

Universidade Estadual de Londrina

VICTOR HUGO MONTINI

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE UM NANOCOMPÓSITO DE PRATA CONTRA ISOLADOS MULTIRRESISTENTES DE *Acinetobacter baumannii*

Londrina - PR
2026

VICTOR HUGO MONTINI

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE UM NANOCOMPÓSITO DE PRATA CONTRA ISOLADOS MULTIRRESISTENTES DE *Acinetobacter baumannii*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia da Universidade Estadual de Londrina - UEL como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Microbiologia.

Orientador: Prof. Dr. Gerson Nakazato
Coorientador: Prof. Dr. Admilton Gonçalves de Oliveira Junior

Londrina - PR
2026

M795s Montini, Victor Hugo.
SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE UM NANOCOMPÓSITO DE PRATA CONTRA ISOLADOS MULTIRRESISTENTES DE *Acinetobacter baumannii* / Victor Hugo Montini. - Londrina, 2026.
164 f.

Orientador: Gerson Nakazato.
Coorientador: Admilton Gonçalves de Oliveira Junior.
Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, 2026.
Inclui bibliografia.

1. Antimicrobiano - Tese. 2. Gram-negativo - Tese. 3. IRAs - Tese. 4. Nanoprata - Tese. I. Nakazato, Gerson. II. Oliveira Junior, Admilton Gonçalves de. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia. IV. Título.

CDU 579

VICTOR HUGO MONTINI

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE UM NANOCOMPÓSITO DE PRATA CONTRA ISOLADOS MULTIRRESISTENTES DE *Acinetobacter baumannii*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia da Universidade Estadual de Londrina - UEL como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Microbiologia.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Gerson Nakazato
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Dra. Sara Scandorieiro
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Dr. Victor Hugo Clébis
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 25 de fevereiro de 2026.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço aos meus pais por todo o apoio, incentivo e carinho ao longo de toda a minha trajetória acadêmica e pessoal. Nada disso teria sido possível sem a presença constante e o suporte incondicional de vocês.

Aos meus amigos, deixo meu sincero agradecimento pelos momentos de leveza, risadas e companheirismo, que tornaram a caminhada na pesquisa mais humana, tranquila e prazerosa. Agradeço especialmente a Gabriel, Bruna e Laura pela companhia, principalmente pelas diversas vezes que andamos pelo shopping, dando risadas e tomando sorvete.

Agradeço ao Prof. Dr. Gerson Nakazato, meu orientador, pela confiança, disponibilidade e orientação ao longo deste trabalho, bem como por ter me acolhido no NIP3 ainda durante a graduação, oportunidade que foi fundamental para minha formação científica.

Agradeço à Prof. Dra. Danielle Lazarin Bidoia Bidoia, da Universidade Estadual de Maringá, pela gentileza e colaboração na realização das análises, contribuindo de forma essencial para o desenvolvimento deste estudo.

Agradeço ao laboratório multiusuário CMLP e a toda a equipe técnica pelo suporte, pelas análises realizadas e pela infraestrutura disponibilizada, sem a qual este trabalho não teria sido possível.

Agradeço a todos vocês.

“Le rôle de l'infiniment petit dans la nature est infiniment grand” – Louis Pasteur (1822-1895)

RESUMO

MONTINI, Victor Hugo. Síntese, caracterização e avaliação de atividade antibacteriana um nanocompósito de prata contra isolados multirresistentes de *Acinetobacter baumannii*. 165p. Dissertação (Pós-graduação em Microbiologia) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2025.

O fenômeno da resistência antimicrobiana é considerado um problema global de saúde pública, com impactos diretos tanto na saúde quanto nos cofres públicos. Entre os patógenos mais letais no ano de 2019, destaca-se *Acinetobacter baumannii*, um microrganismo cujo fenótipo multirresistente e resistente aos carbapenêmicos é considerado prioritário no desenvolvimento de novos fármacos antimicrobianos. *A. baumannii* é um patógeno oportunista Gram-negativo e agente etiológico de diversas infecções, as quais apresentam elevada mortalidade quando associadas ao fenótipo de resistência a carbapenêmicos, além de aumento do tempo de internação, maior taxa de utilização de unidades de terapia intensiva e maior índice de readmissão hospitalar. Como estratégia para enfrentar esse problema, destaca-se o uso de nanopartículas de prata, especialmente aquelas obtidas por síntese verde, em razão da baixa pegada de carbono e da pouca ou nenhuma formação de subprodutos tóxicos. Um dos métodos verdes para a síntese de nanopartículas de prata (AgNP) é a síntese bacteriogênica, baseada no uso de sobrenadante livre de células ou de biomassa para a redução do íon Ag^{+}. Com base nisso, este trabalho teve como objetivo a síntese, a caracterização e a avaliação da atividade antibacteriana de nanopartículas de cloreto e fosfato de prata (Ag/AgCl/Ag_3PO_4-NP) contra isolados multirresistentes de A. baumannii. O nanocompósito foi sintetizado de acordo com o documento BR 10 2024 013609 8 e caracterizado quanto às suas propriedades físicas, concentração, tamanho e forma. Análises de DLS e ELS revelaram que o nanocompósito apresenta diâmetro hidrodinâmico médio de 101,754 nm, índice de polidispersão de 0,205 e potencial Zeta de −24,686 mV. As análises de difração de raios X evidenciaram a formação de nanopartículas trifásicas contendo prata metálica, cloreto de prata e fosfato de prata, com tamanhos de cristalito variando entre 8,1 e 14,3 nm. Observou-se que o nanocompósito sintetizado apresentou padrões de intensidade em diferentes comprimentos de onda e energia de banda proibida de 5,27 eV, condizentes com os valores descritos na literatura para o nanocompósito. A

concentração de prata elementar foi de 827 µg/mL, e as imagens de microscopia eletrônica de transmissão (MET) revelaram nanopartículas de formato oval, com tamanho médio de 26,47 ± 10,9 nm. Posteriormente, as nanopartículas foram avaliadas quanto à sua atividade antibacteriana contra uma cepa de referência e sete isolados clínicos multirresistentes, bem como quanto à toxicidade frente a eritrócitos humanos. A concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) frente aos isolados foram de 1,03 µg/mL e entre 1,03-2,06 µg/mL, respectivamente. Nos ensaios de cinética de ação, observou-se uma redução total de 5 $\log_{10}$ UFC/mL em até 3 horas. Além disso, as nanopartículas não apresentaram elevada toxicidade, com valor de CC_{50} de 96,99 µg/mL e índice de seletividade de 99,16. Em conjunto, esses resultados demonstram que o nanocompósito obtido por síntese bacteriogênica apresenta elevada atividade contra *A. baumannii* multirresistente e pan-resistente, além de baixa atividade hemolítica, destacando o potencial da nanotecnologia no desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos para o combate a infecções causadas por esse patógeno.

Palavras-chave: Antimicrobiano; Gram-negativo; IRAS; Nanoprata; Nanobiotecnologia.

ABSTRACT

MONTINI, Victor Hugo. Synthesis, characterization and antibacterial activity evaluation of an silver nanocomposite against *Acinetobacter baumannii* multiresistant isolates. 2025. 163p. Dissertação (Pós-graduação em Microbiologia) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2025.

