFBM 09, LFBM 21), e as cepas de cultura de vigilância (LFBM 02, LFBM 14). Essas cepas foram identificados pelo sistema automatizado Phoenix TM BD e a cepa ATCC - *American Type Culture Collection* 19606 de *Acinetobacter baumannii* foi incluída neste estudo como cepa controle para estudos de resistência a antibióticos e patogênese de *A. baumannii*.

Tabela 1. Origem do Isolamento e fenótipo de resistência denove cepas de *Acinetobacter baumannii*

Microrganismos	Origem	^a Fenótipo de Resistência	Interpretação	Comentários
LFBM 01	Secreção Taqueal	AMI;CIP;GEN;IMI;LEV;MER; TMP-SMX	R	Produtor de Carbapenemase
LFBM 02	Cultura de vigilância	CIP;IMI;LEV;MER;TMP-SMX	R	
LFBM 06	Ferida	AMI;CIP;COL;IMI;LEV;MER; TMP-SMX	R	Produtor de Carbapenemase e Metallo Beta-Lactamase
LFBM 07	Secreção Taqueal	AMI;CIP;GEN;IMI;LEV;MER; TMP-SMX	R	Produtor de Carbapenemase e Metallo Beta-Lactamase
LFBM 09	Ferida	AMI;CIP;GEN;IMI;LEV;MER; TMP-SMX	R	Produtor de Carbapenemase
LFBM 14	Cultura de vigilância	AMI;CIP;GEN;IMI;LEV;MER; TMP-SMX	R	Produtor de Carbapenemase
LFBM 15	Secreção Taqueal	AMI;CIP;GEN;IMI;LEV;MER	R	Potencial Produtor de Carbapenemase e Metallo-Beta-Lactamase
LFBM 19	Ponta de Cateter	AMI;CIP;GEN;IMI;LEV;MER; TMP-SMX	R	Produtor de Metallo-Beta-Lactamase
LFBM 21	Ferida	AMI;CIP;GEN;IMI;LEV;MER; TMP-SMX	R	Potencial Produtor de Carbapenemase e Metallo-Beta-Lactamase

Legenda: LFBM – Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Microrganismos do Departamento de Antibióticos da UFPE; R: Resistente; AMI: Amicacina; CIP: Ciprofloxacino; GEN: Gentamicina; IMI: Imipenem; LEV; Levofloxacino; MER: Meropenem; TMP-SMX: Sulfametoxazol-trimetoprima. ^afenótipo de resistência detectado pelo Bactec 9120 Phoenix DB.

4.1.1 Culturas de *Acinetobacter baumannii* e preservação

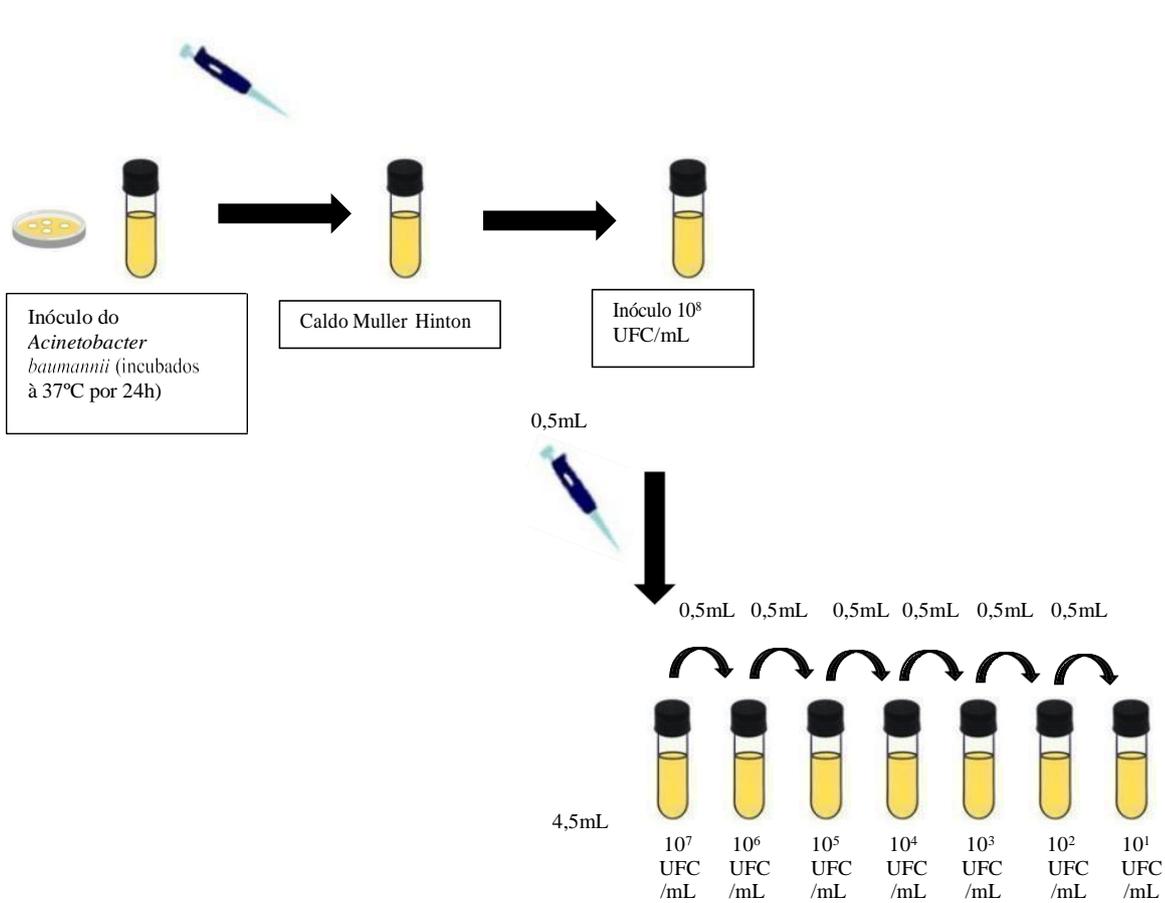
As cepas de *Acinetobacter baumannii* foram inoculadas em caldo Mueller Hinton (MH) e incubadas a 37°C por 24 h. Após esse período, cada cultura foi semeada em Ágar Mueller Hinton (AMH) de forma a obter colônias isoladas. Essas colônias foram semeadas em frasco de vidro contendo Ágar Mueller Hinton inclinado e incubadas sob as mesmas condições.

Cultura de *Acinetobacter baumannii* verificado na superfície da inclinação do AMH e adicionado assepticamente, óleo mineral (Biodinâmica®) esterilizado a fim de cobrir toda a extensão do crescimento bacteriano. Os frascos foram selados com lacre de alumínio e armazenados a 4°C em recipientes plásticos.

4.1.2 Padronização do inóculo

A preparação dos inóculos foi realizada de acordo com a metodologia descrita pelo *Clinical Laboratory Standard Institute* (CLSI 2023). Cada cepa de teste foi cultivada em Ágar Mueller-Hinton (MHA) e incubada a 37°C por 24 horas. Colônias isoladas foram selecionadas e inoculadas em caldo Mueller-Hinton até obter turbidez comparável à do padrão 0,5 McFarland, o que equivale a uma contagem bacteriana de aproximadamente 10^8 UFC/mL. Em seguida, a suspensão bacteriana foi diluída em solução salina até obter um inóculo final de 10^6 UFC/mL (Figura 9).

Figura 9: Padronização do inóculo do *Acinetobacter baumannii*.



Fonte: Adaptado do autor (2024).

4.2 ANTIBIÓTICOS E NAFTOQUINONAS

O lapachol foi extraído da serragem de *Tabebuia avellanadae*. A extração do lapachol e a síntese da β -lapachona foram realizadas no Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco-Brasil, conforme metodologia descrita por Lima *et al.* (1962).

Os antibióticos ampicilina/sulbactam (AMS), cefepima (CEF); ciprofloxacino (CIP), gentamicina (GEN), meropenem (MER) e polimixina B (POL) foram fornecidos pela ABL antibióticos, Brasil. A resistência foi definida para cada composto de acordo com os critérios estabelecidos pelo CLSI, 2023.

A β -lapachona e o lapachol foram solubilizadas em Etanol/Tween 80[®]/H₂O (1,0/0,5/8,5) enquanto os antimicrobianos foram solubilizados em água. Estas soluções estoques de concentração foram esterilizadas por filtração através de uma membrana com porosidade de 0,22 μ m. Solução controle contendo Etanol/Tween80[®]/H₂O (1,0/0,5/8,5) foi incluída neste experimento para excluir a possibilidade de efeitos tóxicos nos microrganismos.

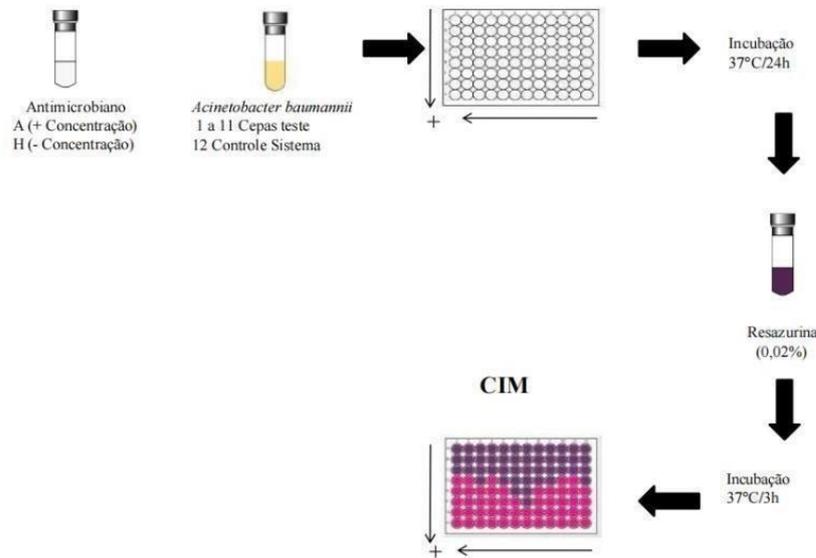
4.3 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA E CONCENTRAÇÃO BACTERICIDA MÍNIMA

O teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinado pelo método de microdiluição em caldo, seguindo as recomendações estabelecidas pelo CLSI, 2023 com algumas modificações (Figura 10). Diluições em série de β -lapachona, lapachol e antibióticos foram preparadas em microplacas estéreis de 96 poços contendo caldo Mueller Hinton (MHB) para obter concentrações variando de 1.024-0,25 μ g/mL.

As suspensões bacterianas foram inoculadas para dar uma concentração final de 10^4 UFC/poço. As microplacas foram incubadas a 37° C por 24 horas. A CIM foi relatada como a menor concentração de antimicrobianos que inibiu o crescimento bacteriano após 24h de incubação a 37°C. Alíquotas (10 μ L) foram pipetadas dos poços onde o crescimento não foi observado e semeadas em ágar Mueller-Hinton. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. A Concentração Bactericida Mínima (CBM) foi definida como a menor concentração do agente antimicrobiano capaz de matar 99,9% do inóculo inicial. Todos os experimentos foram realizados em duplicata em dois dias diferentes.

A partir dos resultados foi escolhido a naftoquina de maior atividade antimicrobiana.

Figura 10. Esquema da metodologia para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) das naftoquinonas e antimicrobianos frente a *Acinetobacter baumannii*.



Fonte: Adaptado do autor (2024).

4.4 CRITÉRIOS DE INTERPRETAÇÃO

Para resistência de cepas *Acinetobacter baumannii* foi definido para cada antimicrobiano utilizado nesse trabalho tendo por base no que preconiza o *Clinical and Laboratory Standards Institute* (2023) descritos na tabela 2. E o critério para a naftoquinona foi definido a partir dos resultados e escolhida a de maior atividade.

Tabela 2 – Critérios de interpretação dos valores de Concentração Inibitória Mínima para caracterização de *Acinetobacter spp.* como resistentes

Antimicrobianos	Limite dos valores da CIM (<i>Breakpoint</i>)
Ampicilina/Subactam	CIM \geq 32/16 μ g/mL
Gentamicina	CIM \geq 16 μ g/mL
Meropenem	CIM \geq 8 μ g/mL
Ciprofloxacino	CIM \geq 4 μ g/mL
Cefepima	CIM \geq 32 μ g/mL
Polimixina B	CIM \geq 4 μ g/mL

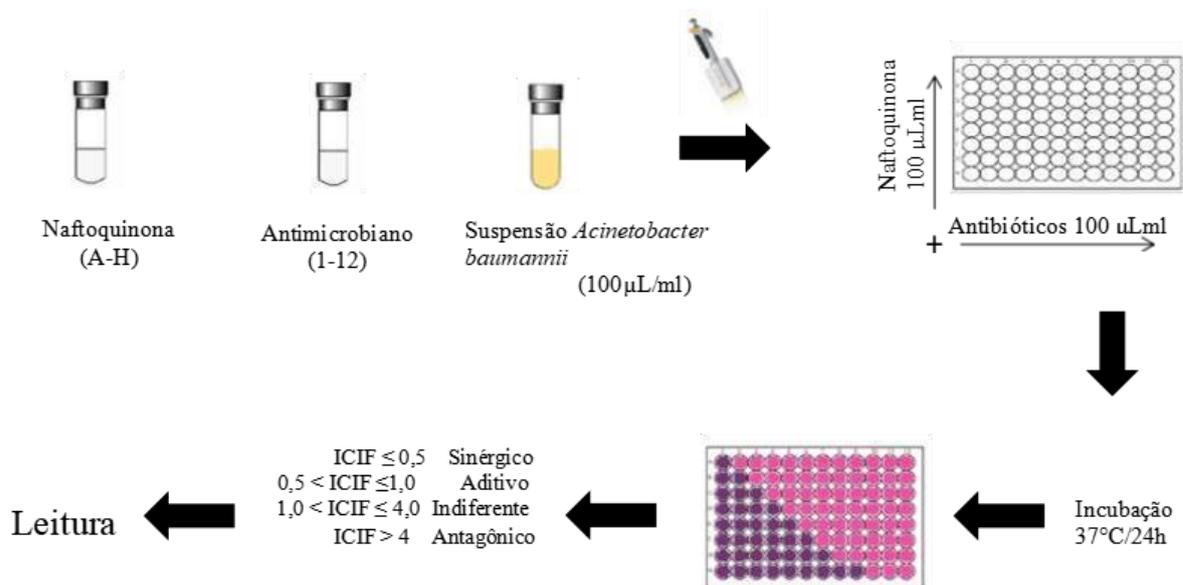
Fonte: CLSI,2023.

4.5 ASSOCIAÇÃO DA β -LAPACHONA AOS ANTIBIÓTICOS CONVENCIONAIS

A atividade antimicrobiana das associações entre β -lapachona e os antimicrobianos foi realizada pelo método do tabuleiro de xadrez (*Checkerboard*) (LORIAN, 1991). Diluições da β -lapachona e antimicrobianos foram realizadas em caldo Mueller-Hinton de modo a obter concentrações sub-inibitórias que variaram de 1/2 a 1/256 da CIM e de 1/2 a 1/512 da CIM para β -lapachona e antimicrobianos, respectivamente.

Dessas soluções, 100 μ L de cada concentração das drogas foram transferidos para os poços da microplacas de 96 poços. Os antimicrobianos foram distribuídos no sentido da coluna 1 (mais concentrado) a coluna 12 (menos concentrado). A β -lapachona, foi distribuída no sentido da linha H (mais concentrada) a linha A (menos concentrada). Para cada poço foram pipetados 100 μ L das suspensões bacterianas (10^4 UFC/poço). As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas.

Figura 11. Associações entre β -lapachona e os antimicrobianos pelo método do tabuleiro de xadrez (*Checkerboard*)



Fonte: Adaptado do Autor (2024).

4.5.1 Critérios de Interpretação

Os dados foram interpretados a partir dos valores do Índice da Concentração Inibitória Fracionada (ICIF) obtido pela seguinte equação:

$$\mathbf{ICIF = CIF_A + CFI_B} \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde,

$$\mathbf{CIF_A = \frac{CIM \text{ da } \beta\text{-Lapachona (A) em associação com antimicrobiano}}{CIM \beta\text{-Lapachona (A)}}} \quad (\text{Eq. 2})$$

$$\mathbf{CIF_B = \frac{CIM \text{ do antimicrobiano (B) em associação com } \beta\text{-Lapachona}}{CIM \text{ antimicrobiano (B)}}} \quad (\text{Eq. 3})$$

A partir dos valores de ICIF obtido nas associações foi possível classificar o tipo de interação entre a β -lapachona/antimicrobianos, observado na tabela 3:

Tabela 3 – Critérios de classificação dos valores de ICIF

ICIF	Classificação das interações
ICIF \leq 0,5	Sinérgico
0,5 < ICIF \leq 1,0	Aditivo
1,0 < ICIF \leq 4,0	Indiferente
ICIF > 4,0	Antagônica

Fonte: Azzam, 2020.

4.5.1.1 Sinergismo

Sinergismo é um tipo de resposta farmacológica obtida a partir da associação de dois ou mais medicamentos, cuja resultante é maior do que simples soma dos efeitos isolados de cada um deles. O efeito antagônico ocorre quando uma resposta farmacológica de um medicamento ou substância é suprimida ou reduzida na presença de outro, enquanto que o de adição é o efeito final definido pela soma dos efeitos dos medicamentos ou substâncias isoladas. Efeito indiferente ocorre quando da associação de dois medicamentos, o mecanismo de ação de um não interfere no mecanismo de ação do outro (Herrerias *et al.*, 2024).

4.5.1.2 Isoblograma

A representação gráfica das doses isoladas e em associação que causam 50% (ou outro percentual) de efeito (I50) de dois agentes químicos é chamada de isoblograma. A descrição da ação conjunta de dois produtos por esse método permite que os princípios e problemas ligados à análise de associações possam ser claramente percebidos (Ezechiáš, 2021).