The phenomenon of antimicrobial resistance is considered a global public health problem, with direct impacts on both health systems and public finances. Among the most lethal pathogens in 2019, *Acinetobacter baumannii* stands out, a microorganism whose multidrug-resistant and carbapenem-resistant phenotype is considered a priority in the development of new antimicrobial drugs. *A. baumannii* is a Gram-negative opportunistic pathogen and the etiological agent of several infections, which present high mortality when associated with the carbapenem-resistant phenotype, in addition to increased length of hospital stay, higher rates of intensive care unit utilization, and increased hospital readmission rates. As a strategy to address this issue, the use of silver nanoparticles has gained attention, particularly those obtained through green synthesis, due to their low carbon footprint and little or no formation of toxic byproducts. One of the green methods for the synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) is bacteriogenic synthesis, based on the use of cell-free supernatant or biomass for the reduction of Ag^{+} ions. Based on this, the objective of this study was the synthesis, characterization, and evaluation of the antibacterial activity of silver chloride and silver phosphate nanoparticles ($AgCl/Ag_3PO_4$-NP) against multidrug-resistant isolates of *A. baumannii*. The nanocomposite was synthesized according to document BR 10 2024 013609 8 and characterized regarding its physical properties, concentration, size, and morphology. DLS and ELS analyses revealed that the nanocomposite presented an average hydrodynamic diameter of 101.754 nm, a polydispersity index of 0.205, and a zeta potential of −24.686 mV. X-ray diffraction analyses demonstrated the formation of triphasic nanoparticles containing metallic silver, silver chloride, and silver phosphate, with crystallite sizes ranging from 8.1 to 14.3 nm. The synthesized nanocomposite exhibited intensity patterns at different wavelengths and a band gap energy of 5.27 eV, consistent with values described in the literature for this nanocomposite. The elemental silver concentration was 827 µg/mL, and transmission electron microscopy (TEM) images revealed oval-shaped nanoparticles with an average size of 26.47 ± 10.9 nm. Subsequently, the

nanoparticles were evaluated for their antibacterial activity against one reference strain and seven multidrug-resistant clinical isolates, as well as for their toxicity against human erythrocytes. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) against the isolates were 1.03 µg/mL and between 1.03–2.06 µg/mL, respectively. In the time-kill kinetics assays, a total reduction of 5 $\log_{10}$ CFU/mL was observed within up to 3 hours. In addition, the nanoparticles did not exhibit high toxicity, presenting a CC_{50} value of 96.99 µg/mL and a selectivity index of 99.16. Taken together, these results demonstrate that the nanocomposite obtained by bacteriogenic synthesis presents high activity against multidrug-resistant and pan-resistant *A. baumannii*, along with low hemolytic activity, highlighting the potential of nanotechnology in the development of new antimicrobial agents to combat infections caused by this pathogen.

Key-words: Antimicrobial; Gram-negative; HAIs; Nanosilver; Nanobiotechnology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Eletromicrografia de varredura e transmissão de *A. baumannii* evidenciando biofilme de *A. baumannii* (A-C) e a ultraestrutura de células de *A. baumannii* (D-E), demonstrando apêndices proteicos (seta preta) e camada de exopolissacarídeo (seta branca). 27

Figura 2 – Principais rotas metabólicas de *A. baumannii*, bem como suas fontes e seus principais intermediários. 29

Figura 3 – Composição da cadeia transportadora de elétrons de *A. baumannii* evidenciando os complexos I a III, associados ao estabelecimento do gradiente eletroquímico da membrana citoplasmática, e o complexo IV, o doador terminal de elétrons. 30

Figura 4 – Estrutura conformacional da OmpA. 34

Figura 5 – Secreção de OMVs de A. baumannii durante cultura in vito e infecção in vivo. A) MET de OMVs obtidas a partir de cultura de A. baumannii ATCC 19606T em caldo Luria-Bertani. B e C) MET de OMVs em modelo de pneumonia murina. 36

Figura 6 – A OmpA de *A. baumannii* ativa TLR2/NF-κB, induz inflamação e desorganiza as junções celulares e o citoesqueleto do epitélio pulmonar, enfraquecendo a barreira e facilitando a passagem da bactéria através do epitélio. 40

Figura 7 – Visão geral da estrutura de OmpW. A e B) diagrama de fitas das visões laterais da porina mostrando laços extracelulares (L), dobras periplasmáticas (T), domínio N-terminal e C-terminal; C) visão superior da OmpW do ponto de vista extracelular demonstrando formato elipsóide da proteína. 44

Figura 8 – A) Estrutura em fita da OmpW com os ligantes LDAO e glicerol visíveis no canal; Leu56 e Trp155, do possível portão hidrofóbico, são destacados em azul; B) Close do bolsão hidrofóbico contendo LDAO, com mapa de densidade 2Fo-Fc contornado a 1,2 σ e resíduos próximos identificados; C) Close do sítio de ligação do glicerol no lado periplásmico, também com mapa 2Fo-Fc e resíduos do sítio destacados. 45

Figura 9 – Eletromicrografia de transmissão de macrófagos RAW 264.7

demonstrando autofagossomos (organelas de dupla membrana) contendo células ativas de *A. baumannii*. A) macrófagos incubados (12 h) com *A. baumannii* ATCC 17978; B) Células *A. baumannii* aprisionadas em uma autofagossomo de macrófagos; C) e D) bactérias individuais envoltas em dupla membrana. 47

Figura 10 – Estrutura tridimensional da CarO de cepas sensíveis e resistentes ao imipenem. Vermelho: mesmos aminoácidos; azul: aminoácidos diferentes; branco: sequências não correspondentes. 49

Figura 11 – Comparação dos vestíbulos extracelulares de proteínas OccAB demonstrando os loops L2 (azul escuro), L3 (magenta), L4 (amarelo), L6 (ciano), L7 (verde) e L9 (vermelho). Linha superior: vista do lado extracelular. Linha inferior: vista lateral. 51

Figura 12 – Representação em *cartoon* da proteína OccAB1 (azul) mostrando as diferenças de sequência entre a proteína OccAB1 de *A. baumannii* AB307-0294 e ATCC 17978 (vermelho). À esquerda: vista lateral. À direita: vista superior. 52

Figura 13 – Predição da estrutura tridimensional de a) BAP tipo-1, b) BAP tipo-2, c) BAP tipo-3 e d) BAP SDF (tipo-6). 55

Figura 14 – Comparação do fenótipo de biofilme entre cepa selvagem e cepa mutante-*bap* em microscopia eletrônica de transmissão. A a D) Biofilme maduro de *A. baumannii* Ab307 em titânio (A e B) e poliestireno (C e D) evidenciando torres e canais de água (seta branca). Cepa mutante-*bap* em titânio (E e F) e poliestireno (G e H). 56

Figura 15 – Organização modular das proteínas BLP1 e BLP2. (Barra) Região única de 297 aminoácidos entre repetição P e Q de BLP1. 58

Figura 16 – Microscopia eletrônica de transmissão de *A. baumannii* ATCC 19606 coradas com molibdato de amônio evidenciando a) *A. baumannii* ATCC 19606 parental com pili evidenciados; b) mutante com gene *csuE-like* interrompido; c) mutante complementado com plasmídeo contendo o respectivo gene evidenciando os pili. 59

Figura 17 – Diferença conceitual no reconhecimento de substrato entre *pili* clássicos e *pili* arcaicos. 61

Figura 18 – Estrutura molecular da acinetobactina. 66

Figura 19 – A) Representação da isomerização espontânea da preacinetobactina em acinetobactina em pH>7. B) Estrutura geral de BauA, uma proteína β-barril formada por 22 fitas antiparalelas composta de diversos loops extracelular (amarelo) e um plug N-terminal (azul). 67

Figura 20 – Organização genética dos operons associados à biossíntese, utilização e liberação da acinetobactina. 68

Figura 21 – Diagrama de ligação Fe3+-preacintobactina-acinetobactina a proteína BauA; Ligações covalentes do sideróforo roxo e e resíduos da proteína em marrom. Ligações de hidrogênio estão representadas como linhas verdes tracejadas e contatos hidrofóbicos estão evidenciados como semi-círculos vermelhos com raios radiantes. 69

Figura 22 – Estruturas da baumannoferrina determinadas por ressonância magnética nuclear. A) Estrutura da baummannoferrina A. B) Estrutura da Baumannoferrina. 72

Figura 23 – Estruturas da baumannoferrina determinadas por ressonância magnética nuclear. A) Estrutura da baummannoferrina A. B) Estrutura da Baumannoferrina. 73

Figura 24 – Mapa genético do cluster *bfnABCDEFGHIJKL*. Setas horizontais indicam direção da transcrição dos genes. Genes preditos que estão envolvidos na biossíntese, exportação e captação estão coloridos em azul claro, branco e azul escuro, respectivamente. 73

Figura 25 – Proposta da via biossintética da baumannoferrina. *indica ácido decenóico ou ácido (E)-dec-2-enoico. 74

Figura 26 – Estruturas das fimsbactinas A-F. 74

Figura 27 – Organização genética do operon *fbs*. 76

Figura 28 – Proposta da via biossintética da fimsbactina. 77

Figura 29 – Proposta da do mecanismo de ação da fimsbactina. 78

Figura 30 – Estrutura dos sistemas de secreção que transpassam a membrana externa e a membrana citoplasmática de bactérias Gram-negativas. A) Localização putativa de componentes proteicos individuais; B) Estruturas resolvidas. 79

Figura 31 – *A. baumannii* UPAB1 residindo dentro de vacúolo de macrófagos

J774A.1 vistos em MET. A) 5 (painel esquerdo) e 7 h pós-infecção (painel direito). B) vacúolos contendo *A. baumannii* UPAB1 podem possuir uma (painel esquerdo, seta branca) ou dupla membrana (painel direito, seta branca). 80

Figura 32 – Predição estrutural da proteína AbaQ: (A) representação esquemática paralela à membrana citoplasmática feita no Protter e (B) modelo tridimensional obtido pelo RaptorX e visualizado no PyMOL, evidenciando 12 hélices transmembrana e as extremidades N e C localizadas no citoplasma. 88

Figura 33 – Mapa do domínio REC da proteína PmrA selvagem. Em ciano: alfa-helíces. Resíduos-chave D9, D52, L66, R68, S79, Y98 e K101 estão associados à comunicação intracelular. 101

Figura 34 – Estrutura do lipídeo A contendo pEtN e GalN. 101

Figura 35 – Mecanismos de resistência a antibióticos em *A. baumannii*. A resistência aos antibióticos pode ocorrer por três mecanismos principais: (1) controle do transporte do antibiótico através das membranas — seja pela redução da permeabilidade das porinas ou pelo aumento do efluxo; (2) modificação dos alvos dos antibióticos; e (3) inativação enzimática dos próprios antibióticos. As abreviações incluem: A = aminoglicosídeos; B = beta-lactâmicos; C = cloranfenicol; F = fosfomicina; L = lincosamidas; M = macrolídeos; MATE = extrusão de multirresistentes e compostos tóxicos; MFS = superfamília dos facilitadores maiores; O = oxazolidinonas; P = polimixinas; PBP = proteína ligadora de penicilina; Q = fluoroquinolonas; R = rifamicinas; RND = resistência-nodulação-divisão; S = diaminopirimidinas e sulfonamidas; SMR = família de resistência a múltiplos fármacos de pequeno porte; T = tetraciclinas. 102

Figura 36 – Possível mecanismo de síntese de AgNP por métodos

bacteriogênicos. Os íons Ag+ são reduzidos por a) aminoácidos, açúcares e peptídeos, b) pela ação catalítica em enzimas na superfície ou c) pela interação com grupamentos carboxílicos de proteínas superficiais, sendo convertido a Ag0 que pode se aglomerar e d) depositar extracelularmente; Os íons Ag+ podem ser e) internalizados para o periplasma, sendo reduzidos a Ag0 pela f) atividade catalítica de enzimas ou pela g) interação com aminoácidos, açúcares e peptídeos, podendo se aglomerar e h) serem depositados no periplasma; os íons Ag+ podem ser i) internalizados para o citosol, sendo j) reduzidos por enzimas citosólicas ou ligadas à superfície interna da membrana citoplasmática ou k) reduzidos a Ag0 pela interação com macromoléculas. Os íons Ag0 podem se aglomerar e l) se depositar citoplasmaticamente. 107

Figura 37 – A) da esquerda para a direita, água ultrapura, mistura de AgNO3 e sobrenadante livre de células, e nanopartículas sintetizada; B) Alteração de cor durante processo de síntese de AgCl-NP. 124

Figura 38 – A a D) Microscopia eletrônica de transmissão das AgCl-NP. Barra = 50 nm. 105

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Gráfico 1 – A) distribuição de tamanho por intensidade; B) Potencial zeta por contagem total.....127
Gráfico 2 – Difratograma da suspensão de Ag/AgCl/Ag3PO4-NP liofilizado evidenciando os picos referentes a fases.....128
Gráfico 3 – Curva de calibração para quantificação das AgCl-NP obtidas.....135
Gráfico 4 – Espectro FT-IR do sobrenadante livre de células e das AgCl-NP. Observa-se picos em diferentes números de ondas, indicando a presença de múltiplos grupamentos orgânicos.....136
Gráfico 5 – Espectro UV-Vis evidenciando o pico da ressonância plasmônica das AgCl-NP.....137
Gráfico 6 – Gráfico de banda de energia proibida direta das AgCl-NP. O gráfico evidência a transição eletrônica da camada de valência para a camada de condução. Esse band-gap é demonstrado pela linha vermelha.....138
Gráfico 7 – Cinética de ação antibacteriana das AgCl-NP frente cepas XDR.....140
Gráfico 8 – Curva de atividade hemolítica contra eritrócitos humanos.....142

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Genes fbs e sua anotação funciona Tabela 2 – Métodos químicos de obtenção de AgNPl. 76

Tabela 2 – Métodos químicos de obtenção de AgNPl. 78

Tabela 3 – Limites de detecção (em (mg L^{-1}) de técnicas espectrométricas para alguns elementos.

115

Tabela 4 – Cepas usadas nesse trabalho. 121

Tabela 5 – Parâmetros estruturais obtidos por DRX 121

Tabela 6 – Modelos analíticos para estimativa microestrutural por DRX. 121

Tabela 7 – Atividade antibacteriana das AgCl-NP. 130

Tabela 8 – Área sob a curva dos tratamentos, do controle e suas respectivas taxas de redução. 131

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

4-Ara4N	4-amino-deoxi-L-arabinose
AAC	Acetiltransferase
ABC	ATP-binding cassette
AgNP	Nanopartículas de prata
Ag^{+}	Prata iônica
$AgBF_4$	Tetrafluoroborato de prata
AgCl-NP	Nanopartículas de cloreto de prata
$AgClO_4$	Perclorato de prata
$AgNO_3$	Nitrato de prata
ANT	Nucleotidiltransferase
Ata	*Acinetobacter TA*
BAP	Biofilm associated protein
Bar	*A. baumannii* acinetobactin release
Bas	*A. baumanni* acinetobacter biosynthesis
Bau	*A. baumannii* acinetobactin utilization
Bfn	baumannoferrin
BMDM	bone-marrow-derived macrophage
BLP	BAP-like protein
Car	Carbapenem-associated outer membrane protein
Cpa	coagulation targeting metallo-endopeptidase
CRAB	Carbapenêmico-resistente *Acinetobacter baumannii*
CPS	Capsular polysaccharides
Cu	Cobre
DHBA	2,3-dihidroxibenzoato
DMF	N,N dimetil formamida
DNAe	DNA extracelular
IMP	enzimas modificadoras de aminoglicosídeos
INF-γ	Interferon gama
Itraq	Isobaric tags for relative and absolute quantitation;
LPS	Lipopolissacarídeo
Mn	Magnésio