O isobole é um gráfico em coordenadas cartesianas cujos eixos são as doses dos respectivos fármacos. O gráfico consiste em uma linha ou uma curva que representa pares de doses, usadas em conjunto, que dão um nível de efeito especificado se as drogas agirem de forma independente (Lederer *et al.*, 2019).

Todos os pontos na isóbole representam pares de doses que se espera que dêem o efeito especificado quando não houver interação. Nesse caso, esta combinação de dose observada é teoricamente um ponto na isóbole ou não significativamente fora da isóbole. Se esse ponto observado não estiver tocando e abaixo da isóbole, há sinergismo, se estiver tocando ou acima da isóbole é aditivo (Tallarida, 2012).

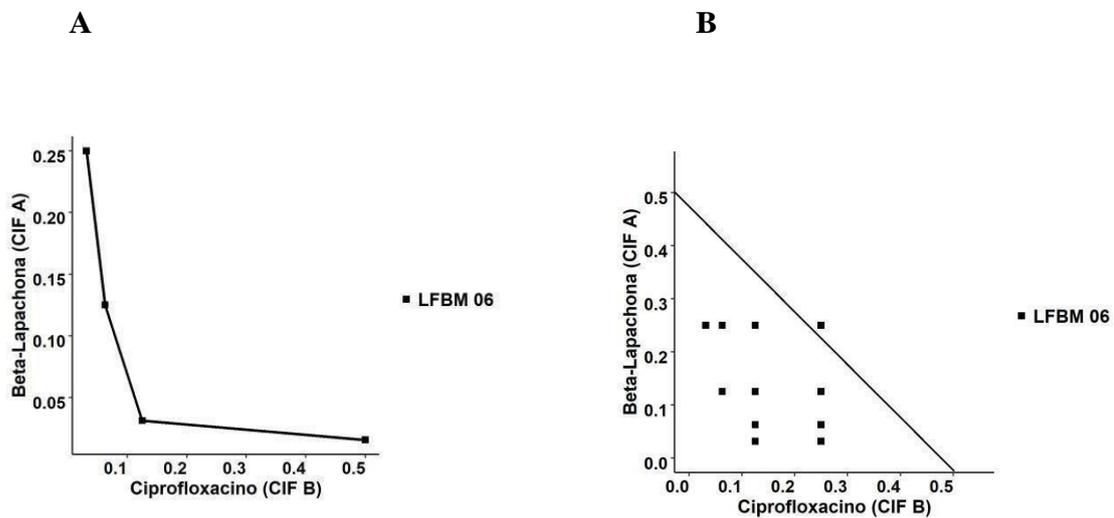


Figura 12. A) Isoblograma representando a interação entre β -lapachona e Ciprofloxacino, frente a *Acinetobacter baumannii*. A curva côncava indica sinergia; B). Gráfico de dispersão com ponto acima da reta indica aditivo.

5 RESULTADOS

5.1 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Bactericida Mínima (CMB) da β -lapachona e dos antimicrobianos frente as nove cepas clínicas de *Acinetobacter baumannii* e a cepa padrão ATCC 19606 estão apresentados na tabela 4.

Para a classificação da suscetibilidade destes microrganismos, os antimicrobianos foram utilizados os critérios descritos pelo *Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI)* 2023, exceto para a β -lapachona. A cepa ATCC 19606 foi utilizada como cepa modelo, pois é referência em pesquisas sobre resistência antimicrobiana, regulação transcricional e virulência tanto *in vitro* quanto *in vivo* (Artuso *et al.*, 2022).

O lapachol e a β -lapachona apresentaram valores tanto para Concentração Inibitória Mínima (CIM) quanto para Concentração Bactericida Mínima (CMB) iguais a 1.024 $\mu\text{g/mL}$ e 512 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, para as dez cepas avaliadas nesse estudo.

Todas as cepas de *Acinetobacter baumannii* mostraram ser sensíveis a Polimixina B, cujos valores de CIM foram igual a 0,5. Desse modo, esse perfil de sensibilidade direcionou a exclusão desse antimicrobiano para o estudo da interação sinérgica.

Todas as cepas de *Acinetobacter baumannii* foram resistentes ao ciprofloxacino, exceto a cepa padrão ATCC19606 e ao meropenem.

Apenas as cepas ATCC 19606, LFBM 06, LFBM 09 e LFBM 21 mostraram ser sensíveis à ampicilina/sulbactam, ATCC 19606 à cefepima e ciprofloxacino e a cepa LFBM 06 à gentamicina.

Tabela 4. Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima de naftoquinonas e antimicrobianos convencionais frente a cepas de *Acinetobacter baumannii* multirresistentes

<i>Acinetobacter baumannii</i>	CIM/CBM($\mu\text{g/ml}$)							
	AMS	CEF	CIP	GET	MER	POL B	LAP	β -LAP
ATCC 19606	8.0	8.0	1.0	32	64	0.5	1024	512
LFBM 01	64	128	128	64	128	0.5	1024	512
LFBM 02	64	128	128	64	128	0.5	1024	512
LFBM 06	8.0	32	128	2.0	64	0.5	1024	512
LFBM 07	16	32	128	64	128	0.5	1024	512
LFBM 09	4.0	32	64	8.0	128	0.5	1024	512
LFBM 14	32	128	128	8.0	128	0.5	1024	512
LFBM 15	16	32	64	32	64	0.5	1024	512
LFBM 19	32	16	128	32	128	0.5	1024	512
LFBM 21	8.0	64	64	64	64	0.5	1024	512

CIM: Concentração Inibitória Mínima; CBM: Concentração Inibitória Mínima; ATCC: Coleção de Cultura Tipo Americana; LFBM: Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Microrganismos; AMS: ampicilina/sulbactam; CEF: cefepima; CIP: ciprofloxacino; GEN: gentamicina; MER: meropenem; POL B: polimixina B; LAP: lapachol; β -LAP: β -lapachona.

5.2 ASSOCIAÇÃO β -LAPACHONA-ANTIMICROBIANOS

A atividade da associação, através da técnica do Tabuleiro de xadrez (*Checkboard*), foi realizada com a β -lapachona e antimicrobianos frente a cepas do *Acinetobacter baumannii* estão apresentadas na tabela 5.

Concentrações sub-inibidoras da β -lapachona aumentaram a atividade antimicrobiana de todos os antimicrobianos comerciais. Individualmente estas drogas mostraram uma atividade moderada ou nenhuma atividade. Entretanto, interações sinérgicas foram observadas para as combinações de β -lapachona com: ampicilina/sulbactam (ICIF = 0,13 a 0,24); cefepima (ICIF = 0,06 a 0,51), ciprofloxacino (ICIF = 0,06 a 0,37); gentamicina (ICIF = 0,07 a 0,31); meropenem (ICIF = 0,09 a 0,53); frente às dez cepas de *Acinetobacter baumannii*.

Nas associações, a atividade sinérgica foi detectada por um decréscimo dos valores da CIM, dos antimicrobianos que variou de três a cinco vezes e por um ICIF $\leq 0,5$.

A combinação da β -lapachona e gentamicina mostrou os mais baixos valores do ICIF, cujos valores variaram de 0,07 a 0,31.

A associação da β -lapachona com a meropenem também foi eficaz apresentando valores do ICIF que variaram de 0,09 a 0,53. Esta associação foi capaz de reduzir o CIM individual de 87,5% a 96,9 %, quando os antimicrobianos foram combinados.

Para a fluoroquinolona, ciprofloxacino, esta associação também foi eficaz, apresentando um FICI de 0,06 a 0,37; Reduzindo o CIM individual dos agentes de 87,5 a 96,7%. Para a cefepima, esta associação também foi eficaz, apresentando um ICIF de 0,06 a 0,50; Reduzindo o CIM individual dos antibióticos de 50 a 96,9%.

As associações da ampicilina/sulbactam apresentaram os maiores valores do ICIF, cujos valores variaram de 0,13 a 0,24. No entanto apesar dos valores do ICIF serem maiores, estas associações também apresentaram perfil sinérgico, sendo capazes de reduzir os valores do CIM individual de 87,5%.

Os valores de ICIF variaram de 0,06 a 0,50, sugerindo uma interação sinérgica frente as cepas de *Acinetobacter baumannii* multidroga resistentes. Um efeito aditivo foi observado para a associação β -lapachona-cefepima e β -lapachona-meropenem para as cepas LFBM 06 e LFBM 21, respectivamente.

Embora algumas associações (β -lapachona-ciprofloxacino na cepa LFBM 15) tenham apresentado percentual de redução na Concentração Inibitória Mínima mais que 93,7%, não conseguiram reverter a resistência bacteriana.

Tabela 5. Associação da β -Lapachona e antimicrobianos frente a *Acinetobacter baumannii*

<i>Acinetobacter baumannii</i>	Associação	CIM Individual ($\mu\text{g/mL}$)	CIM da Associação ($\mu\text{g/mL}$)	CIF Individual	CIF Índice (ICIF)	Efeito	Redução CIM%
ATCC 19606	β -Lap/AMS	512/8,0	32/1,0	0,06/0,12	0,18	Sinérgico	93,7/87,5
	β -Lap/CEF	512/8,0	64/0,5	0,12/0,06	0,18	Sinérgico	87,5/93,7
	β -Lap/CIP	512/1,0	64/0,125	0,12/0,12	0,24	Sinérgico	87,5/87,5
	β -Lap/GEN	512/32	8,0/2,0	0,01/0,06	0,07	Sinérgico	98,4/93,7
	β -Lap/MER	512/64	8,0/8,0	0,01/0,12	0,13	Sinérgico	98,4/87,5
LFBM 01	β -Lap/AMS	512/64	64/8,0*	0,12/0,12	0,24	Sinérgico	87,5/87,5
	β -Lap/CEF	512/128	16/8,0*	0,03/0,06	0,09	Sinérgico	96,9/93,7
	β -Lap/CIP	512/128	64/8,0	0,12/0,06	0,18	Sinérgico	87,5/93,7
	β -Lap/GEN	512/64	64/8,0*	0,12/0,12	0,24	Sinérgico	87,5/87,5
	β -Lap/MER	512/128	64/8,0	0,12/0,06	0,18	Sinérgico	87,5/93,7
LFBM 02	β -Lap/AMS	512/64	64/8,0*	0,12/0,12	0,24	Sinérgico	87,5/87,5
	β -Lap/CEF	512/128	16/16*	0,03/0,12	0,15	Sinérgico	96,9/87,5
	β -Lap/CIP	512/128	128/16	0,25/0,12	0,37	Sinérgico	75,0/87,5
	β -Lap/GEN	512/64	64/4,0*	0,12/0,06	0,18	Sinérgico	87,5/93,7
	β -Lap/MER	512/128	128/4,0*	0,25/0,03	0,28	Sinérgico	75,0/96,7
LFBM 06	β -Lap/AMS	512/8,0	64/1,0*	0,12/0,12	0,24	Sinérgico	87,5/87,5
	β -Lap/CEF	512/32	8,0/16*	0,01/0,50	0,51	Aditivo	98,4/50,0
	β -Lap/CIP	512/128	16/16	0,03/0,12	0,18	Sinérgico	96,9/87,5
	β -Lap/GEN	512/2,0	64/0,0625	0,12/0,03	0,15	Sinérgico	87,5/96,9
	β -Lap/MER	512/64	32/2,0	0,06/0,03	0,09	Sinérgico	87,5/96,9
LFBM 07	β -Lap/AMS	512/16	64/2,0*	0,12/0,12	0,24	Sinérgico	87,5/87,5
	β -Lap/CEF	512/32	16/1,0*	0,03/0,03	0,06	Sinérgico	96,9/96,9
	β -Lap/CIP	512/128	64/8,0	0,12/0,06	0,18	Sinérgico	87,5/93,7
	β -Lap/GEN	512/64	16/8,0*	0,03/0,12	0,15	Sinérgico	96,9/87,5
	β -Lap/MER	512/128	64/16	0,12/0,12	0,24	Sinérgico	87,5/87,5
LFBM 09	β -Lap/AMS	512/4,0	8,0/0,5	0,01/0,12	0,13	Sinérgico	98,4/87,5
	β -Lap/CEF	512/32	32/2,0*	0,06/0,06	0,12	Sinérgico	93,7/93,7
	β -Lap/CIP	512/64	32/2,0*	0,06/0,03	0,09	Sinérgico	93,7/93,7
	β -Lap/GEN	512/8,0	8,0/0,5	0,01/0,06	0,07	Sinérgico	98,4/93,7
	β -Lap/MER	512/128	64/4,0*	0,12/0,03	0,15	Sinérgico	87,5/96,7
LFBM 14	β -Lap/AMS	512/32	32/4,0*	0,06/0,12	0,18	Sinérgico	93,7/87,5
	β -Lap/CEF	512/128	64/16*	0,12/0,12	0,24	Sinérgico	87,5/87,5
	β -Lap/CIP	512/128	64/16	0,12/0,12	0,24	Sinérgico	87,5/87,5
	β -Lap/GEN	512/8,0	32/0,5	0,06/0,06	0,12	Sinérgico	93,7/93,7
	β -Lap/MER	512/128	32/16	0,06/0,12	0,18	Sinérgico	93,7/87,5

LFBM 15	β -Lap/AMS	512/16	32/2,0	0,06/0,12	0,18	Sinérgico	93,7/87,5
	β -Lap/CEF	512/32	128/8,0*	0,25/0,25	0,50	Sinérgico	75,0/75,0
	β -Lap/CIP	512/64	64/4,0	0,12/0,06	0,18	Sinérgico	87,5/93,7
	β -Lap/GEN	512/32	16/8,0*	0,06/0,25	0,31	Sinérgico	96,9/75,0
	β -Lap/MER	512/64	16/2,0*	0,03/0,03	0,09	Sinérgico	96,9/96,9
LFBM 19	β -Lap/AMS	512/32	8,0/4,0*	0,01/0,12	0,13	Sinérgico	98,4/87,5
	β -Lap/CEF	512/16	64/2,0*	0,12/0,12	0,24	Sinérgico	87,5/87,5
	β -Lap/CIP	512/128	16/4,0	0,03/0,03	0,06	Sinérgico	96,9/96,7
	β -Lap/GEN	512/32	32/4,0*	0,06/0,12	0,18	Sinérgico	93,7/87,5
	β -Lap/MER	512/128	8,0/16	0,01/0,12	0,13	Sinérgico	98,4/87,5
LFBM 21	β -Lap/AMS	512/8,0	64/1,0	0,12/0,12	0,24	Sinérgico	87,5/87,5
	β -Lap/CEF	512/64	32/16*	0,06/0,25	0,31	Sinérgico	93,7/75,0
	β -Lap/CIP	512/64	64/8,0	0,12/0,12	0,24	Sinérgico	87,5/87,5
	β -Lap/GEN	512/64	64/4,0*	0,12/0,06	0,18	Sinérgico	87,5/93,7
	β -Lap/MER	512/64	256/2,0*	0,5/0,03	0,53	Aditivo	50,0/96,9

ATCC: *American Type Culture Collection*; LFBM: Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Microrganismos; CIM: Concentração Inibitória Mínima; CIF: Concentração Inibitória Fracionada; ICIF: Índice da Concentração Inibitória Fracionada; AMS: ampicilina/sulbactam; CEF: cefoxitina; CIP: ciprofloxacino; MER: meropenem; GEN: gentamicina; β -Lapachona; % Redução do CIM = (CIM individual – CIM associação)/CIM Individual x 100. *Reversão da resistência bacteriana de acordo como *breakpoint* estabelecido pelo CLSI, 2023.

6 DISCUSSÃO

Acinetobacter baumannii é um dos patógenos multirresistentes mais comuns que causam infecções nosocomiais em seres humanos e a resistência aos antibióticos constitui um sério problema causado por esse microrganismo (Shi *et al.*, 2024). Desse modo, em 2017 a Organização Mundial de Saúde (OMS) listou a *Acinetobacter baumannii* como uma das bactérias que devem ter prioridade na investigação de novos fármacos. Nesta lista, as bactérias *ESKAPE* ocupam as primeiras posições, classificadas como criticamente prioritária, sendo elas: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter spp.* Desse modo, encontrar estratégias alternativas parece ser importante, uma vez que as descobertas de novos agentes antibacterianos também são limitadas (OMS, 2017).

Alternativamente, a busca por novas moléculas e esquemas terapêuticos para promover regimes mais eficazes e menos tóxicos, as plantas e seus metabólitos secundários são fontes promissoras para fornecer diversos compostos bioativos com grande potencial terapêutico.

As naftoquinonas são um tipo de quinona que são encontradas na natureza e apresentam atividades biológicas, incluindo antimicrobianas, antioxidantes e antitumorais. Naturalmente, as quinonas estão abundantemente presentes em micróbios, plantas e animais. Essas naftoquinonas de ocorrência natural incluem lapachol, α -lapachona, β -lapachona, juglona e publagina, obtidos a partir de extratos vegetais, têm despertado o interesse de pesquisadores de todo o mundo devido a sua grande diversidade estrutural e atividades biológicas (Macedo *et al.*, 2013).

Com base no interesse pela descobertas de novas drogas eficazes, o estudo de metabólitos secundários de plantas ganha espaço, no que se refere a uma alternativa inexaurível de compostos bioativos (Mir *et al.*, 2023). Através desse interesse, nosso estudo avaliou que tanto lapachol quanto a β -lapachona apresentaram atividade antimicrobina (Ramos-Milar *et al.*, 2023). Além disso, novas abordagens surgem com a associação entre medicamentos e tendo por base o sinergismo, entre esses compostos e os atuais antimicrobianos disponíveis (Calixto, 2019).

Os fundamentos para a associação de fitoconstituintes com drogas convencionais são diversos: melhor disponibilidade, melhor atividade biológica e melhor facilidade no transporte dessas drogas. Essas associações sinérgicas proporcionam diminuição das concentrações necessárias para que se observe o efeito esperado e tem por consequência menores efeitos

adversos provocados pelos fármacos, posto que serão utilizados em concentrações menores. Ademais a melhoria nas preparações e padronizações de fitocompostos, tornam esses constituintes cada vez mais seguros (Orimaye, 2024).

O efeito sinérgico é proveniente da capacidade que os fitocompostos possuem de modificar a atividade microbiana pela modulação ou reversão da resistência bacteriana ou por apresentarem novos modos de ações dos fármacos, constatando-se como efeito final uma alteração da susceptibilidade dos microrganismos patogênicos para os fármacos (Orimaye, 2024).

De acordo com os resultados da Concentração Inibitória Mínima (CIM), observou-se que a β -lapachona e o lapachol apresentaram CIM com valores de 512 $\mu\text{g/mL}$ e 1024 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, para a todas as cepas frente ao crescimento das diferentes cepas de *Acinetobacter baumannii*. Para que a atividade antimicrobiana seja considerada forte, ela deve têm uma CIM de até 500 $\mu\text{g/mL}$, CIMs de 600 a 1500 $\mu\text{g/mL}$ são considerados moderados e a atividade fraca apresenta CIMs acima de 1500 $\mu\text{g/mL}$ de acordo com Sartoratto *et al.* (2023). Assim, tanto a cepa padrão ATCC 19606 quanto as cepas clínicas mostraram forte atividade antimicrobiana para a β -lapachona e atividade antimicrobiana moderada o lapachol.

Verificou-se que para as cepas testadas, o valor do Concentração Bactericida Mínima (CBM) foi igual ao valor da CIM, que é um indicador da atividade bactericida destas naftoquinonas.

De acordo com Hafidh *et al.* (2011), um composto é considerado bactericida ou bacteriostático e, para isso, a proporção de CBM e o CIM é analisado. Quando esta proporção está entre 1:1 e 2:1, o composto é considerado bactericida e, para ser considerado bacteriostático, a proporção deve ser superior a 2:1.

Assim, para a cepa padrão ATCC 19606 e para as cepas clínicas foi possível observar forte atividade bactericida tanto para a β -lapachona quanto para o lapachol.

Os resultados apresentados de moderada e forte da atividade inibitória e forte da atividade bactericida da β -lapachona e do lapachol frente as cepas de *Acinetobacter baumannii* pode estar associada à concentração do composto 2-Hidroxi-3-(3-metilbut-2-en-1-il)naftalen-1,4-diona (lapachol), conhecido por ter propriedades antimicrobianas (Yap *et al.*, 2021). Além disso, os autores sugerem que o modo de ação para a atividade antibacteriana da 1,4-naftoquinona e seus derivados envolve o aumento da geração de espécies reativas de oxigênio (EROs), que é seguida por morte celular apoptótica. A geração de ERO leva à restrição de enzimas celulares, responsáveis pela morte celular apoptótica. Além disso, o estudo mostrou que os grupos carbonila em C1 e C4 das naftoquinonas aumentam sua

atividade antimicrobiana. Os dois anéis do núcleo da naftoquinona são essenciais para a atividade antimicrobiana desses compostos. (Ravichandiran *et al.*, 2019).

Outro composto naftoquinona obtido da casca do lapacho (*Tabebuia avellanedae*) é a β -lapachona. Lei *et al.* (2024) confirma que a natureza deste composto o torna um agente antibacteriano promissor contra patógenos bacterianos multirresistentes, como *E. coli*. Portanto, esta bioatividade do lapacho é devida a essas naftoquinonas.

O trabalho de Macedo *et al.* (2013) demonstrou uma atividade sinérgica entre a associação da β -lapachona e os antimicrobianos de uso clínico ampicilina, ciprofloxacina, amoxicilina, meropenem e cefoxitina frente a cepas de *S. aureus* meticilina resistente. Nesse estudo a β -lapachona demonstrou uma forte atividade antimicrobiana e foi capaz de diminuir a concentração inicial dos antimicrobianos convencionais em pelo menos oito vezes. Nos nossos resultados observamos percentuais de reduções nas concentrações iniciais de CIM dos antimicrobianos que variaram entre 50 a 96,9% diferentes dos de Macedo *et al.* que variaram entre 87,5 a 99,2%.

Um estudo realizado por Yap *et al.* (2021) com o objetivo de investigar a atividade antibacteriana sinérgica entre a 1,4-naftoquinona e antibióticos β -lactâmicos frente a *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), revelou que a 1,4-naftoquinona age sinérgicamente com imipenem, cefuroxima e cefotaxima contra cepas clínicas de MRSA e poderia potencialmente ser usada em antibioticoterapia adjuvante contra bactérias multirresistentes. Além disso, o estudo revelou que a 1,4-naftoquinona mostrou atividade antimicrobiana contra um amplo espectro de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (Ravichandiran *et al.*, 2019).

Em nosso estudo, os antimicrobianos avaliados em associação com a β -lapachona, são β -lactâmicos (meropenem, ampicilina/sulbactam e cloridrato de cefepima), fluoroquinolona (ciprofloxacino) e aminoglicosídeo (gentamicina). A ampicilina inibe a biossíntese do mucopeptídeo da parede celular de bactérias gram-positivas e gram-negativas aeróbias e anaeróbias, enquanto que o sulbactam é inibidor irreversível da beta-lactamase, ampliando o espectro da ampicilina contra as beta-lactamases mediadas por plasmídeo nos organismos penicilinoresistentes. Isso posto, promove a lise bacteriana (Kousovista *et al.*, 2021).

O meropenem e o cloridrato de cefepima apresentam mecanismos de ação semelhantes: penetram na célula bacteriana através de canais conhecidos como porinas, ligam-se covalente as proteínas de ligação à penicilina e desregulam a formação de peptidoglicano. Inibindo a síntese da parede celular (Endimiani *et al.*, 2008; Papp-Wallace *et al.*, 2011). Mas com diferenças estruturais, meropenem apresenta enxofre na posição C1, e seu anel pentacíclico o

torna mais resistente a hidrólise pelas beta-lactamases (Nukaga *et al.*, 2008). Cloridrato de cefepima apresenta uma cadeia lateral de amino-tiazole e um grupamento metilpirrolidínico que promove uma rápida penetração pela porina (Kousovista *et al.*, 2021).

No entanto, *Acinetobacter baumannii* tem desenvolvido resistência a uma enorme variedade de antimicrobianos e como aqueles à base de carbapenêmicos, por exemplo, imipenem e meropenem. Essa resistência aos carbapenêmicos em *Acinetobacter* pode ser explicada por um ou mais mecanismos, incluindo inativação enzimática, bomba de efluxo, diminuição da permeabilidade da membrana e modificação dos sítios alvo de ligação aos antimicrobianos.

O ciprofloxacino é um antibiótico pertencente à classe das fluoroquinolonas que atua inibindo a ação das enzimas DNA girase e topoisomerase IV. As quinolonas apresentam boa resposta antibacteriana contra *Acinetobacter spp.* (Kashyap *et al.*, 2021). No entanto, nos últimos 30 anos, a resistência a esses antibióticos em isolados de *Acinetobacter baumannii* tem aumentado. Segundo Kashyap *et al.* (2021), variações fenotípicas de células normais formadas pela *Acinetobacter baumannii* podem contribuir para a sobrevivência desses microrganismos sob condições de estresse aos antibióticos.

Kousovista *et al.* (2021) encontraram associações estatisticamente significantes entre o uso dos antimicrobianos de amplo espectro (meropenem, ceftazidima e ciprofloxacino) e a correspondente resistência do *Acinetobacter baumannii*. Isso pode estar relacionado principalmente pelo uso indevido de antibióticos e má gestão terapêutica. Além disso, *A. baumannii* tem poucas porinas em comparação com outras bactérias Gram-negativas, o que pode explicar a resistência à passagem dos antimicrobianos para as estruturas internas dessa bactéria. Estas alterações na membrana associadas à produção de β -lactamases conferem resistência aos antibióticos β -lactâmicos.

No estudo de Bartal *et al.* (2022), a ampicilina/sulbactam é a melhor opção terapêutica inicialmente contra *Acinetobacter baumannii* resistente aos carbapenêmicos. Isso provavelmente se deve à capacidade da ampicilina/sulbactam saturar as proteínas ligadoras de penicilina tipos 1 e 3 quando administradas em altas doses (Bartal *et al.*, 2022).

De acordo com Sookkhee *et al.* (2022), a gentamicina é um antibiótico comumente utilizada para o tratamento de pacientes com infecções graves causadas por Gram-negativas. Entretanto, o aumento da dosagem desse antibiótico não é possível devido a janela terapêutica e que pode levar à ocorrência de toxicidade.

O estudo de Vrancianu *et al.* (2020)., caracterizou a bomba de efluxo AbeM da família MATE. Essa bomba de efluxo está envolvida na resistência à gentamicina, ofloxacina, ciprofloxacina, norfloxacina, doxorubicina, triclosan e imipenem.

No estudo de Yap *et al.* (2021), a 1,4-naftoquinona agiu sinergicamente em associação com a maioria dos antibióticos β -lactâmicos usados contra *Staphylococcus aureus* sensível à meticilina (MSSA) e *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA). O sinergismo entre 1,4-naftoquinona e antibióticos contra MSSA sugere que, com o uso de 1,4 - naftoquinona como adjuvante, uma dose menor de antibióticos é necessária para tratar *S. aureus* não resistente à meticilina. Isto poderia ser útil para mitigar o desenvolvimento de resistência, limitando a quantidade de antibióticos utilizados. Esse efeito sinérgico observado entre um adjuvante e um antibiótico também foi demonstrado anteriormente em estudos em que anti-inflamatórios não esteróides em combinação com antibióticos β -lactâmicos foram capazes de aumentar sua ação antibacteriana contra MRSA.

Nossos resultados demonstraram que entre as associações β -lapachona/ β -lactâmicos, a associação β -lapachona/cloridrato de cefepima apresentou uma melhor atividade sinérgica quando comparada a associação β -lapachona/meropenem e β -lapachona/ampicilina/sulbactam, diminuindo de um a cinco vezes os valores iniciais de CIM. E quanto menores as concentrações dos fármacos, menores seus efeitos colaterais. Desse modo, nosso estudo está em conformidade com aqueles resultados encontrado por Yap e colaboradores.

Ademais, pelo seu ineditismo, nosso estudo investigou o sinergismo entre a β -lapachona e antimicrobianos frente a cepas de *Acinetobacter baumannii* e em alguns casos, houve reversão da resistência bacteriana.

7 CONCLUSÃO

Os resultados da CIM e CBM apresentados pela β -lapachona demonstra que ela possui atividade bactericida frente *Acinetobacter baumannii*.

A β -lapachona apresentou atividade antimicrobiana mais potente e a CIM menor quando comparado ao lapachol.

As cepas de *Acinetobacter baumannii* foram resistentes ao ciprofloxacino, exceto a cepa padrão ATCC19606 e ao meropenem.

A β -lapachona combinada com antimicrobianos beta-lactâmicos, fluoroquinolonas, aminoglicosídeos e carbapenêmicos, ageu sinergicamente em todas as cepas de *A. baumannii* multidroga-resistentes, com exceção das associações β -lapachona-cefepima e β -lapachona-meropenem para as cepas LFBM 06 e LFBM 21, respectivamente.

As associações de β -lapachona com os antimicrobianos beta-lactâmicos, aminoglicosídeos e carbapenêmicos foram capazes de reverter o perfil de resistência dos *A. baumannii* multirresistentes, com exceção da fluoroquinolona, ciprofloxacino.

Estudos devem ser realizados, tanto *in vivo* quanto *in vitro*, para avaliar a biossegurança, eficácia, efeitos tóxicos, farmacológicos, principalmente em relação aos efeitos colaterais.

REFERÊNCIAS

- Akoolo, L., Pires, S., Kim, J., Parker, D. The Capsule of *Acinetobacter baumannii* Protects against the Innate Immune Response. **J Innate Immun.** 2022;14(5):543-554.
- Aldali, J.A. *Acinetobacter baumannii*: A multidrug-resistant pathogen, has emerged in Saudi Arabia. **Saudi Med J.** 2023 Aug;44(8):732-744.
- Almasaudi, S.B. *Acinetobacter spp.* as nosocomial pathogens: Epidemiology and resistance features. **Saudi J Biol Sci.** 2018 Mar;25(3):586-596.
- Almeida, E. R.; Preclinical and Clinical Studies of Lapachol and Beta-Lapachone. **The open Natural Products Journal**, v. 2, p. 43-47, 2009.
- Andrade, F.F., Silva, D, Rodrigues, A., Pina-Vaz, C. Atualização da colistina sobre seu mecanismo de ação e resistência, desafios presentes e futuros. **Microorganismos.** 2020 2 de novembro; 8(11):1716. DOI: 10.3390/microorganismos8111716. PMID: 33147701; PMCID: PMC7692639.
- Artuso, I., Lucidi, M., Visaggio, D., Capecchi, G., Lugli, G.A., Ventura, M., Visca, P. Diversidade genômica de cepas domesticadas de *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606. **Microb Genom.** Janeiro de 2022; 8(1):000749. DOI: 10.1099/mgen.0.000749. PMID: 35084299; PMCID: PMC8914354.
- Azizi, O. et al. Molecular analysis and expression of *bap* gene in biofilm-forming multi- drug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Reports of Biochemistry & Molecular Biology**, v.5, n.1, p. 62-72, 2016.
- Azzam, N. F. A. E. M. Antibacterial Effect of Eucalyptus Essential Oil. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 13, n. 07, p. 799–804, 2020.
- Badave, P., Gaikwaid S., Jagtap S.V. Versatile Remarkable Potent Bioactivity of Quinone based Compounds to Beat the Diseases. **Eng. Manag.** 2020;83:25605–25608.
- Balachandran, C., Al-Dhabi, N.A., Duraipandiyan, V., Ignacimuthu, S. Bluemomycin, a new naphthoquinone derivative from *Streptomyces sp.* with antimicrobial and cytotoxic properties. **Biotechnol. Lett.** 2021;43:1005–1018.

Bartal, C., Rolston, K.V.I, Neshier L. *Acinetobacter baumannii* resistente aos carbapenêmicos: Colonização, infecção e opções atuais de tratamento. **Infectar Dis Ther.** 2022 Abr; 11(2):683-694. DOI: 10.1007/s40121-022-00597-w. EPub 2022 17 de fevereiro. PMID: 35175509; PMCID: PMC8960525.

Baumann, P., Doudoroff., M., Stanier, R.Y. A study of the Moraxella group. II. Oxidative-negative species (genus *Acinetobacter*). **J Bacteriol.** 1968;95:1520–41.

Boral, B., Unaldi, Ö., Ergin, A., Durmaz, R., Eser, Ö.K.; *Acinetobacter* Study Group. A prospective multicenter study on the evaluation of antimicrobial resistance and molecular epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections in intensive care units with clinical and environmental features. **Ann Clin Microbiol Antimicrob.** 2019 Jul 2;18(1):19.

Bramara, B.V.B., Vasavi, H.S., Sudeep, H.V., Shyam P., K. Hydroalcoholic extract from *Lepidium meyenii* (Black Maca) root exerts wound healing activity in Streptozotocin- induced diabetic rats. **Wound Med.** 2017;19:75–81.

Brisou, J., Prevot, AR. Studies on bacterial taxonomy. X. The revision of species under *Acromobacter* group. **Ann Inst Pasteur (Paris)** 1954;86:722–8.

Burnett, A.R.; Thomson, R.H. Naturally occurring quinones. Part. X. Thequinoid constituents od *Tabebuia avellanadae* (Bignoniaceae). **J. Chem. Soc.**, p. 2100-2104, 1967.

Calixto, J.B. O papel dos produtos naturais na descoberta de drogas modernas. **An. Acad. Ciênc.** 2019; 91:e20190105. DOI: 10.1590/0001-3765201920190105.

Cangussu, E.W.S. **Importância do *Acinetobacter baumannii* no ambiente hospitalar.** 2020.

Centers for Disease Control and Prevention . COVID-19: U.S. impact on antimicrobial resistance, special report 2022. **Atlanta, GA.** Published June, 2022.

Chang, M.C., Mahar, R., McLeod, M.A., Giacalone, A.G., Huang, X., Boothman, D.A, Merritt, M.E. Synergistic Effect of β -Lapachone and Aminooxyacetic Acid on Central Metabolism in Breast Cancer. **Nutrients.** 2022 Jul 22;14(15):3020.

Chen, X., Ji, J., Zhou, K., Fã, X., Li, L., Xu, W. Novas nanopartículas multifuncionais formadas pelo reconhecimento molecular entre o aptâmero AS1411 e o pró-fármaco análogo do paclitaxel-nucleosídeo responsivo ao redox para o tratamento combinado de β -lapachona e paclitaxel. **Coloides Surf B Biointerfaces**. 2022 Abr;212:112345. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2022.112345. Epub 2022 20 de janeiro. PMID: 35074639.

Clausell, A., Garcia-Subirats, M., Pujol, M., Busquets, M.A., Rabanal, F., Cajal, Y. Modelos de membrana externa e interna Gram-negativa: inserção de lipopeptídeos catiônicos cíclicos. **J. Física. Química. B**. 2007; 111 :551–563.

Clinical Laboratory Standards Institute-CLSI. **Approved standard M02-A10 e M07-A8: performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests**, v. 29, n. 3, 2023.

Coyne, S., Courvalin, P., Périchon, B. Efflux-mediated antibiotic resistance in *Acinetobacter spp* Antimicrob agents chemother. **Antimicrob Agents Chemother**. 2011;55(947):53.

Cruz, F.C., Docampo, R., Boveris, A, Geração de ânions superóxido e peróxido de hidrogênio a partir de β -lapachona em bactérias, Antimicrob. **Agentes Quimother**. 14 (1978) 630-633.