Mtor	Mammalian target of rapamycin
NDM	New Delhi Metallo-β-lactamase
Ni	Níquel
NP	Nanopartículas
NRPS	Non-ribosomal peptide synthetase
Occ	Outer membrane carboxylate channels
OEF	Operação Enduring Freedom
OHC12-HS	N-(3-hidroxidodecanoil)-l-homoserina lactona
OIF	Operação Iraqi Freedom
OMP	Outer membrane protein
OMS	Organização Mundial da Saúde
OMV	Outer membrane vesicle
OXA	Oxacilinase
PAV	Pneumonia associada a ventilador
PEG	Polietilenoglicol
Plc	Fosfolipase C
PMQR	Plasmid-mediated quinolone resistance
PNAG	Poli-ß-(1-6)-N-acetil-glicosamina
PQQ	Pirroloquinolina quinona
PVA	Álcool polivinílico
PVP	Polivinilpirrolidona
pEtN	Fosfoetanolamina
QRDR	Regiões determinantes de resistência a quinolonas
RAM	Resistência antimicrobiana
RC	Resistência a carbapenêmicos
RMD	Resistente à múltiplas drogas
RND	Resistance nodulation division
SD	Sprague-Dawley
SIM	Seoul Imipenemase
SLC	Sobrenadante livre de células
Sod	Superóxido dismutase
Spsfq	Serina protease extracelular do tipo subtilisina
T1SS	Sistema de secreção tipo 1

T2SS	Sistema de secreção tipo 2
T3SS	Sistema de secreção tipo 3
T4SS	Sistema de secreção tipo 4
T6SS	Sistema de secreção tipo 6
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
Tra	Transference
UDP-glcNAc	Uridina-difosfato-N-Acetil-glicosamina
UEL	Universidade Estadual de Londrina
UEM	Universidade Estadual de Maringá
VIM	Verona integron-encoded metallo-β-lactamase.
Zn	Zinco
Zn^{2+}	Zinco iônico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....25
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... 27
2.1 *Acinetobacter baumannii.....* 27
2.1.1 Características Gerais..... 27
2.1.2 Fatores De Virulência 32
2.1.2.1 Proteínas de membrana externa 32
2.1.2.1.1 Outer membrane protein A 32
2.1.2.1.2 Outer membrane protein W 44
2.1.2.1.3 Outer membrane protein 33- to 36-kDa 47
2.1.2.1.4 Carbapenem-associated outer membrane protein O 48
2.1.2.1.5 Outer membrane carboxylate channels 50
2.1.2.1.6 Proteína de membrana externa AbuO 53
2.1.2.2 Apêndices proteicos 54
2.1.2.2.1 Biofilm-associated protein 54
2.1.2.2.2 Proteínas BAP-like.....58
2.1.2.2.3 Pilus Csu.....59
2.1.2.3 Lipopolissacarídeo e oligossacarídeo.....62
2.1.2.4 Cápsula e exopolissacarídeos..... 64
2.1.2.5 Sistemas de aquisição de íons metálicos e não-metálicos.....65
2.1.2.5.1 Acinetobactina.....66
2.1.2.5.2 Baumannoferritina.....72
2.1.2.5.3 Fimsbactina.....74
2.1.2.6 Sistemas de secreção.....78
2.1.2.6.1 Sistema de secreção tipo 1.....79
2.1.2.6.2 Sistema de secreção tipo 2.....81
2.1.2.6.3 Sistema de secreção tipo 4.....83
2.1.2.6.4 Sistema de secreção tipo 5.....84
2.1.2.7 Bombas de efluxo.....85
2.1.2.7.1 Família resistance nodulation division.....85
2.1.2.7.2 Família multidrug and toxin extrusion..... 87
2.1.2.7.3 Superfamília major facilitator.....88
2.1.2.7.4 Família ATP binding cassette..... 90

2.1.2.7.5 Família proteobacterial antimicrobial compound efflux..... 91
2.1.2.8 Fosfolipases.....91
2.1.2.9 Proteases.....92
2.1.2.10 Biofilme e quorum sensing.....94
2.2 PATOLOGIAS ASSOCIADAS A *A. baumannii*..... 95
2.3 RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS EM *A. baumannii*..... 95
2.3.1 Mecanismos de resistência.....95
2.3.1.1 Resistência aos β-lactâmicos.....95
2.3.1.2 Resistência aos aminoglicosídeos.....97
2.3.1.3 Resistência às tetraciclinas.....98
2.3.1.4 Resistência às fluoroquinolonas.....98
2.3.1.5 Resistência aos macrolídeos.....100
2.3.1.6 Resistência às polimixinas.....100
2.4 NANOTECNOLOGIA.....103
2.4.1 História da nanotecnologia.....103
2.4.2 Nanopartículas de Prata.....105
2.4.2.1 Síntese de nanopartículas de prata.....105
2.4.2.2 Caracterização de nanopartículas de prata.....110
2.3.2.2.1 Espalhamento dinâmico da luz.....110
2.3.2.2.2 Espalhamento eletroforético da luz.....111
2.3.2.2.3 Espectroscopia ultravioleta-visível.....112
2.3.2.2.4 Espectroscopia infravermelho por transformada de Fourier.....113
2.3.2.2.5 Espectroscopia de absorção atômica.....114
2.3.2.2.6 Difração de raios-X.....116
2.3.2.3 Atividade antibacteriana.....117
3 OBJETIVOS.....119
3.1 OBJETIVOS GERAIS.....119
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....119
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....120
4.1 SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE CLORETO DE PRATA.....120
4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS CLORETO DE PRATA.....120
4.2.1 Microscopia eletrônica de transmissão.....120
4.2.2 Espectrometria de absorção atômica.....121
4.2.3 Espectrometria no infravermelho por transformada de Fourier.....121

4.2.4 Espectrometria no ultravioleta-visível.....121
4.3 CEPAS E ISOLADOS.....122
4.4 MICRODILUIÇÃO EM CALDO.....123
4.5 ENSAIO *TIME-KILL*.....*123*
4.6 ENSAIO DE HEMÓLISE.....124
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....125
6 CONCLUSÃO.....142

REFERÊNCIAS

1 INTRODUÇÃO

A resistência aos antimicrobiana e o aumento de casos de patógenos multirresistentes são classificados como um problema global de saúde pública, com impactos previstos de até 10 milhões de mortes anuais e uma redução do produto interno bruto (PIB) global de até 1,1% até 2050 (MURRAY *et al.*, 2022; POUDEL *et al.*, 2023).

É estimado que, em 2019, cerca de 4,95 milhões de mortes estavam associadas a infecções por patógenos bacterianos resistentes a múltiplas drogas (RMD) e 1,27 milhões foram diretamente atribuídas a infecções por patógenos RMD mundialmente. Na América Latina, 338 mil mortes estavam associadas à RMD e 84,3 mil atribuíveis à RMD (MURRAY *et al.*, 2022; AGUILAR *et al.*, 2023). As superregiões mais afetadas, com alta taxa de mortalidade em todas as idades, incluem a própria América Latina (NAGHAVI *et al*., 2024).

Dos principais patógenos bacterianos associados a essas mortes, encontra-se *Acinetobacter baumannii*, responsável por 45,3 mil mortes nas Américas, das quais 14,3 mil foram diretamente atribuíveis à *A. baumannii* resistente a pelo menos 1 antimicrobiano (AGUILAR *et al.*, 2023). Das mortes ocasionadas por *A. baumannii* resistente, 6,16 mil foram decorrentes de *A. baumannii* resistente à carbapenêmicos (RC) e 4,56 mil de *A. baumannii* resistente à fluoroquinolonas (AGUILAR *et al.*, 2023).

A. baumannii é um patógeno oportunista Gram-negativo e agente etiológico de infecções respiratórias como pneumonia associada a ventilador (PAV), infecções da corrente sanguínea, infecções de pele e tecidos moles, especialmente em queimaduras severas e feridas, infecções do trato urinário e meningite, sendo um dos principais patógenos causadores de infecções associadas à assistência à saúde (IRAS) (Moubareck; Halat, 2020). Sua relação com as IRAS, alta taxa de mortalidade, alta tendência ao aumento de resistência e a baixa tratabilidade levou a Organização Mundial da Saúde (OMS) a classificar *A. baumannii* resistente a carbapenêmico (CRAB) como grupo de prioridade crítica para pesquisa e desenvolvimento de novos antibióticos (OMS, 2024).