Durán-Manuel, E., Cruz-Cruz, C., Ibáñez-Cervantes, G., *et al.* Clonal dispersion of *Acinetobacter baumannii* in an intensive care unit designed to patients COVID-19. **JInfect Dev Ctries** 2021.

Ejaz, H., Alzahrani, B., Hamad, M.F.S., Abosalif, K.O.A., Junaid, K., Abdalla, A.E., Elamir, M.Y.M., Aljaber, N.J., Hamam, S.S.M., Younas, S. Molecular analysis of the antibiotic resistant NDM-1 gene in clinical isolates of enterobacteriaceae. **Clin Lab**. 2020;(66).

Endimiani, A. et al. Cefepime: a reappraisal in an era of increasing antimicrobial resistance. **Expert Rev Anti Infect Ther**.,v. 6, n. 6, p. 805–824, 2008.

European Centre for Disease Prevention and Control . WHO Regional Office for Europe/European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial **resistance surveillance in Europe 2022–2020** data; 2022. Available at: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2022-2020-data>. Accessed 10 January 2023.

Eze, E.C., El Zowalaty, M.E. Combined effects of low incubation temperature, minimal growth medium, and low hydrodynamics optimize *Acinetobacter baumannii* biofilm formation. **Infect Drug Resist.** (2019) 12:3523–36.

Ezechiáš, M. **Combinações de um agonista total e parcial: Evidência experimental de isóboles curvas.** 2021 Oct 10;350:22-29. DOI: 10.1016/j.toxlet.2021.06.016. Epub 2021 24 jun. PMID: 34174339.

Fouad, A., Nicolau, D.P., Gill, CM. Sinergia in vitro da combinação de sulbactam-durlobactam e cefepime em concentrações clinicamente relevantes contra *A. baumannii*, *P. aeruginosa* e *Enterobacterales*. **J Antimicrob Quimioterápica.** 2023 dez 1; 78(12):2801-2809. DOI: 10.1093/jac/dkad244. PMID: 37839896; PMCID: PMC10689914.

Fowler, V.G. Jr., Boucher, H.W., Corey, G.R., Abrutyn, E., et al. *S. aureus* Endocarditis and Bacteremia Study Group. Daptomycin versus standard therapy for bacteremia and endocarditis caused by *Staphylococcus aureus*. **N Engl J Med.** 2006 Aug 17;355(7):653-65. doi: 10.1056/NEJMoa053783. PMID: 16914701.

Futuro, D.O., Ferreira P.G., Nicoletti C.D., Borba-Santos L.P., DA Silva F.C., Rozental S., Ferreira V.F. The Antifungal Activity of Naphthoquinones: An Integrative Review. **Na. Acad. Bras. Ciên.** 2018;90:1187–1214.

Gill, C.M., Santini, D., Takemura, M., Longshaw, C., Yamano, Y., Echols, R., Nicolau, D.P. *In vivo* efficacy & resistance prevention of cefiderocol in combination with ceftazidime/avibactam, ampicillin/sulbactam or meropenem using human-simulated regimens versus *Acinetobacter baumannii*. **J Antimicrob Chemother.** 2023 Apr 3;78(4):983-990.

Gogry, F.A, Siddiqui, M.T., Sultão, I., Haq, Q.M.R. Atualização atual sobre mecanismos intrínsecos e adquiridos de resistência à colistina em bactérias. **Front Med (Lausana).** 12 de agosto de 2021;8:677720. DOI: 10.3389/fmed.2021.677720. PMID: 34476235; PMCID: PMC8406936.

Gomes, C.L., de Albuquerque, W.S., Gomes de Melo, C., Ferreira da Silva, R.M, Vicente Nishimura, R.H., Rolim, L.A., Rolim, Neto P.J. Beta-lapachone: Natural occurrence,

physicochemical properties, biological activities, toxicity and synthesis. **Phytochemistry**. 2021 Jun;186:112713.

Gong, Q., Hu, J., Wang, P., Li X., Zhang X. A comprehensive review on β -lapachone: Mechanisms, structural modifications, and therapeutic potentials. **Eur. J. Med. Chem.** 2021;210:112962.

Gong, Q., Hu, J., Wang, P., Li, X., Zhang, X. **Uma revisão abrangente sobre β -lapachona: mecanismos, modificações estruturais e potenciais terapêuticos.** 2021 Jan 15;210:112962. DOI: 10.1016/j.ejmech.2020.112962. EPub 2020 22 de outubro. PMID: 33158575.

Guiraud, P.; stelman, R.; Campos-Takaki, G.M.; Seigle-Murandi, F.; Buochberg, M.S. Comparison of antibacterial and antifungal activities of Lapachol and β -lapachone. **Planta Med.**, p. 373-374, 1994.

Hafidh, R.R., Abdulmir, A.S., Vern, L.S., Bakar, F.A., Abas, F., Jahanshiri, F. and Sekawi, Z., 2011. Inhibition of growth of highly resistant bacterial and fungal pathogens by a natural product. **The Open Microbiology Journal**, vol. 5, no. 1, pp. 96-106. <http://dx.doi.org/10.2174/1874285801105010096>. PMID:21915230.

Hamidian, M., Nigrom S.J. Emergence, molecular mechanisms and global spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Microb Genom.** 2019;5(e000306).

Hancock, R.E. Peptídeos antibacterianos e as membranas externas dos bacilos gram-negativos. **J Med. Microbiol.** 1997; 46 :1–3.

Herrerias, B.V., Fernandes, R.C., Gonzaga, R.V., Balista, P.A., Dario, M.F., Sobreira, F. Synergistic antibacterial effect of the association between volatile and antimicrobial oils against resistant bacteria. **Archives of Health**, Curitiba, v.5, n.1, p. 17-26, 2024. ISSN 2675-4711.

Hussain, H., Green, I.R. Lapachol and lapachone analogs: a journey of two decades of patent research (1997-2016). **Expert Opin Ther Pat.** 2017;00:1111–1121.

Iruegas, R., Pfefferlem K., Göttig S., Averhoff, B., Ebersberger, I. Feature architecture aware phylogenetic profiling indicates a functional diversification of type IVa pili in the nosocomial pathogen *Acinetobacter baumannii*. **PLoS Genet.** 2023 Jul 27;19(7):e1010646.

Jacobs, A.C.; Hood, I.; Boyd, K.L. et al. Inactivation of phospholipase D diminishes *Acinetobacter baumannii* pathogenesis. **Infection and Immunity**, v.78, n.5, p.1952-1962, 2010. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, v.8, n.1, p.41-46, 2020.

Kanj, S.S., Bassetti, M., Kiratisin, P., Rodrigues, C., Villegas, M.V., Yu, Y., Van Duin, D. Clinical data from studies involving novel antibiotics to treat multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. **Int J Antimicrob Agents**. 2022 Sep;60(3):106633.

Kashyap, S., Sharma, P., Capalash, N. Genes potenciais associados à sobrevivência de *Acinetobacter baumannii* sob estresse ciprofloxacina. **Micróbios infectam**. 2021 Nov-Dez; 23(9-10):104844. DOI: 10.1016/j.micinf.2021.104844. EPub 2021 29 de novembro. PMID: 34098109.

Kaviani, R., Pouladi, I., Niakan, M., Mirnejad, R. Molecular detection of adefg efflux pump genes and their contribution to antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. **Rep Biochem Mol Biol**. 2020;8(4):413–8.

Kim, N., Son, J.H., Kim, K., Kim, H.J., Shin, M., Lee, J.C. DksA Modulates Antimicrobial Susceptibility of *Acinetobacter baumannii*. **Antibiotics (Basel)**. 2021 Nov 30;10(12):1472.

Kousovista, R., Athanasiou, C., Liaskonis, K., Ivopoulou, O., Ismailos, G. Karalis, V. Correlação entre *Acinetobacter baumannii* | Resistência e uso hospitalar de meropenem, cefepime e ciprofloxacina: análise de séries temporais e modelos de regressão dinâmica. **Patógenos**. 15 Abr 2021; 10(4):480. DOI: 10.3390/patógenos10040480. PMID: 33920945; PMCID: PMC8071258.

Kyriakidis, I., Vasileiou, E., Pana, Z.D., Tragiannidis, A. *Acinetobacter baumannii* antibiotic resistance mechanisms. **Pathogens**. (2021) 10:373.

Lederer, S., Dijkstra, T.M.H., Heskes, T. Modelos de resposta à dose aditiva: definindo sinergia. **Farmacol frontal**. 26 de novembro de 2019;10:1384. DOI: 10.3389/fphar.2019.01384. PMID: 31849651; PMCID: PMC6901947.

Lee, C.R., Lee, J.H., Park, M., Park, K.S., Bae, I.K., Kim, Y.B., Cha, C.J., Jeong, B.C., Lee, S.H. Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options. **Front Cell Infect Microbiol**. 2019. Mar 13;7:55.

Lessel, E.F. International Committee on Nomenclature of Bacteria Subcommittee on the Taxonomy of Moraxella and Allied Bacteria: Minutes of the Meeting, 11 August 1971. **Room Constitution C**, Maria-Isabel Hotel, Mexico City, Mexico. *Int J Syst Bacteriol.* 1971;21:213–4.

Li, P., Dong, X.R., Zhang, B., Zhang, X.T., Liu, J.Z., Ma, D.S., Ma, L. Molecular mechanism and therapeutic targeting of necrosis, apoptosis, pyroptosis, and autophagy in cardiovascular disease. **Chin Med J (Engl)**. 2021 Oct 4;134(22):2647-2655.

Lima, O.G., Coêlho, J. S. DE B., D’Albuquerque, I. L., Méllo, J. F. DE, Martins, D. G., Lacerda, A. L., Suza, M. A. de M.E. Substâncias antimicrobianas de plantas superiores. Comunicação XXXV. Atividade antimicrobiana e antitumoral de Lawsona (2 -hidroxi- 1,4-naftoquinona) em comparação com o lapachol (2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona). **Rev. Inst. Antib.**, v. 11, n. 1, p. 21-26, 1967.

Lima, O.G.; D’albuquerque, I. L., Borba, A.P., Mello, J.F. Substâncias antimicrobianas de plantas superiores. Comunicação XXV. Obtenção de Xi-loidona (Desidrolapachona) por transformação de Lapachol em presença de piridina, nova orto-naftoquinona natural isolada de extratos do cernedo “pau d”arco” roxo, *Tabebuia avellanedae* Lor. Ex Griserb. **Rev. Inst. Antib.**, v. 6, n 1/2, p. 23-34, 1962.

Liou, M. L. et al. The sensor kinase BfmS mediates virulence in *Acinetobacter baumannii*. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 47, n. 4, p. 275-281, 2014.

Longjam, L.A., Tsering, D.C., Das, D. Molecular Characterization of Class A-ESBLs, Class B-MBLs, Class C-AmpC, and Class D-OXA Carbapenemases in MDR *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates in a Tertiary Care Hospital, West Bengal, India. **Cureus**. 2023 Aug 17;15(8):e43656.

López, C., Ayala, J.A., Bonomo, R.A., González, L.J., Vila, A.J. Protein determinants of dissemination and host specificity of metallo- β -lactamases. **Nat Commun**. 2019;10(3617).

Lorenzi, H.; Matos, F .J .A. Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa-SP: **Instituto Plantarum**. p.93-94, 2002.

Lorian, V. **Antibiotics in laboratory medicine, 4th.ed., Baltimore**. Williams & Wilkins. p. 1238, 1991.

Lucidi, M., Visaggio, D., Migliaccio, A., Capecchi, G., Visca P, Imperi F, Zarrilli R. Patogenicidade e virulência de *Acinetobacter baumannii*: Fatores que contribuem para a aptidão em ambientes de saúde e o hospedeiro infectado. **Virulência**. 2024 Dez; 15(1):2289769. DOI: 10.1080/21505594.2023.2289769. EPub 2023 6 de dezembro. PMID: 38054753; PMCID: PMC10732645.

Macedo, L., Fernandes, T., Silveira, L., Mesquita, A., Franchitti, A.A., Ximenes, E.A. β -Lapachone activity in synergy with conventional antimicrobials against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains. **Fitomedicina**. 2013 dez 15; 21(1):25-9. DOI: 10.1016/j.phymed.2013.08.010. EPub 2013 12 de setembro. PMID: 24035227.

Mea, H.J.; Yong, P.V.C.; Wong, E.H. An overview of *Acinetobacter baumannii* pathogenesis: Motility, adherence and biofilm formation. **Microbiological Research**, v.247,p.126722, 2021.

Meredith, J.J., Dufour, A., Bruch, M.D. Comparação da estrutura e dinâmica do peptídeo antibiótico polimixina B e do nonapeptídeo inativo em trifluoroetanol aquoso por espectroscopia de RMN. **J. Física. Química B**. 2009; 113 :544–551.

Mermel, L.A. What is the evidence for intraluminal colonization of hemodialysis catheters?. **Kidney International**, V. 86, p. 28–33, 2014.

Mills, J.P.; Marchaim, D. Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria Infection Prevention and Control Update. **Infect Dis Clin North Am.**, [S. l.], p. 969-994, dez. 2021.

Mir, M.A, Altuhami, S.A., Mondal, S., Bashir, N., Dera, A.A., Alfhili, M.A.. Antibacterial and Antibiofilm Activities of β -Lapachone by Modulating the Catalase Enzyme. **Antibiotics (Basel)**. 2023 Mar 14;12(3):576.

Mone, N.S.; Bhagwat, S.A.; Sharma, D.; Chaskar, M.; Patil, R.H.; Zamboni, P.; Nawani, N.N.; Satpute, S.K. Naphthoquinones and Their Derivatives: Emerging Trends in Combating Microbial Pathogens. **Coatings** 2021, 11, 434. [https:// doi.org/10.3390/coatings11040434](https://doi.org/10.3390/coatings11040434).

Montrucchio, G., Corcione, S., Lupia, T., et al.. The burden of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in ICU COVID-19 patients: a regional experience. **J Clin Med** 2022.

Nagata, K.; Hirai, K-I.; Koyama, J.; Wada, Y.; Tamura, T. Antimicrobial activity of novel furanonaphthoquinone analogs. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v.42, n.3, p.700- 702, 1998.

Nguyen, M., Joshi, S. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*, and their importance in hospital-acquired infections: a scientific review. **J Appl Microbiol** 2021; 131:2715–38.

Nikibakhsh, M., Firoozeh, F., Badmasti, F., Kabir, K., Zibaei, M. Molecular study of metallo- β -lactamases and integrons in *Acinetobacter baumannii* isolates from burn patients. **BMC Infect Dis.** 2021;21(782).

Odds, F.C. (2003). Synergy , antagonism , and what the chequerboard puts between them.

Jornal de Quimioterapia Antimicrobiana, 52, 1. (June), 273144.

Ojkic, N., Lilja, E., Direito, S., Dawson, A., Allen, R.J., Waclaw, B. Um Modelo de Mecanismo de Ação de Bloqueio e Morte para o Antibiótico de Direcionamento de DNA Ciprofloxacina. **Agentes Antimicrobianos Quimioterápicos**. 20 ago 2020; 64(9):e02487-19. DOI: 10.1128/AAC.02487-19. PMID: 32601161; PMCID: PMC7449190.

Onita, T., Ikawa, K., Ishihara, N., Tamaki, H., Yano, T., Naora, K., Morikawa, N. Pulmonary Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Evaluation of Ampicillin/Sulbactam Regimens for Pneumonia Caused by Various Bacteria, including *Acinetobacter baumannii*. **Antibiotics (Basel)**. 2023 Feb 2;12(2):303.

Organização Mundial da Saúde. **OMS publica lista de bactérias para as quais se necessitam novos antibióticos urgentemente.** Retirado de: <https://www.paho.org/pt/noticias/27-2-2017-oms-publica-lista-bacterias-para-quais-se-necessitam-novos-antibioticos>. Acesso em: 19 de set. 2023.

Orimaye, O.E., Ekunseitan, D.A., Omaliko, P.C., Fasina, Y.O. Potencial de mitigação de extratos vegetais e compostos bioativos constituintes sobre salmonelas em aves de capoeira. **Animais (Basiléia)**. 3 Abr 2024; 14(7):1087. DOI: 10.3390/ani14071087. PMID: 38612326; PMCID: PMC11011123.

Pais, G.M., Chang, J., Barreto, E.F., Stitt, G., Downes, K.J., Alshaer, M.H., Lesnicki, E., Panchal, V., Bruzzone, M., Bumanglag, A.V., Burke, S.N., Scheetz, M.H. Farmacocinética Clínica e Farmacodinâmica da Cefepime. **Clin Farmacocinetica**. Julho de 2022; 61(7):929-953. DOI: 10.1007/s40262-022-01137-y. EPub 2022 jun 29. PMID: 35764774; PMCID: PMC9345683.

Pakharukova, N., Malmi H, Tuittila M, et al. Archaic chaperone-usher pili self-secrete into superelastic zigzag springs. **Nature**. 2022;609(7926):335–340.

Panizza, S. Plantas que curam. 24ª ed. São Paulo: **Ibrasa**, p. 126-127, 1997.

Papp-Wallace, K.M, Endimiani, A., Taracila, M.A., Bonomo, R.A. Carbapenêmicos: passado, presente e futuro. Agentes. **Antimicrobianos Quimioterápicos**. Novembro de 2011; 55(11):4943-60. DOI: 10.1128/AAC.00296-11. EPub 2011 22 de agosto. PMID: 21859938; PMCID: PMC3195018.

Pascale, R., Bussini, L., Gaibani, P., et al.. Carbapenem-resistant bacteria in an intensive care unit during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic: a multicenter before-and-after cross-sectional study. **Infect Control Hosp Epidemiol** 2022; 43:461–6.

Peechakara, B.V., Gupta, M. Ampicillin/Sulbactam. 2024 Jan 11. **In: StatPearls [Internet]**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan–. PMID: 30252373.

Pereira, T.d.B., Machado, I.C.R. Leal, D.M. Jesus, C.R.d.A. Damaso, A.V. Pinto, M. Giambiagi-deMarval, R.M. Kuster, K.R.N. dos Santos, *Tabebuia avellanae* naphthoquinones: activity against methicillin-resistant *Staphylococcal* strains, cytotoxic activity and in vivo dermal irritability analysis. **Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.** 5(2006).

Peyrou, M., Hanna, P.E., Cribb, A.E. Cisplatina, gentamicina e p-aminofenol induzem marcadores de estresse de retículo endoplasmático em rins de ratos. **Toxicol Sci**. 2007 Set; 99(1):346-53. DOI: 10.1093/toxsci/kfm152. EPub 2007 12 de junho. PMID: 17567590.

Philippon, A., Jacquier, H., Ruppé, E., Labia, R. Structure-based classification of class A beta-lactamases, an update. **Curr Res Transl Med**. 2019;67:115–122.

Prokhorova, I., Altman, R.B., Djumagulov, M., Shrestha, J., Urzhumtsev, A., Ferguson, A., Chang, C.T., Yusupov, M., Blanchard, S.C., Yusupova, G. Aminoglycoside interactions and impacts on the eukaryotic ribosome. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 2017 Dec 19;114(51):E10899-E10908. doi: 10.1073/pnas.1715501114. Epub 2017 Dec 5. PMID: 29208708; PMCID: PMC5754804.

Rafiei, E., Shahini Shams Abadi, M., Zamanzad, B., Gholipour, A. The frequency of efflux pump genes expression in *Acinetobacter baumannii* isolates from pulmonary secretions. **AMB Express**. 2022 Aug 4;12(1):103.

Ramirez, M.S., Bonomo, R.A., Tolmasky, M.E. Carbapenemases: Transforming *Acinetobacter baumannii* into a Yet More Dangerous Menace. **Biomolecules**. 2020 May 6;10(5):720.

Ramos-Milaré Á.C.F.H., Sydor, B.G., Brustolin, A.Á., Lera-Nonose, D.S.S.L., Oyama, J., Silva, E.L., Caetano, W., Campanholi, K.S.S., Demarchi, I.G., Silveira, T.G.V., Lonardoni M.V.C.. Efeitos in vitro do lapachol e da β -lapachona sobre *Leishmania amazonensis*. **Braz J Med Biol Res**. 2023. 29 de maio; 56:e12693. DOI: 10.1590/1414-431X2023e12693. PMID: 37255095; PMCID: PMC10229078.

Ramos-Milaré, Á.C.F.H, Sydor, B.G., Brustolin, A.Á., Lera-Nonose, D.S.S.L., Oyama, J., Silva, E.L., Caetano, W., Campanholi, K.S.S., Demarchi, I.G., Silveira, T.G.V., Lonardoni, M.V.C. *In vitro* effects of lapachol and β -lapachone against *Leishmania amazonensis*. **Braz J Med Biol Res**. 2023 May 29;56:e12693.

Ravichandiran, P., M. Masłyk, S. Sheet, M. Janeczko, D. Premnath, A.R. Kim, B.H. Park, M.K. Han, and D.J. Yoo. 2019. Synthesis and antimicrobial evaluation of 1,4-naphthoquinone derivatives as potential antibacterial agents. **ChemistryOpen** 8:589–600.

Ravichandiran, P., S. Sheet, D. Premnath, A.R. Kim, and D.J. Yoo. 2019. 1,4 - Naphthoquinone analogues: potent antibacterial agents and mode of action evaluation. **Molecules** 24:pii: E1437.

Ren, X., Palmer, L.D. *Acinetobacter* Metabolism in Infection and Antimicrobial Resistance. **Infect Immun**. 2023 Jun 15;91(6):e0043322.

Rosenthal, V., Duszynska, W., Ider, B., et al.. International Nosocomial Infection Control Consortium (INICC) report, data summary of 45 countries for 2013–2019, adult and pediatric units, device-associated module. **Am J Infect Control** 2021; 49:1267–74.

Roy, S., Chowdhury, G., Mukhopadhyay, A.K., Dutta, S., Basu, S. Convergence of Biofilm Formation and Antibiotic Resistance in *Acinetobacter baumannii* Infection. **Front Med (Lausanne)**. 2022 Mar 24;9:793615.

Santana, C. F.; De Lima O. G.; D'albuquerque, I. L.; Lacerda, A. L.; Martins, D. G.; Observações sobre as propriedades antitumorais e toxicológicas do extrato do líber e de alguns componentes do cerne do Pau d'arco (*Tabebuia avellanedae*). **Rev. Inst. Antibiot.**, v..8 (1/2), p.89–94,1968.

Sartoratto, A. Composição e atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas aromáticas utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Microbiologia**, 2004.

Sartoratto, A., Machado, A.L.M., Delarmelina, C., Figueira, G.M., Duarte, M.C.T. and Rehder, V.L.G., 2023. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants 8/8. **Brazilian Journal of Biology = Revista Brasileira de Biologia**, vol. 83, e269245.

Seifert, H., Blondeau, J., Lucaßen, K., Utt, E. Global update on the in vitro activity of tigecycline and comparators against isolates of *Acinetobacter baumannii* and rates of resistant phenotypes (2016–2018). **J Glob Antimicrob Resist** 2022; 31:82–9.

Shi, J., Cheng, J., Liu, S., Zhu, Y., Zhu, M. *Acinetobacter baumannii*: um oponente em evolução e astuto. **Microbiol frontal**. 2024 Jan 22;15:1332108. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1332108. PMID: 38318341; PMCID: PMC10838990.

Shi, X., Wang, H., Wang, X., Jing, H., Duan, R., Qin, S., Lv, D., Fan, Y., Huang, Z., Stirling, K, et al. Molecular characterization and antibiotic resistance of *Acinetobacter baumannii* in cerebrospinal fluid and blood. **PLoS One**. 2021;16(e0247418).

Shields, R.K., Paterson, D.L, Tamma, P.D. Navigating Available Treatment Options for Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* Complex Infections. **Clin Infect Dis**. 2023 May 1;76(Suppl 2):S179-S193.

- Silva, J. et al. Efeito sinérgico in vitro de β -lapachona e isoniazida no crescimento de *Mycobacterium fortuitum* e *Mycobacterium smegmatis*. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.104, n.4, p. 580-582, 2009.
- Sivaranjani, M., Srinivasan, R., Aravindraja, C., Karutha, Pandian, S., Veera, Ravi, A. Efeito inibitório da α -mangostina em biofilmes de *Acinetobacter baumannii* - um estudo *in vitro*. **Bioincrustação**. Maio de 2018; 34(5):579-593. DOI: 10.1080/08927014.2018.1473387. Epub 2018 5 de junho. PMID: 29869541.
- Skariyachan, S. et al. Recent perspectives on the virulent factors and treatment options for multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 45, n. 3, p. 315-333, 2019.
- Smitran, A., Lukovic, B., Bozic, L., Jelic, D., Jovicevic, M., Kabic, J., Kekic, D., Ranin, J., Opavski, N., Gajic, I. Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*: Biofilm- Associated Genes, Biofilm-Eradication Potential of Disinfectants, and Biofilm-Inhibitory Effects of Selenium Nanoparticles. **Microorganisms**. 2023 Jan 10;11(1):171.
- Smitten, K.L., Thick, E.J., Southam, H.M., de la Serna, J.B., Foster, S.J., Thomas, J.A. Mononuclear ruthenium (II) theranostic complexes that function as broad-spectrum antimicrobials in therapeutically resistant pathogens through interaction with DNA. **Chemical Science** 2020; 11: 8828–8838.
- Sookkhee, S., Sakonwasun, C., Mungkornasawakul, P., Khamnoi, P., Wikan, N., Nimlamool, W. Efeitos sinérgicos de algumas metoxiflavonas extraídas do rizoma de *Kaempferia parviflora* combinado com gentamicina contra cepas resistentes aos carbapenêmicos de *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* . **Plantas (Basileia)**. 16 de novembro de 2022; 11(22):3128. DOI: 10.3390/plants11223128. PMID: 36432857; PMCID: PMC9695190.
- Steffens, N.A., Zimmermann, E.S., Nichelle, S.M., Brucker, N. Meropenem use and therapeutic drug monitoring in clinical practice: a literature review. **J Clin Pharm Ther**. 2021 Jun;46(3):610-621. doi: 10.1111/jcpt.13369. Epub 2021 Feb 3. PMID: 33533509.
- Subhasmita Sahoo, P.M., Behera, S., Behura, R., Acharya, A., Biswal, D., Kumar Suna, S., Shaoo, R., Soren, R.C., Jali B.R. A brief review: Antibacterial activity of quinone derivatives. **Biointerface Res. Appl. Chem**. 2022;12:3247–3258.

Tallarida, R.J. Revisitando a isóbole e métodos quantitativos relacionados para avaliar o sinergismo de drogas. **J Pharmacol Exp Ther**. Julho de 2012; 342(1):2-8. DOI: 10.1124/jpet.112.193474. Epub 2012 Abr 17. PMID: 22511201; PMCID: PMC3383036.

Tsivkovski, R., Totrov, M., Lomovskaya, O. Biochemical characterization of QPX7728, a new ultrabroad-spectrum beta-lactamase inhibitor of serine and metallo-beta-lactamases. **Antimicrob Agents Chemother**. 2020;64:e00130–20.

Ulrich-Merzenich, G, Triagem combinada de drogas sintéticas e produtos naturais derivados de plantas – Potencial e desafios para o desenvolvimento de medicamentos, **Conferência: MIPTEC Life Sciences Week 2014**.

Vázquez-lópez, R., Solano-Gálvez, S.G., Juárez Vignon-Whaley J.J., et al. *Acinetobacter baumannii* Resistance: A Real Challenge for Clinicians. **Antibiotics (Basel)**. vol 9, pp. 205, 2020.

Velkov, Tony. **Structure--activity relationships of polymyxin antibiotics**, 2010.

Vijayakumar, S., Biswas, I., Veeraraghavan, B. Accurate identification of clinically important *Acinetobacter spp.*: an update. **Future Sci OA** 2019; 5:FSO395.

Vrancianu, C.O., Gheorghe, I., Czobor I.B., Chifiriuc MC. **Microorganismos**. 21 jun 2020; 8(6):935. DOI: 10.3390/microorganismos8060935. PMID: 32575913; PMCID: PMC7355832.

Wu, H.J., Xiao, Z.G., Lv, X.J., Huang, H.T., Liao, C., Hui, C.Y., Xu, Y., Li, H.F. Drugresistant *Acinetobacter baumannii*: From molecular mechanisms to potential therapeutics (Review). **Exp Ther Med**. 2023 Mar 23;25(5):209.

Wu, W., Feng, Y., Tang, G., Qiao, F., McNally, A., Zong, Z. NDM metallo- β -lactamases and their bacterial producers in health care settings. **Clin Microbiol Rev**. 2019;32:e00115–18.

Xu, C., Bilya, S.R., Xu, W. adeABC efflux gene in *Acinetobacter baumannii*. **New Microbes New Infect**. 2019;30:100549.

Yang, Y., Zhang, J., Liu, S., Zhang, X., Bai, Z., Wang, S., Li, K, Shi, M., Liu, Z., Wang, J., Li, J. Nanopartículas carregadas com β -Lapachone e Feexhibit terapia quimiodinâmica

aprimorada produzindo HO through amplificação em cascata. **Biomed Mater.** 5 fev 2024; 19(2). DOI: 10.1088/1748-605X/ad2212. PMID: 38266273.

Yap, J.K.Y., Tan, S.Y.Y., Tang, S.Q., Thien, V.K., Chan, E.W.L. Atividade antibacteriana sinérgica entre antibióticos 1,4-naftoquinona e β -lactâmicos contra meticilina-resistentes *Staphylococcus aureus*. **Microb Droga Resiste.** Fev 2021; 27(2):234-240. DOI: 10.1089/mdr.2020.0178. EPub 2020 23 jun. PMID: 32589487.

Yu, K., Zhang, Y., Xu, W., Zhang, X., Xu, Y., Sun, Y., Zhou, T., Cao, J. Hyper-expression of the efflux pump gene *adeB* was found in *Acinetobacter baumannii* with decreased triclosan susceptibility. **J Glob Antimicrob Resist.** 2020 Sep;22:367-373.

Zeighami, H. et al. Virulence characteristics of multidrug resistant biofilm forming *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care unit patients. **BMC Infectious Diseases**, v. 19, p. 629-638, 2019.

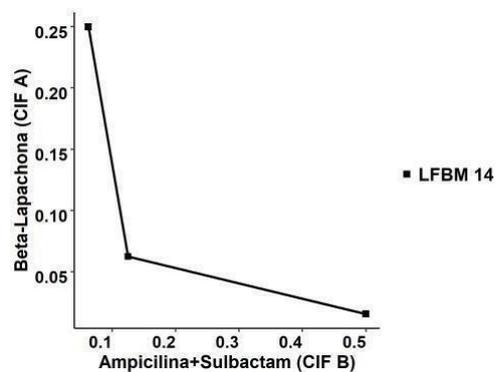
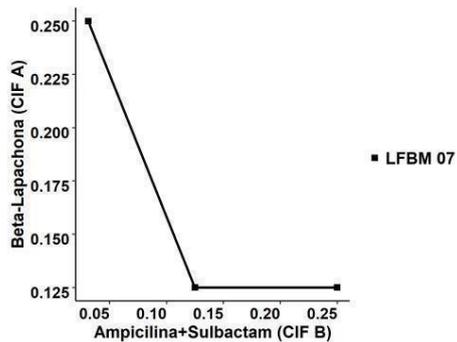
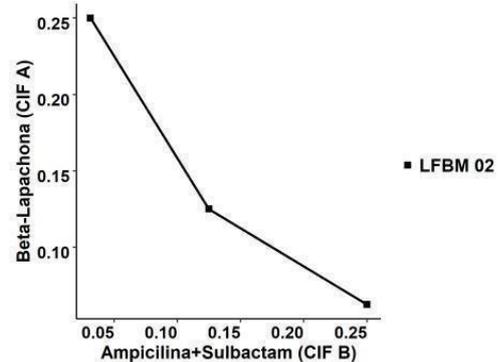
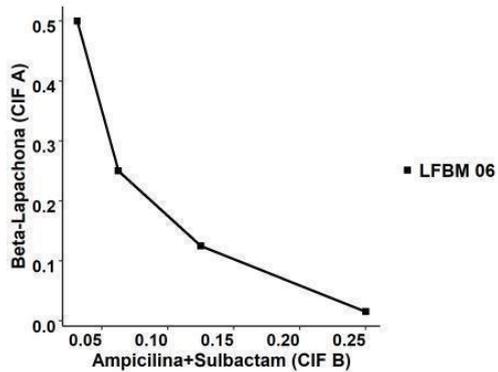
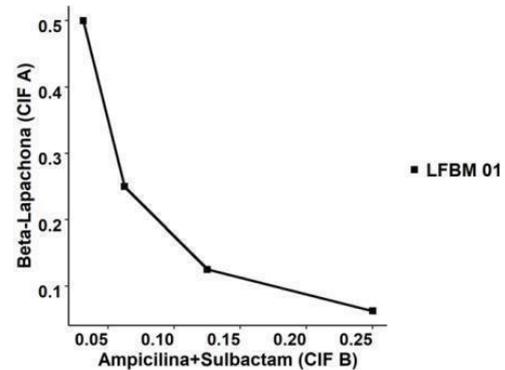
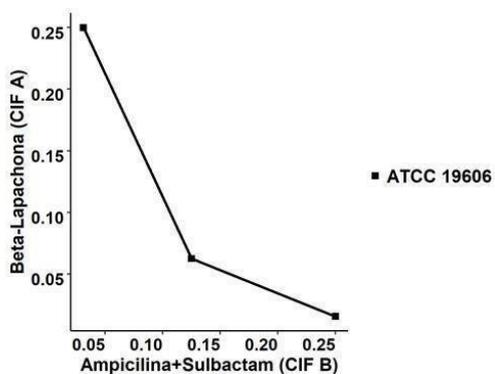
Zhang, L., Zhang, G., Xu, S., Song, Y. Recent advances of quinones as a privileged structure in drug discovery. **Eur. J. Med. Chem.** 2021;223:113632.

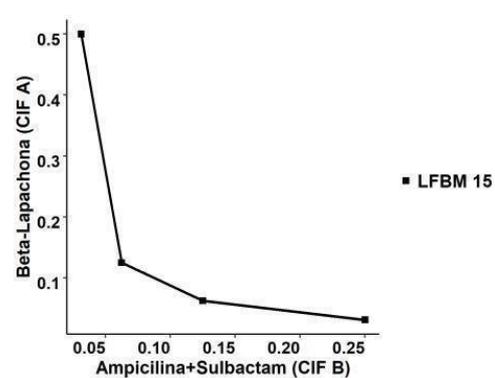
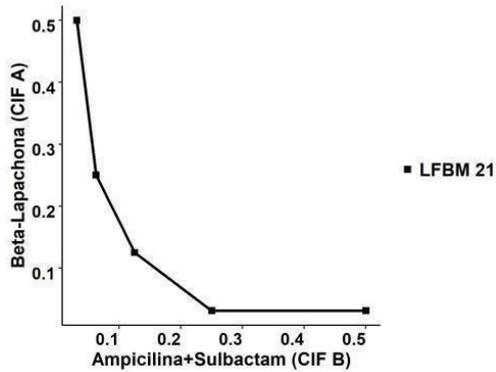
Zhao, L., Miao, H., Quan, M., Wang, S., Zhang, Y., Zhou, H., Zhang, X., Lin, Z., Piao, J. β -Lapachone induces ferroptosis of colorectal cancer cells via NCOA4-mediated ferritinophagy by activating JNK pathway. **Chemico-Biological Interactions**, Volume 389, 2024, 110866, ISSN 0009-2797, <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2024.110866>.