Infecções ocasionadas por *A. baumannii* resistente a carbapenêmicos (CRAB) tendem a possuir maior mortalidade que infecções por cepas sensíveis, bem como aumento do tempo de internação, maior taxa de utilização de unidade de tratamento intensivo e taxa de readmissão (POGUE *et al.*, 2022).

Como alternativa para o tratamento de *A. baumannii* e CRAB, evidencia-se o uso de nanopartículas de prata, especialmente por sua atividade de amplo espectro, havendo relatos na literatura de sua eficaz ação contra *A. baumannii* (DEONAS *et al*., 2024).

Como possibilidade de tratamento, há a utilização de nanopartículas de prata (AgNPs), como as nanopartículas de cloreto de prata (AgCl-NP), especialmente por sua ação de amplo espectro e sua rápida cinética de ação. As nanopartículas são nanoestruturas de 1 a 100 nm, podendo ser compostas de um núcleo metálico, como as nanopartículas metálicas. Sua atividade antibacteriana está principalmente atrelada ao desbalance redox celular e a geração do estresse oxidativo. Essa atividade pode ser aumentada com sinergismo entre o íon Ag^{+} e Cl^{-}, ambos cedidos pelas AgCl-NP (Li *et al*., 2022). Embora atraente, há uma escassez de estudos na literatura sobre a síntese e a caracterização biológica de AgCl-NP.

Dessa forma, esse trabalho propõe a síntese e a caracterização físico-química-biológica dessas AgCl-NP, bem como sua toxicidade, visando a determinação de sua viabilidade enquanto um antimicrobiano.

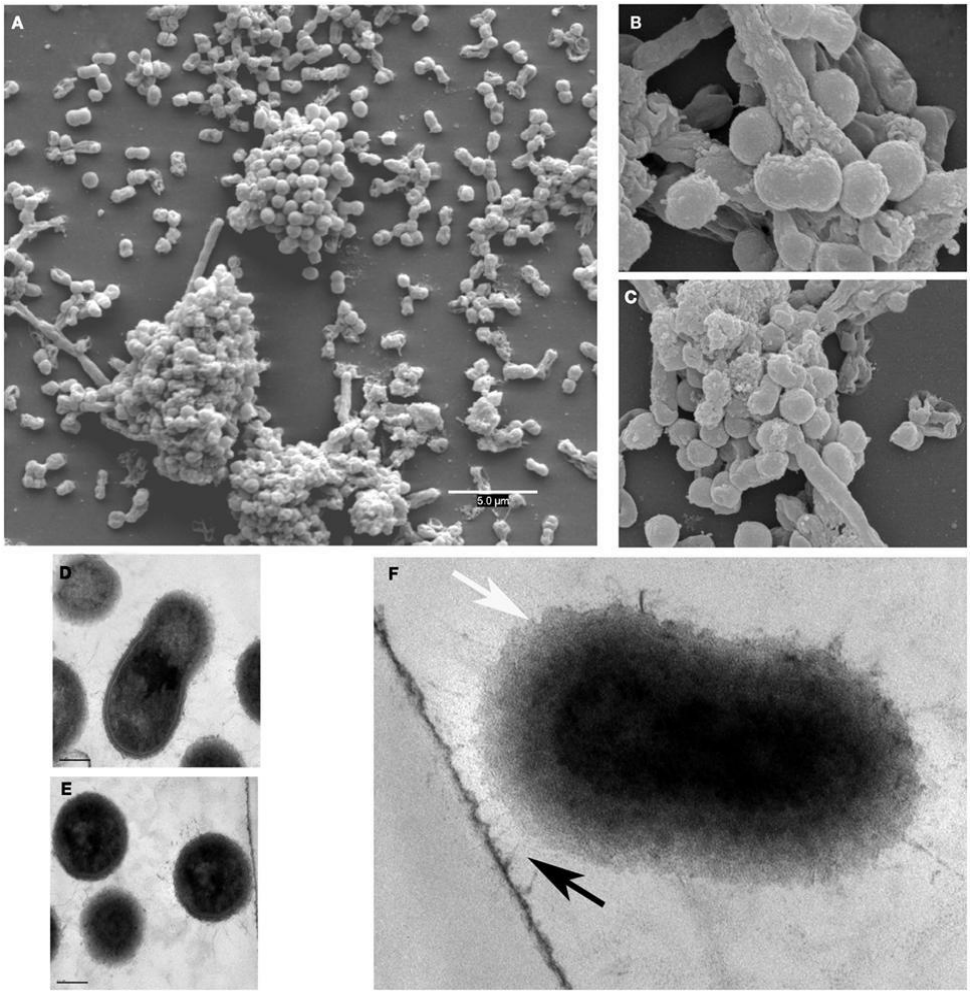
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *ACINETOBACTER BAUMANNII*

2.1.1 Características gerais

As espécies do gênero *Acinetobacter* são bactérias Gram-negativas, caracterizadas por sua morfologia bastonete de 0,9-1,6 um em diâmetro e 1,5-2,5 um em comprimento, que adquirem formato de cocobacilo durante a fase estacionária, ocorrendo aos pares e em cadeias (ASIF; ALVI; REHMAN, 2018; HOLT *et al.*, 1994; TOWNER, 2006) (figura 1).

Figura 1 – Eletromicrografia de varredura e transmissão de *A. baumannii* evidenciando biofilme de *A. baumannii* (A-C) e a ultraestrutura de células de *A. baumannii* (D-E), demonstrando apêndices proteicos (seta preta) e camada de expolissacarídeo (seta branca).



Fonte – ROCA *et al* (2022)

Atualmente o gênero comporta 85 espécies validamente publicadas sob o ICNP (LPSN, 2025). Em função da impossibilidade de separação fenotípicas das espécies *A. calcoaceticus*, *A. baumannii* e as genoespécies 3 e 13TU, essas espécies são todas referidas como pertencentes ao complexo *Acinetobacter calcoaceticus-A. baumannii* (Complexo ACB) (GERNER-SMIDT; TJERNBERG; URSING, 1991).

São bactérias catalase-positiva, oxidase-negativa, imóveis, não-fermentadoras da glicose e aeróbias (ASIF; ALVI; REHMAN, 2018; HOWARD *et al.*, 2012; TOWNER, 2006).

Acinetobacter spp. são ubiquitárias e saprofíticas, passíveis de serem isoladas a partir de amostras de solo, água, esgoto e alimentos, além de determinadas espécies participarem da microbiota da pele humana, especialmente de sítios úmidos como axilas e virilha (TOWNER, 2006). Meios específicos para o enriquecimento de *Acinetobacter* incluem o Meio Baumann, um meio mínimo mineral levemente acídico (pH 5.5-6) (BAUMANN, 1968; TOWNER, 2006).