Zhu, S., Yue, J., Wang, X., Zhang, J., Yu, M., Zhan, Y., Zhu, Y., Sy, S.K.B, Lv, Z. Metabolomics revealed mechanism for the synergistic effect of sulbactam, polymyxin-B and amikacin combination against *Acinetobacter baumannii*. **Front Microbiol.** 2023 Jun 29;14:1217270.

APÊNDICE A - ISOBOLOGRAMAS

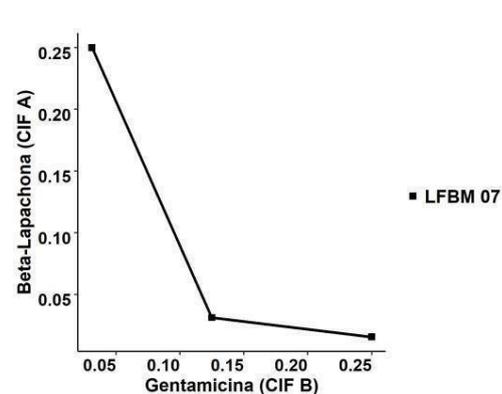
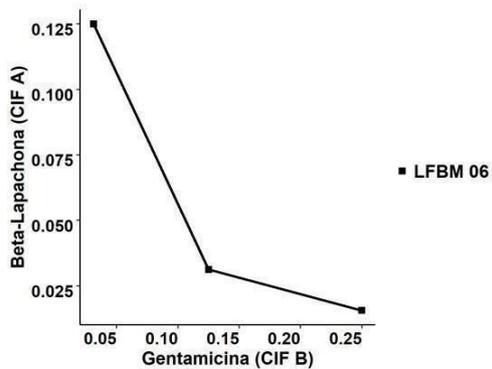
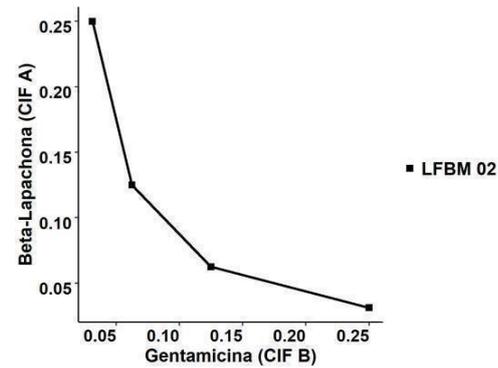
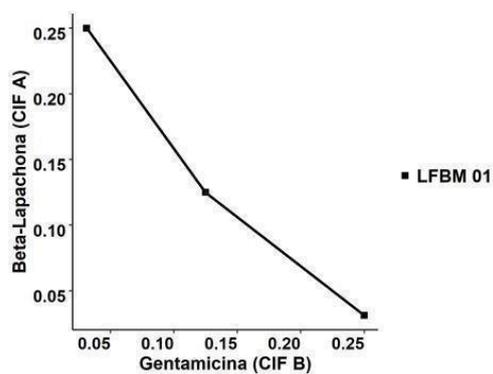
Isobolograma revelando o efeito sinérgico da β -Lapachona em associação com ampicilina+sulbactam frente às cepas de *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, LFBM 01, LFBM 02, LFBM 06, LFBM 07, LFBM 14, LFBM 15 e LFBM 21.

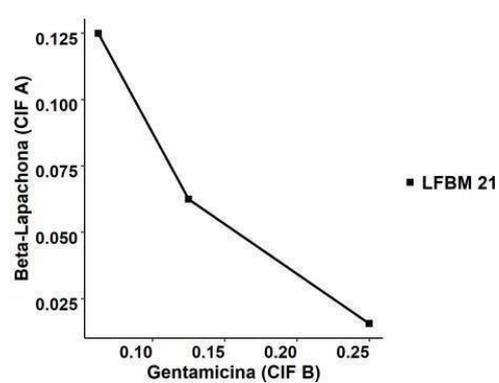
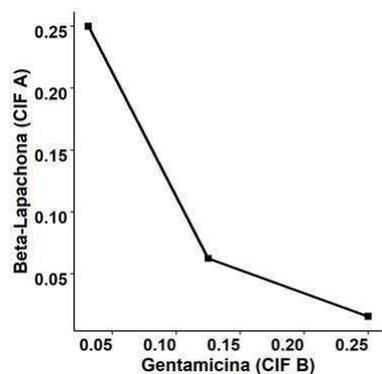
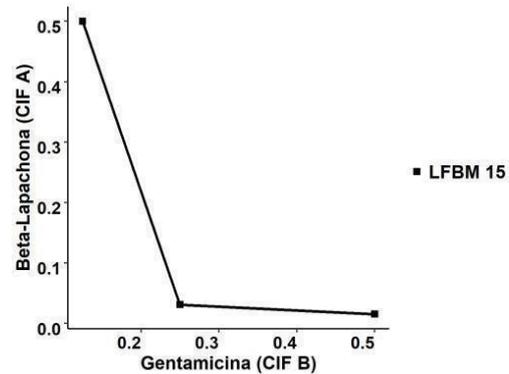
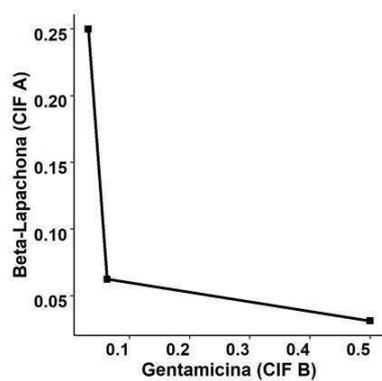




Fonte: Adaptado do autor (2024).

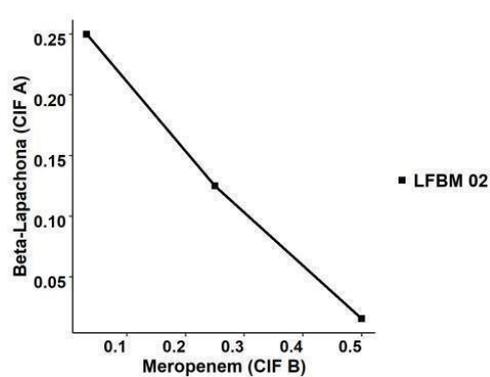
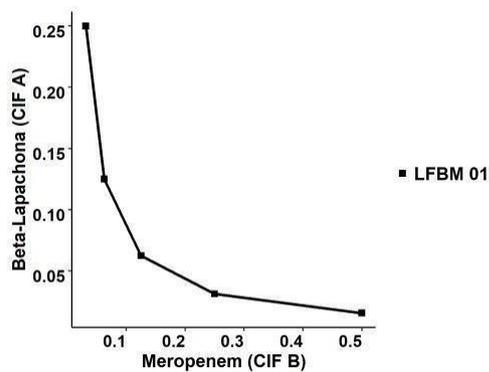
Isoblograma revelando o efeito sinérgico da β -Lapachona em associação com gentamicina frente às cepas de *Acinetobacter baumannii* LFBM 01, LFBM 02, LFBM 06, LFBM 07, LFBM 14, LFBM 15, LFBM 19 e LFBM 21.

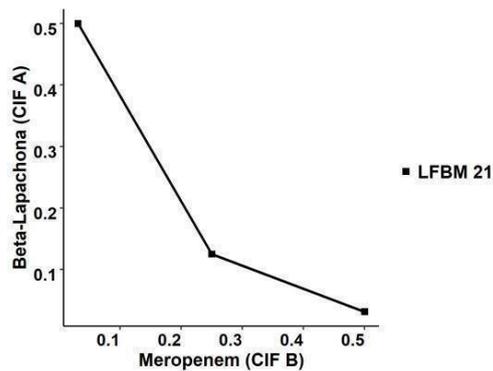
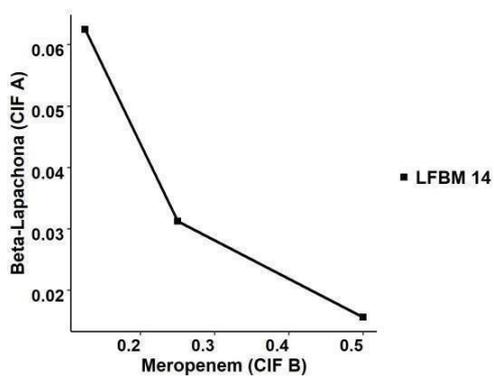
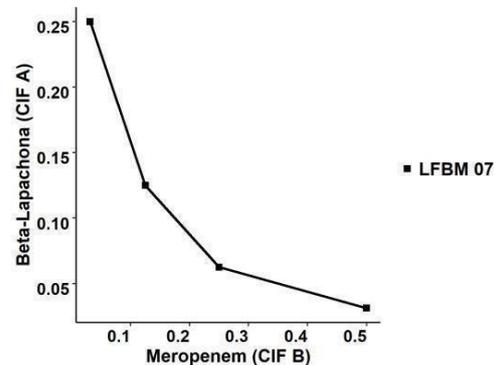
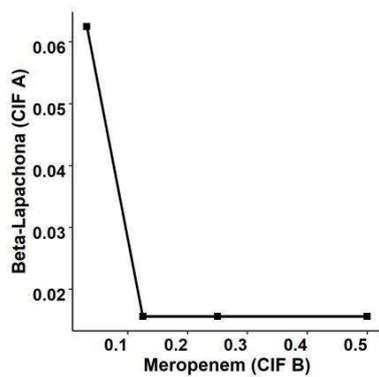




Fonte: Adaptado do autor (2024).

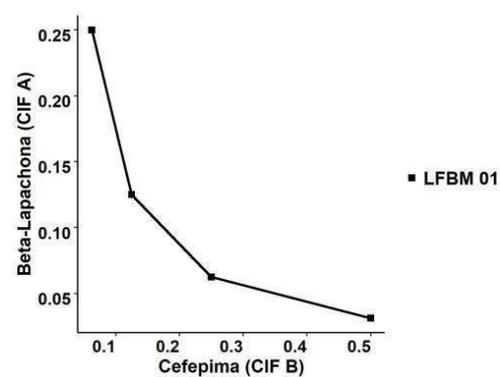
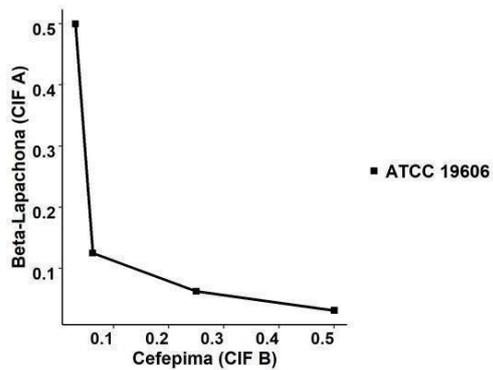
Isobolograma revelando o efeito sinérgico da β -Lapachona em associação com meropenem frente às cepas de *Acinetobacter baumannii* LFBM 01, LFBM 02, LFBM 06, LFBM 07, LFBM 14 e LFBM 21.

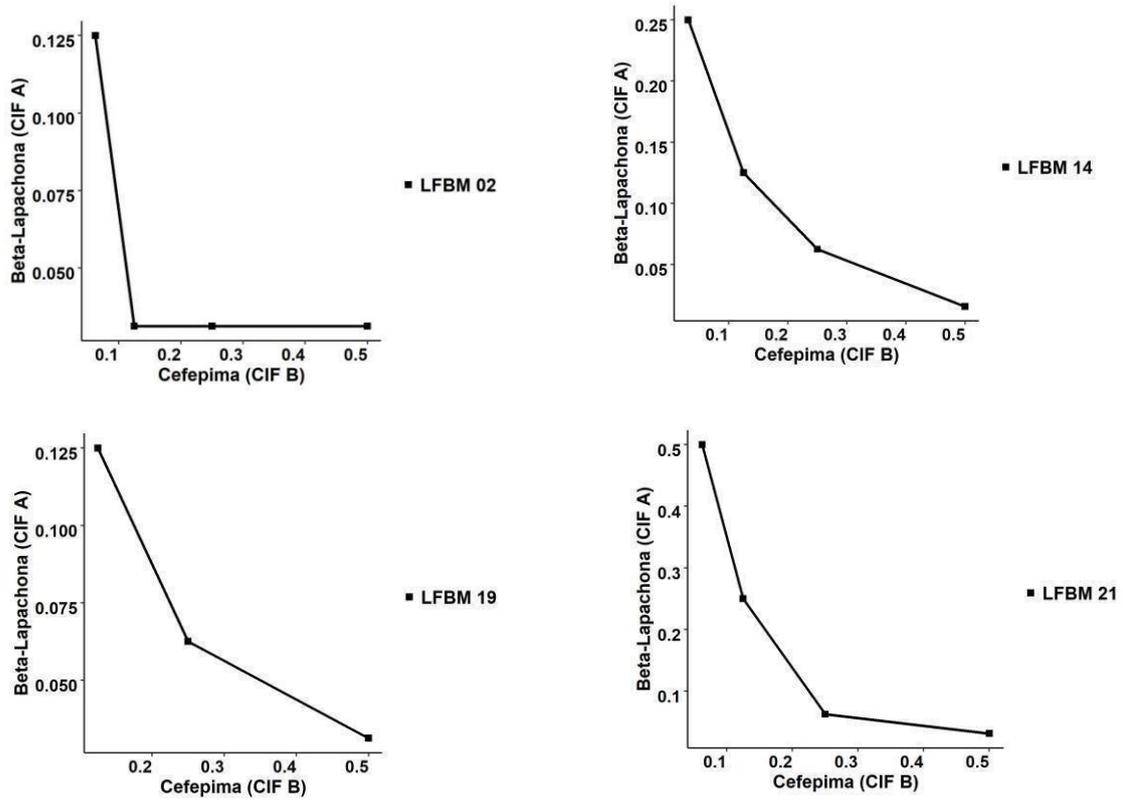




Fonte: Adaptado do autor (2024).

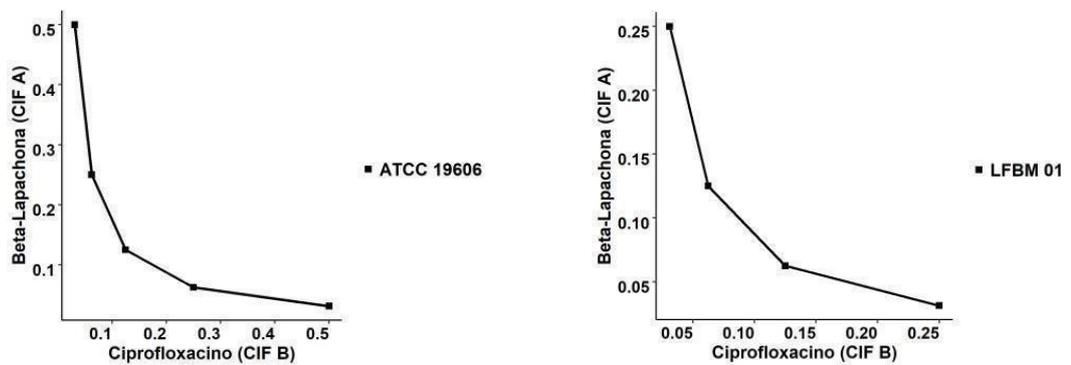
Isobolograma revelando o efeito sinérgico da β -Lapachona em associação com cefepima frente às cepas de *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, LFBM 01, LFBM 02, LFBM 14, LFBM 19 e LFBM 21.

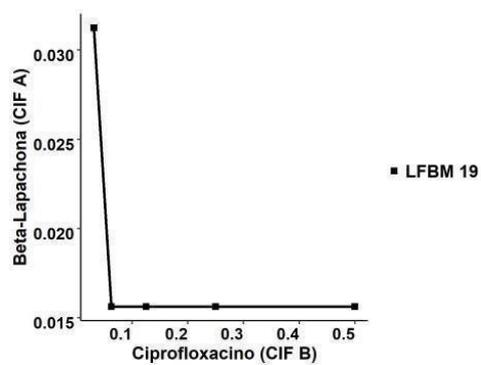
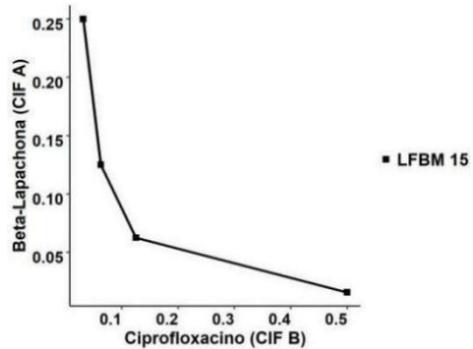
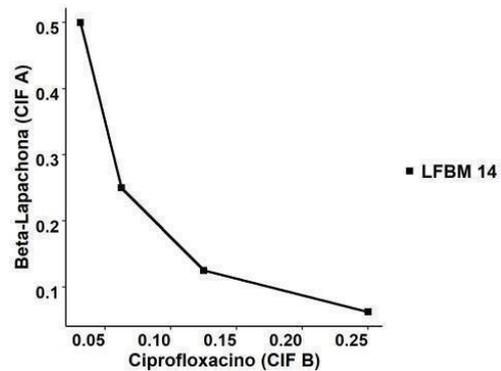
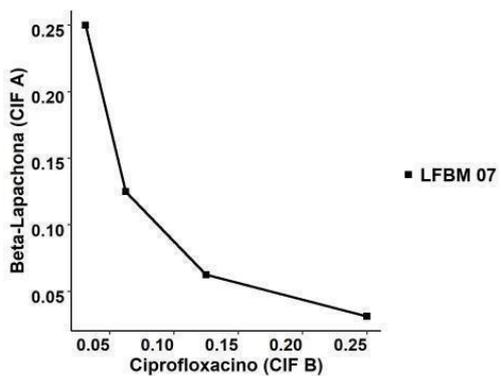
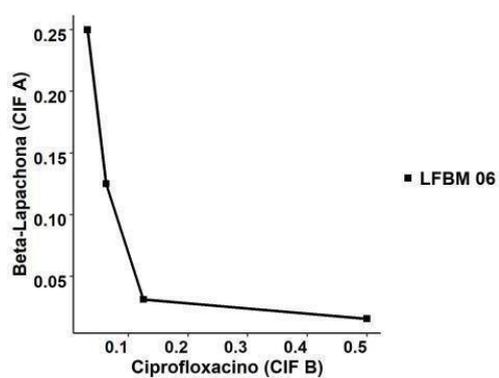
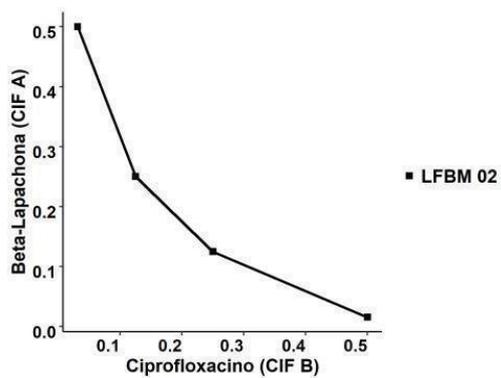


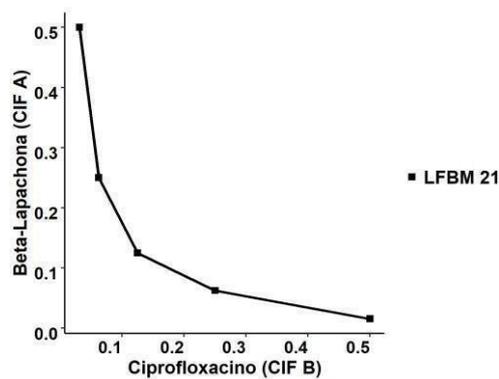


Fonte: Adaptado do autor (2024).

Isobolograma revelando o efeito sinérgico da β -Lapachona em associação com ciprofloxacina às cepas de *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, LFBM 01, LFBM 02, LFBM 06, LFBM 07, LFBM 14, LFBM 15, LFBM 19 e LFBM 21.

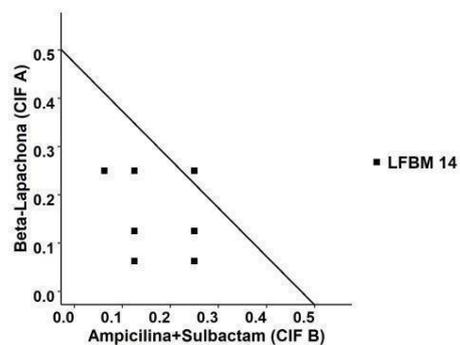
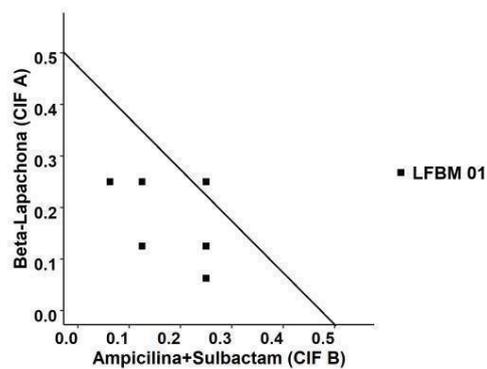
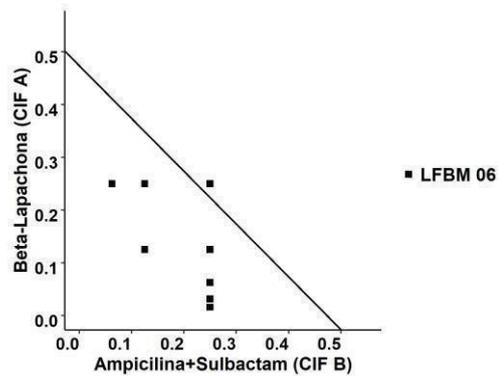
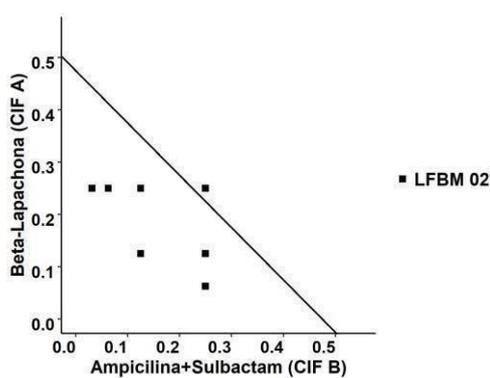


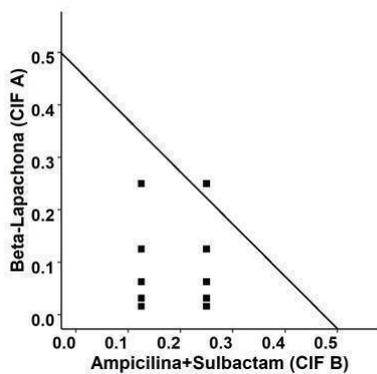




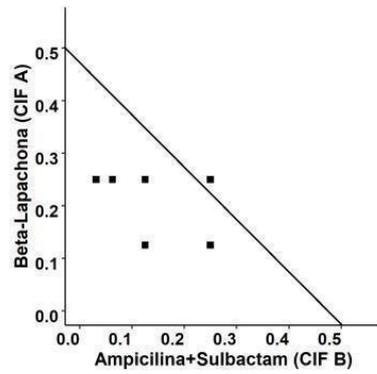
Fonte: Adaptado do autor (2024).

Gráfico de dispersão revelando o efeito sinérgico da β -Lapachona em associação com ampicilina+sulbactam frente às cepas de *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, LFBM 01, LFBM 02, LFBM 06, LFBM 07, LFBM 09, LFMB 14, LFMB 15, LFMB 19 e LFMB 21.

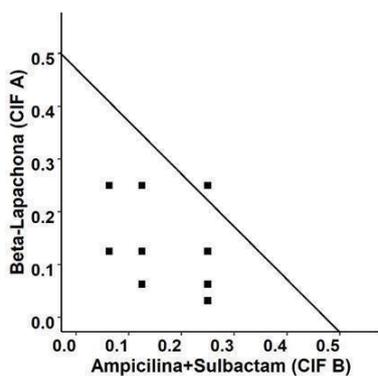




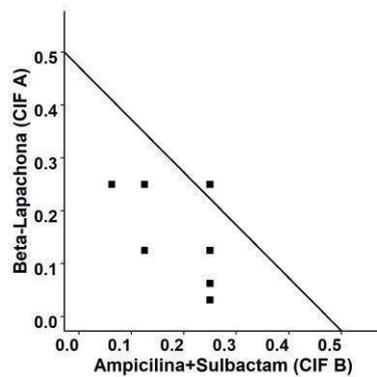
■ LFBM 09



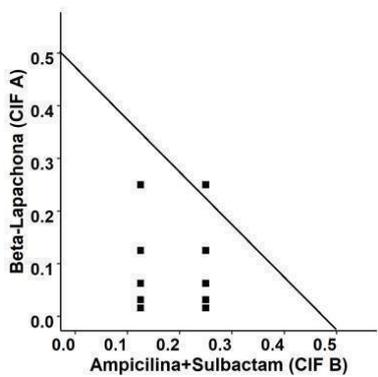
■ LFBM 07



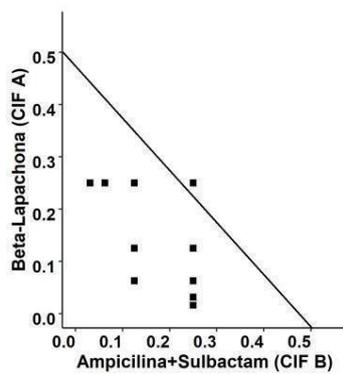
■ LFBM 15



■ LFBM 21



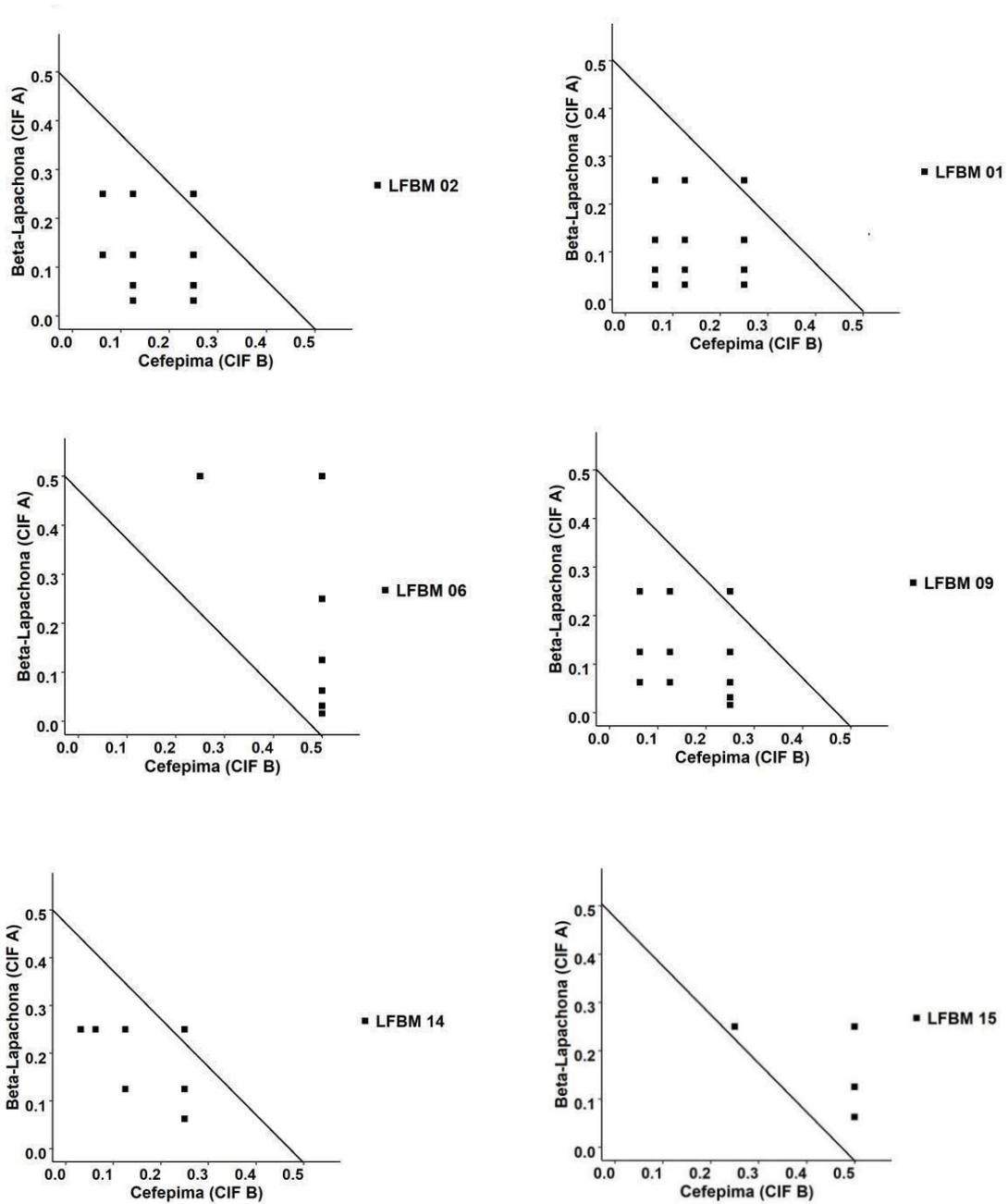
■ LFBM 19

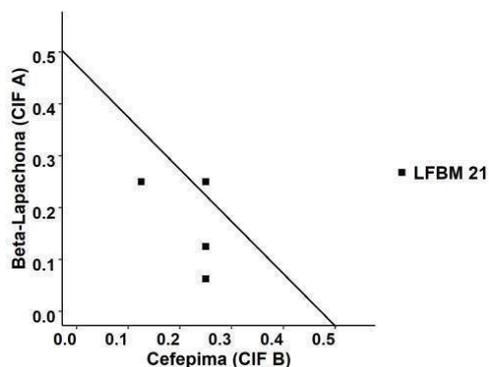
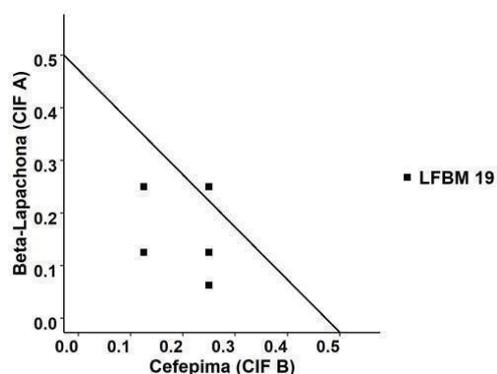
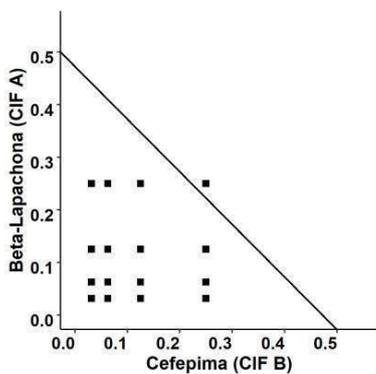


■ ATCC 19606

Fonte: Adaptado do autor (2024).

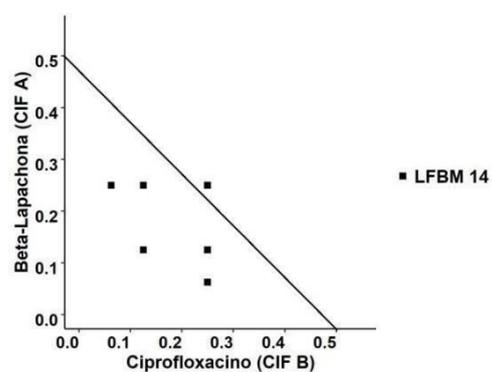
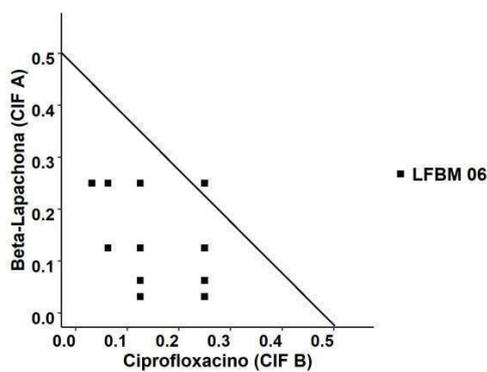
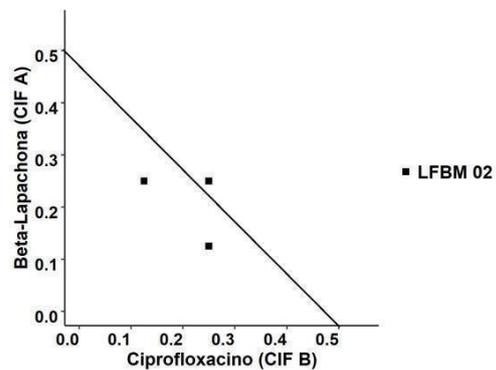
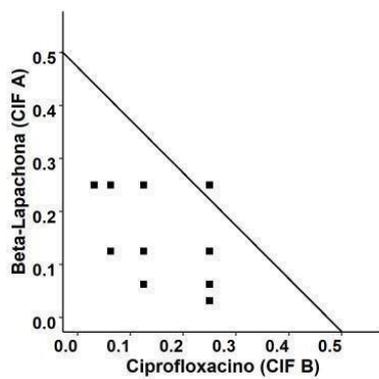
Gráfico de dispersão revelando o efeito sinérgico da β -Lapachona em associação com cefepima frente às cepas de *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, LFBM 01, LFBM 02, LFBM 06, LFBM 07, LFBM 09, LFBM 14, LFBM 15, LFBM 19 e LFBM 21.

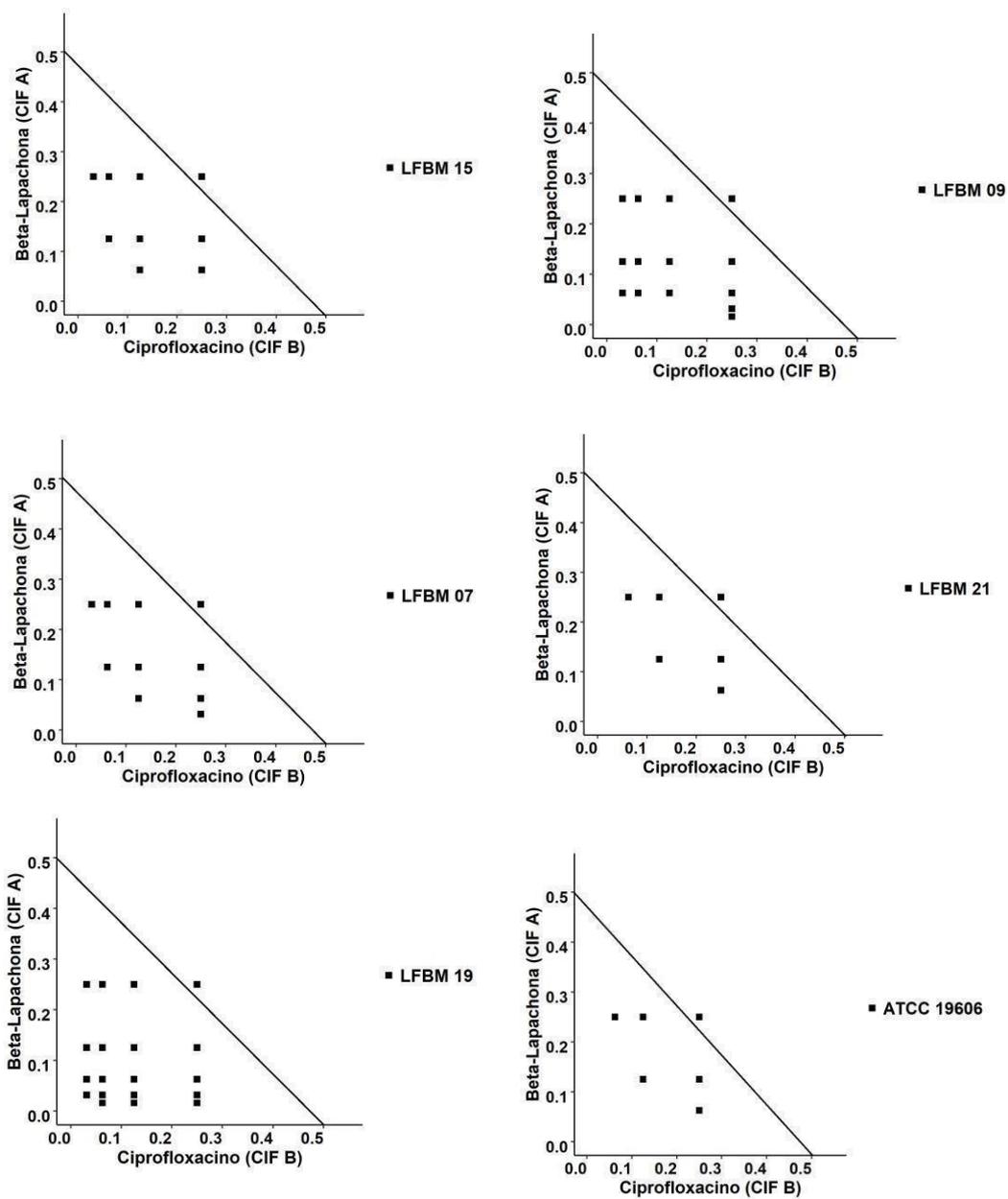




Fonte: Adaptado do autor (2024).