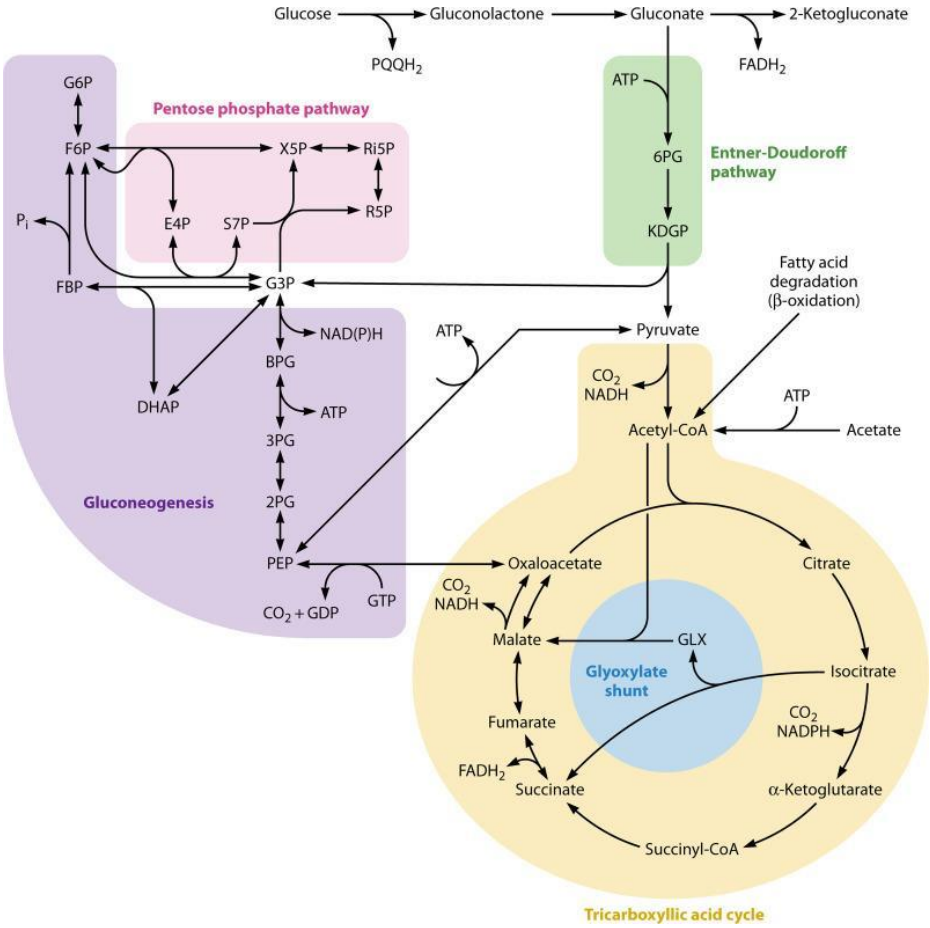
As espécies de *Acinetobacter* spp. são prototróficas, capazes de crescerem através da oxidação de inúmeros compostos orgânicos como fonte de carbono, à exemplo de açúcares, ácidos graxos, álcoois alifáticos, ácidos dicarboxílicos e outros compostos (HOLT *et al.*, 1994; JUNI, 1978).

Especificamente, a espécie *A. baumannii* é capaz de utilizar como fonte de carbono as moléculas 2,3-butanediol, β-alanina, DL-4-amino-butirato, DL-lactato, D-malato, etanol, fenilacetato, glutarato, L-arginina, L-aspartato, L-fenilalanina, L-leucina, L-ornitina, L-tirosina, malonato, trans-aconitato e azelato, além de ser capaz de crescer utilizando citrato como fonte única de carbono (BOUVET; GRIMONT, 1986; HOLT *et al.*, 1994).

Embora as fontes de carbono sejam diversificadas, os carboidratos são mais restritos (JUNI, 1978). Em geral, *Acinetobacter* spp. é capaz de utilizar diversas vias metabólicas como parte do metabolismo central como a via de Enterner-Doudoroff, das pentose-fosfato, do ácido tricarboxílico, a via do glioxilato e a via da gliconeogênese (JUNI, 1978) (figura 2).

Figura 2 – Principais rotas metabólicas de *A. baumannii*, bem como suas fontes

e seus principais intermediários.



Fonte – REN & PALMER (2023)

A maioria das cepas de Acinetobacter spp não são capazes de utilizar a glicose como fonte de carbono por métodos convencionais, principalmente em função da ausência de enzimas-chave nas vias de oxidação da glicose como a hexoquinase, glicoquinase e sistemas de fosfotransferase (PTS) de transporte de glicose (SMITH et al., 2007).

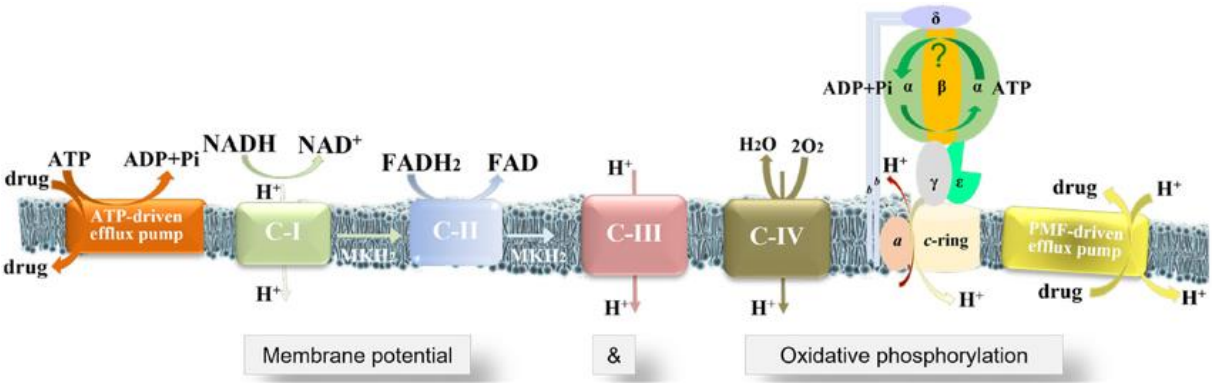
As poucas cepas capazes de utilizarem a glicose como fonte de carbono requerem aldose desidrogenases pirroloquinolina quinona (PQQ)-dependente que convertem a glicose em gluconolactona, posteriormente gluconato que, ao ser fosforilado, entra como intermediário da via de Entrner-Doudoroff (REN; PALMER, 2023).

Um curioso fenômeno, ainda de funcionalidade desconhecida, é a oxidação da glicose em gluconato por *A. baumannii* sem a assimilação do mesmo em nenhuma via metabólica (REN; PALMER, 2023).

Acinetobacter spp. possuem temperatura ótima de crescimento entre 33-35 ºC, com isolados clinicamente relevantes crescendo entre 37-42 ºC (ASIF; ALVI; REHMAN, 2018; BAUMANN, 1968; TOWNER, 2006). *A. baumannii* é a única espécie do gênero capaz de crescer a 44 ºC (ASIF; ALVI; REHMAN, 2018; TOWNER, 2006). *A. baumannii* também é coloquialmente conhecida pelo nome de “iraqibacter” em função do aumento de bacteremias de difícil tratamento em militares feridos internados em unidades militares médicas na região do Iraque/Kuwait, durante a Operação *Iraqi Freedom* (OIF), e Afeganistão, durante a Operação *Enduring Freedom* (OEF) (SCOTT *et al.*, 2004).

Embora seja um organismo aeróbio estrito, *A. baumannii* não dispõe de um citocromo C oxidase como doador terminal, mas estudos de sua cadeia transportadora de *A. baumannii* revelaram a presença de citocromo b_1, a_1, a_2, *o, d*, P-450 flavina (JUNI, 1978; TOWNER, 2006) e complexos I ao IV (figura 3) (JUNI, 1978; SAW *et al.*, 2023) associados ao processo de fosforilação oxidativa.

Figura 3 – Composição da cadeia transportadora de elétrons de *A. baumannii* evidenciando os complexos I a III, associados ao estabelecimento do gradiente eletroquímico da membrana citoplasmática, e o complexo IV, o doador terminal de elétrons.