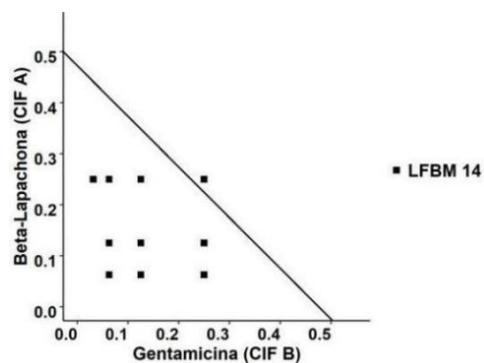
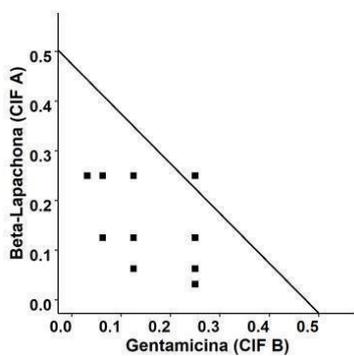
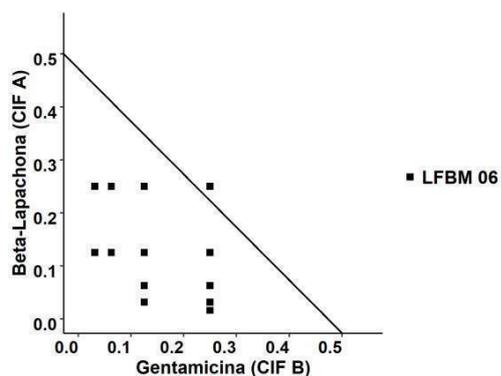
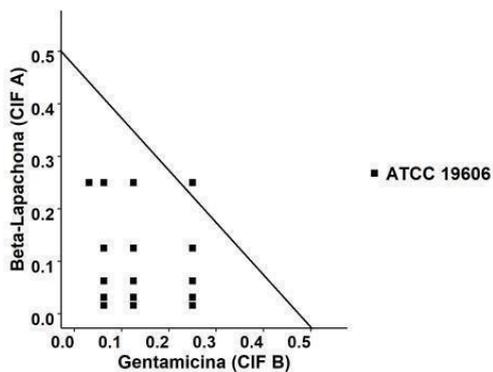
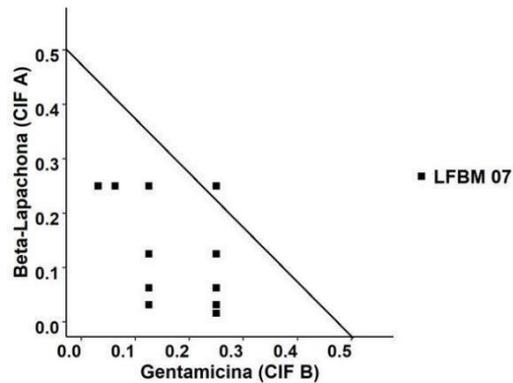
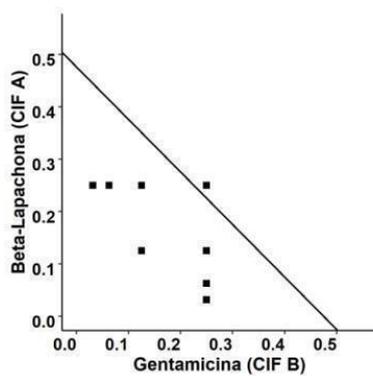
Gráfico de dispersão revelando o efeito sinérgico da β -Lapachona em associação com ciprofloxacina frente às cepas de *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, LFBM 01, LFBM 02, LFBM 06, LFBM 07, LFBM 09, LFBM 14, LFBM 15, LFBM 19 e LFBM 21.

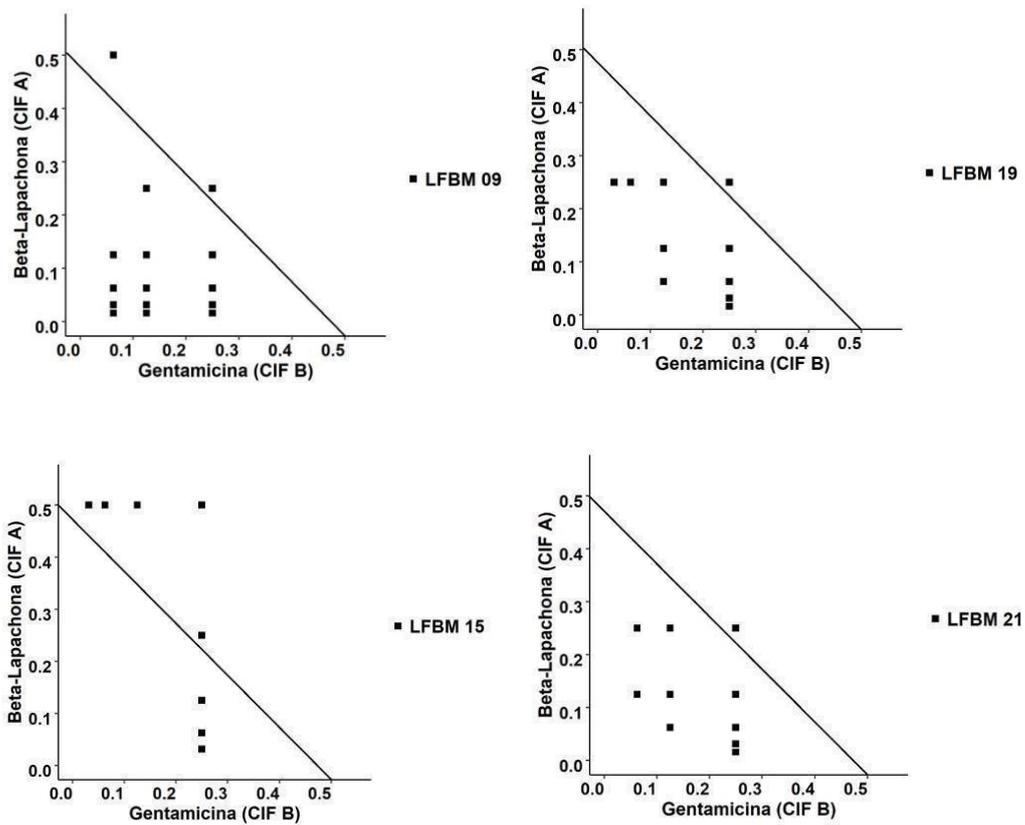




Fonte: Adaptado do autor (2024).

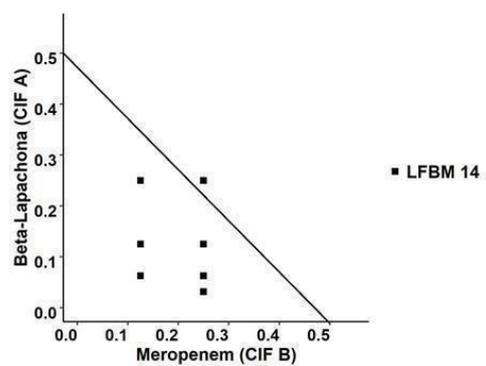
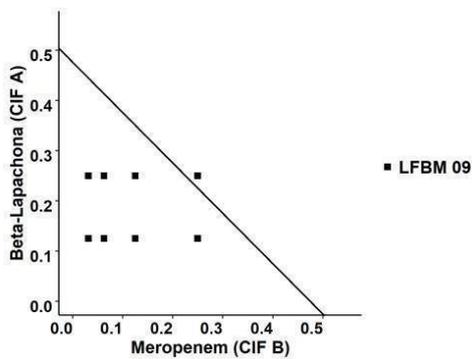
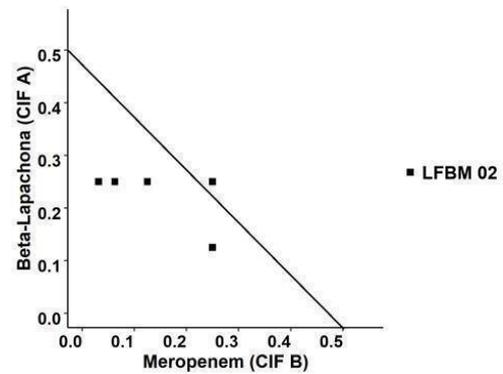
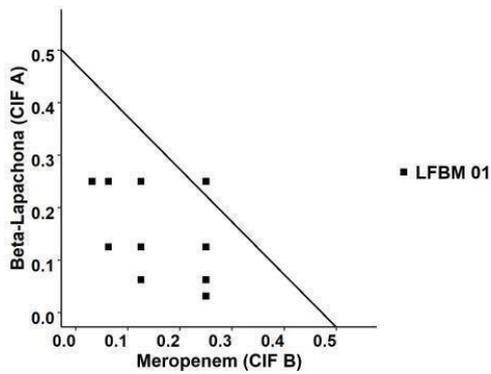
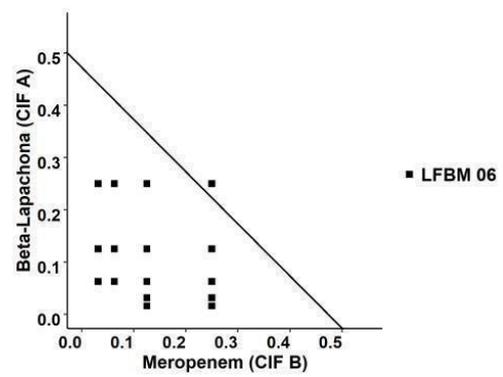
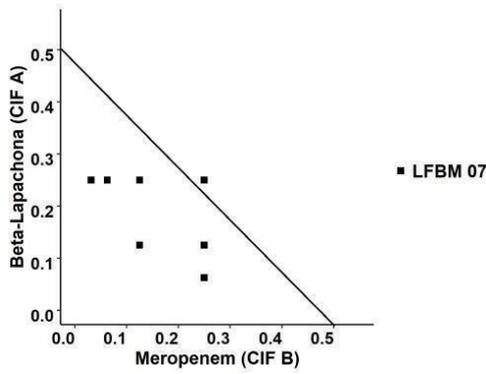
Gráfico de dispersão revelando o efeito sinérgico da β -Lapachona em associação com gentamicina frente às cepas de *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, LFBM 01, LFBM 02, LFBM 06, LFBM 07, LFBM 09, LFBM 14, LFBM 15, LFBM 19 e LFBM 21.

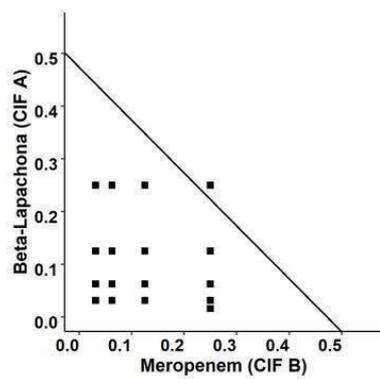




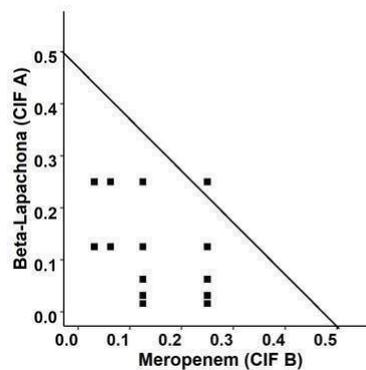
Fonte: Adaptado do autor (2024).

Gráfico de dispersão revelando o efeito sinérgico da β -Lapachona em associação com meropenem frente às cepas de *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, LFBM 01, LFBM 02, LFBM 06, LFBM 07, LFBM 09, LFBM 14, LFBM 15, LFBM 19 e LFBM 21.

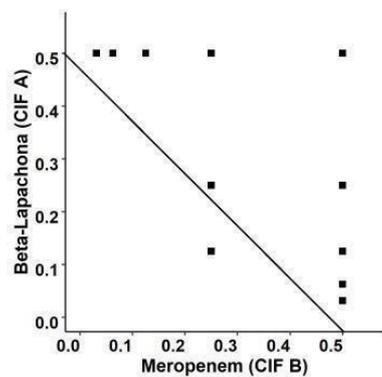




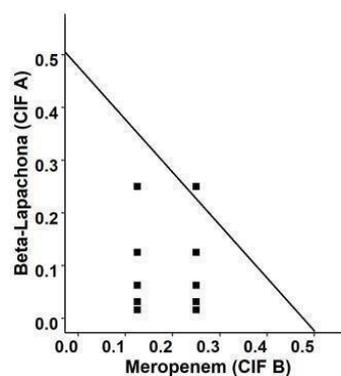
■ LFBM 15



■ LFBM 19



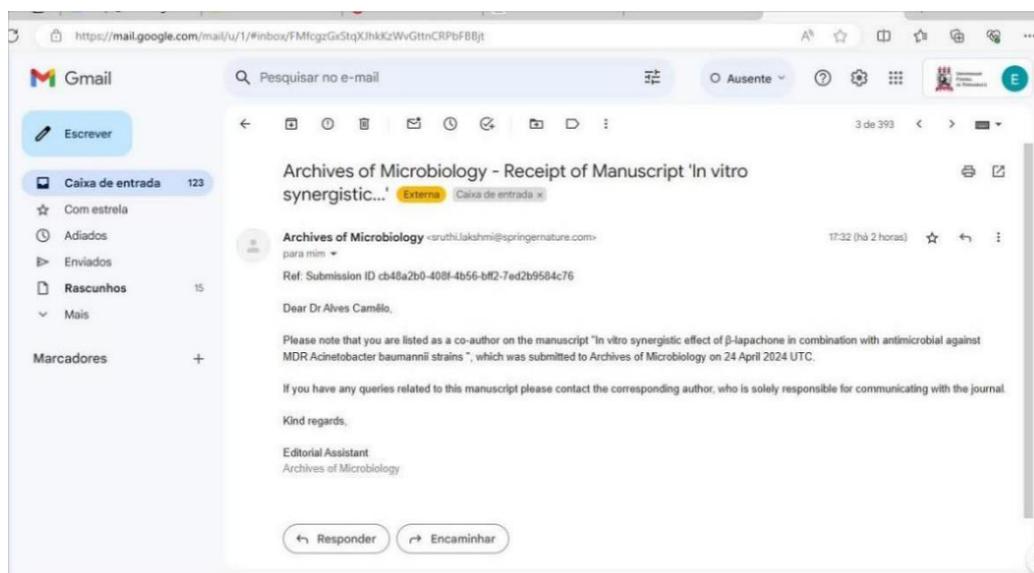
■ LFBM 21



■ LFBM 19606

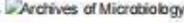
Fonte: Adaptado do autor (2024).

**APÊNDICE B - MANUSCRITO SUBMETIDO À REVISTA
ARCHIVES OF MICROBIOLOGY**



2024024, 17:33 Submission Details : Archives of Microbiology

This is a new page that we are continually improving.
We would love to hear your feedback and suggestions.

 **SNAPP**
Archives of Microbiology 

 [Account](#)

***In vitro* synergistic effect of β -lapachone in combination with antimicrobial against MDR *Acinetobacter baumannii* strains**

Current status:

We've received your submission and are now running technical checks

We are checking your submission against our journal guidelines and policies. If there is anything we need we will email eulafiximenes@yahoo.com.br.

Progress so far

Progress so far

1. Submission received - complete
2. Initial technical check - in progress

Your submission

Your submission

Title

26/04/2024, 17:33	Submission Details: Archives of Microbiology
<i>In vitro</i> synergistic effect of β -lapachone in combination with antimicrobial against MDR <i>Acinetobacter baumannii</i> strains	
Type	Research
Journal	Archives of Microbiology
Submission ID	cb48a2b0-408f-4b56-bff2-7ed2b9584c76

Submission history

- 1. Technical check**

Submission status	Date
Submission is under technical check	24 Apr 2024
- 2. Submission received**

Submission status	Date
Submission received	24 Apr 2024

Need help?

If you have any questions about this submission, you can [email the Editorial Office](#).

For general enquiries, please look at our [support information](#).

How was your experience today?