Fonte – SAW (2023)

Embora seja considerada uma bactéria atríquia, *A. baumannii* apresenta motilidade pulsante (ou *twitching*) e motilidade mediada por superfície (JEONG *et al.*, 2023; SCRIBANO *et al.,* 2024). A primeira, associado a movimentos de extensão, adesão e retração de pili tipo IV e o segundo, associado à liberação de moléculas poliméricas, formação de lipooligossacarídeos e proteínas de membrana externa

(OMP) (JEONG *et al.*, 2024)

Historicamente, os estudos envolvendo o gênero *Acinetobacter* se iniciaram em 1911 pela descoberta da espécie *Micrococcus calcoaceticus*, por Martinus Beijerinck, um dos fundadores da virologia (BEIJERINCK, 1911). Posteriormente, e oficialmente em função da descrição, *M. calcoaceticus* foi renomeada como *Bacterium antitratum* (SCHAUB; HAUBER, 1948), tendo recebido sinônimos de *Diplococcus mucosus* (LINZENMEIER, 1955), *Moraxella lwoffi* var. *glucidolytica* (PIECHAUD; SECOND, 1951), *M*. *glucidolytica* (PIECHAUD; PIECHAUD; SECOND, 1956) e *Neisseria winogradskyi* (LEMOIGNE; GIRARD; JACOBELLI, 1952) ao longo dos anos.

A partir dos trabalhos de Brisou, foi proposta a adição de *B. antitratum* no gênero *Achromobacter sp.* (BRISOU, 1953). A proposta do gênero *Acinetobacter* ocorreu somente em 1957, por Brisou e Prévot, que propuseram um novo gênero especificamente para as espécies imóveis do gênero *Achromobacter* (BRISOU; PREVOT, 1954).

A etimologia de *Acinetobacter* deriva da junção do prefixo grego a-, não, e o verbo grego *kineô*, colocar em movimento, tornando-se palavra neolatina *acinetus*, incapaz de se mover; e o pronome neolatino *bacter*, bastão; juntas, *Acinetobacter*, bastão imóvel.

Uma descrição mais detalhada foi providenciada por P. Baumann, M. Doudoroff e R. Y. Stanier com a proposta de adição de espécies oxidase-negativa de *Moraxella*, em 1968, com base na homologia de sequências de DNA (BAUMANN; DOUDOROFF; STANIER, 1968). O gênero *Acinetobacter* foi aprovado em 1980 (SNEATH; MCGOWAN; SKERMAN, 1980) e continha as espécies *A. calcoaceticus* e *A. lwoffii*.

A adição de novas espécies ao gênero ocorreu em 1986 onde, por meio de análises utilizando hibridização de DNA, novas genoespécies dentro das espécies *A. calcoaceitus* e *A. lwoffii* foram evidenciadas, levando a proposta de três novas espécies: *A. baumannii, A. johnsonii* e *A. junii* (BOUVET; GRIMONT, 1986).

Nomeada em homenagem aos bacteriologistas americanos Paul e Linda Baumann, a espécie *A. baumannii* foi descrita como sendo uma bactéria de conteúdo G+C de 40-43%, produzindo colônias, em ágar tríptico de soja, circulares, convexas e de coloração opaca, com crescimento de 15-44 ºC e, ocasionalmente, requisitando metionina para crescimento em meio mínimo, além de outras características (BOUVET; GRIMONT, 1986). A cepa padrão descrita foi a cepa CIP 70.34, atualmente conhecida por *A. baumannii* ATCC 19606, isolada a partir de urina humana (BOUVET;

GRIMONT, 1986).

2.1.2 Fatores De Virulência

Um patógeno bacteriano é a bactéria capaz de causar uma doença, sendo a doença o resultado de uma lesão tecidual ou dano sistêmico que afeta a homeostase do hospedeiro. A habilidade do patógeno em causar uma doença denomina-se patogenicidade, uma condição quantitativamente medida através da virulência.

Casadevall e Pirofski (2009) definem fator de virulência como um componente microbiano que pode causar dano a um hospedeiro suscetível. Os autores classificam os fatores de virulência utilizando o conceito de *damage-response framework* (rede de dano-resposta), onde entende-se que os microrganismos não são intrinsecamente patogênicos ou não, mas que a virulência é resultado da dinâmica parasito-hospedeiro.

Esses fatores de virulência podem conferir ao microrganismo habilidades como: invadir o hospedeiro, evadir suas defesas, proliferar em seu ambiente interno, neutralizar respostas imunológicas, obter ferro e outros nutrientes do meio, além de detectar alterações nas condições ambientais (CASADEVALL e PIROFSKI, 2009)

2.1.2.1 Proteínas de membrana externa

Um dos principais fatores de virulência de *A. baumannii* são as proteínas de membranas externa.

O principal componente proteico da membrana externa de bactérias Gram-negativas são proteínas formadoras de poros, também chamadas de porinas ou proteínas de membrana externa (*outer membrane protein*; OMP) (NITZAN *et al.*, 1999).

As OMP são proteínas integrais de membrana com topologia β-barril e folhas-β arranjadas em padrão antiparalelo, contribuindo para sua alta, possibilitando que essas proteínas, que possuem uma face exposta, resistam ao ambiente (ROLLAUER *et al.*, 2015).

Em função da exposição e por ser a primeira linha de contato entre o ambiente

e a bactéria, as OMP apresentam funções fisiológicas que variam da adesão às superfícies à captação de nutrientes e de metalóforos (ROLLAUER *et al.*, 2015).

Embora as OMP desempenhem uma miríade de funções, a mais importante delas, clinicamente, é a contribuição para a resistência à quimioterápicos. A membrana externa atua como um filtro molecular para difusão de moléculas hidrofílicas, o que inclui diversos antibióticos (JYOTHISRI; DEEPAK; RAJESWARI, 1999).

A literatura evidencia que a membrana externa de espécies de *A.* como *A. calcoaceticus*, é mais impermeável que de *Pseudomonas aeruginosa e Escherichia coli* em até 100 vezes, tendo Sato e Nakae (1991) sugerido que esse fenômeno se deva pelo tamanho reduzido do poro da OMP, a produção limitada de porinas e a combinação de ambas as condições. É importante ressaltar que tanto a baixa expressão das OMP quanto o diâmetro do poro impactam diretamente na permeabilidade de moléculas antimicrobianas, o que explica a baixa sensibilidade de *A. calcoaceticus* a antibióticos como a cefalosporoinas (SATO; NAKAE, 1991). Para *A. baumannii*, a baixa permeabilidade está sobretudo associada à suas porinas majoritárias, em especial a OmpA, cuja baixa permeabilidade, associada à expressão constitutiva de β-lactamases e bombas de efluxo multidrogas são essenciais para o alto nível de resistência intrínseca dessa espécie (SUGAWARA; NIKAIDO, 2012).

Como supracitado, *A. baumannii* não é uma bactéria desprovida de motilidade, sendo apenas atríquia e exibindo motilidade associada à superfície (JEONG *et al.*, 2023; SCRIBANO *et al.*, 2024), um mecanismo pouco compreendido. Na busca pela melhor compreensão desse tipo de motilidade, Blaschke, Skiebe e Wilharm construíram uma biblioteca com 30 mutantes de *A. baumannii* ATCC 17978 e *A. baumannii* 29D2. Os genes mutados incluíam aqueles associados à biossíntese de purinas, pirimidinas e folato, ao metabolismo de alarmônios, regulação e modificação de RNA, OMPs e genes envolvendo o processo de competência. Em ambas as bactérias, o nocaute dos genes responsáveis por codificar OMPs, *ompA,* A1S_1970 e A1S_3297 ocasionaram a redução da motilidade associada à superfície.

2.1.2.1.1 Outer membrane protein A-like

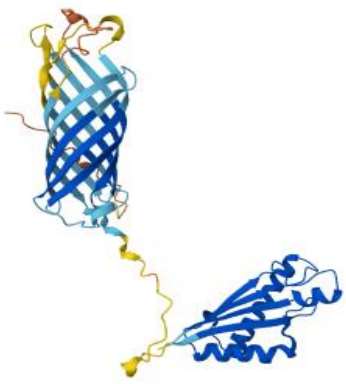
A superfamília OmpA é uma família de proteínas de membrana externa, OMPs (*outer membrane protein*) termossensíveis, com sua superfície e caracterizadas por

um domínio N-terminal, que forma um β-barril por meio de 8 fitas antiparalelas, embebido na membrana externa e um domínio C-terminal globular localizado na região periplasmática (CONFER; AYALEW, 2013). Estruturalmente, é uma proteína em formato de β-barril com 8 cadeias na região N-terminal, localizada na membrana externa, com 4 fitas expostas no meio extracelular, um domínio periplasmático C-terminal que se liga ao diaminopimelato do peptideoglicano através dos resíduos Asp271 e Arg286 (PARK *et al.*, 2012; SCRIBANO *et al.*, 2024) e com um poro de 1,3 a 2 nm (SUGAWARA; NIKAIDO, 2012; JYOTHISRI; DEEPAK; RAJESWARI, 1999) (figura 4).

A. baumannii é conhecida por possuir diversas proteínas OmpA-like, entre elas a proteína OmpA, HMP-AB, PsaB, ArfA e YiaD (GRIBUN *et al.*, 2003; SCRIBANO *et al.*, 2024; SUGAWARA; NIKAIDO, 2012).

À semelhança de outras Gram-negativas, a OmpA (ou OmpAb), é a porina mais abundante na membrana externa de *A. baumannii* (JYOTHISRI; DEEPAK; RAJESWARI, 1999; SCRIBANO *et al.*, 2024), com um número aproximado de 100.00 cópias por célula (OH *et al.*, 2020). A OmpA foi inicialmente identificada e purificada em 1999 por Jyothisri, Deepak e Rajeswari a partir de células de *A. baumannii* ATCC 19606, sendo uma proteína de 40 kDa, regulada por diversos estímulos ambientais, embora a osmorregulação e termorregulação sejam parâmetros determinativos na meia-vida do mRNA de *ompA* (OH *et al.*, 2020). O papel da OmpA está associado à rigidez estrutural, regulação da estabilidade da membrana externa, a permeabilidade de solutos e à resistência a antibióticos (SCHMITT *et al.*, 2023).

Figura 4 – Estrutura conformacional da OmpA.



Fonte – AlphaFold (2025)

A regulação da expressão de OmpA em *A. baumannii* foi inicialmente analisada por Oh e colaboradores (2020), que descobriram o potencial fator transcricional dessa porina, nomeado A1S_0316, um regulador transcricional putativo de alta afinidade contendo um motivo hélice-volta-hélice e pertencente à família *iclR*, uma família associada à regulação de genes de virulência e crescimento intracelular em *Francisella tularensis*.

Através do uso de cepas ΔA1S_0316, foi observado que o A1S_0316 funciona como um ativador para a expressão do gene associada à OmpA, a qual é reprimido pela proteína repressora global H-NS, atuando, portanto, como um anti-repressor de H-NS (OH *et al.*, 2020).

Além do papel de A1S_0316, a ação da cinase sensorial BfmS foi analisada por Liou e colaboradores (2014) que observaram que a perda ou a secreção de OmpA no sobrenadante de culturas de cepa de *A. baumannii* Δ*bfmS*, levaram os autores a sugerirem que a inativação de *bfmS* afeta tanto processos regulação gênica quanto uma modificação traducional da porina, ocasionando atenuação da virulência ainda que não tenha ocorrido alteração da expressão do *ompA*.

Em *A. baumannii*, análises utilizando ensaios de reconstituição de OmpA revelaram que a OmpA(Ab) produz uma atividade de poro 70 vezes menor que da porina OmpF, de *E. coli,* e similar à OmpA de *E. coli* e OprF de *Pseudomonas aeruginosa* (SUGAWARA; NIKAIDO, 2012). Além desse fato, a permeabilidade de membrana externa à antibióticos como cefalotina e cefaloridina foram 100 vezes menos que de *E. coli* K-12, diminuindo mais 2 a 3 vezes em Δ*ompA(Ab)* (SUGAWARA; NIKAIDO, 2012), sugerindo que OmpA(Ab) é a principal porina não-específica de *A. baumannii*.

Embora em *E. coli* K-12 tenha ocorrido uma diminuição da permeabilidade, dados divergentes foram encontrados por Scribano e colabortadores (2024) que observaram que mutantes em Δ*ompA* apresentaram redução de CIM, *i.e*, aumento da sensibilidade, comparado à cepa parental, para aminoglicosídeos, ampicilina-sulbactam, piperacilina, cefepima e levofloxacino, sugerindo que OmpA também afeta o influxo desses antimicrobianos. Blaschke, Skiebe e Wilharm (2021) observaram que cepas Δ*ompA* demonstraram aumento da CIM ao Imipenem e sua diminuição a tetraciclina.

A expressão de OmpA, embora sendo uma porina não-específica, também tem relações com mecanismos de persistência.

Schmitt e colaboradores (2023) encontraram um aumento significativo (p-valor <0,05) na expressão de *ompA* em células persistentes expostas à meropenem, sugerindo que, juntamente a OmpW, células persistentes de *A. baumannii* utilizam OMPs como parte de um mecanismo de persistência à altas doses de meropenem.

Células persistentes correspondem a uma pequena população em uma comunidade de células com uma variação fenotípica que possibilita a tolerância a doses letais de antimicrobianos a qual, geneticamente, são sensíveis (SCHMITT *et al.,* 2023). O fenômeno da persistência está diretamente associado à instauração de infecções crônicas, uma vez que a diminuição do efeito terapêutico ocasiona a diminuição da pressão seletiva sobre o patógeno (SCHMITT *et al.*, 2023).

Por mediar os estímulos ambientais e as respostas fenotípicas, é de se esperar que as OMP possuam efeito sobre a fisiologia bacteriana. Segundo Scribano e colaboradores (2024), mutações no gene *ompA* ocasionaram redução significativa tanto na densidade óptica em 37 ºC quanto nas unidades formadoras de colônias a 42 ºC, na atuação completa da virulência em ensaio com *Galleria mellonella* e, juntamente com outras OMPs, na cessão da motilidade associada a superfície, corroborando, nesses últimos dois fenômenos, com os dados obtidos por Blaschke, Skiebe e Wilharm (2021).

Em função de sua relação com o processo de adesão, a deleção de *ompA* ou a redução de sua expressão também está associada negativamente à formação de biofilme. Gaddy, Tomaras e Actis (2009) observaram a redução na formação de biofilme por cepas mutantes *ompA*, reforçado também por dados de Skerniškytė *et al*. (2019) que observaram que o nocaute de *ompA* na cepa clínica Ab169 resultou no aumento da permeabilidade do iodeto de propídio em 65%, podendo indicar tanto o aumento de células mortas, uma vez que o iodeto de propídio é um fluoróforo que se liga ao ácido nucleico, quanto a redução da integridade da parede celular resultante da perda de OmpA. Essa suposição pode ser corroborada por dados de Blaschke, Skiebe e Wilharm (2021) que observaram redução significativa da formação de biofilme por *A. baumannii* deficiente de *ompA* e por Scribano e colaboradores (2024) que também observaram a redução da formação de biofilme por cepas mutantes *ompA* e a redução da espessura da parede celular. Scribano e colaboradores observaram também redução total da hidrofobicidade da superfície celular de cepas

Δ*ompA*, o que explica a redução da formação de biofilme em placas de poliestireno, um polímero aromático e, portanto, também hidrofóbico.

A hidrofobicidade da superfície celular é um dos principais fatores para a adesão de células microbianas às superfícies abióticas. Quanto maior a hidrofobicidade, mais fortemente as células se aderem a superfícies hidrofóbicas, e vice-versa. Essas características são importantes principalmente no âmbito clínico, uma vez que diversos implantes médicos como cateteres, válvulas cardíacas e marca-passos são construídos utilizando materiais hidrofóbicos como silicone, aço cirúrgico e teflon (KRASOWSKA; SIGLER, 2014)

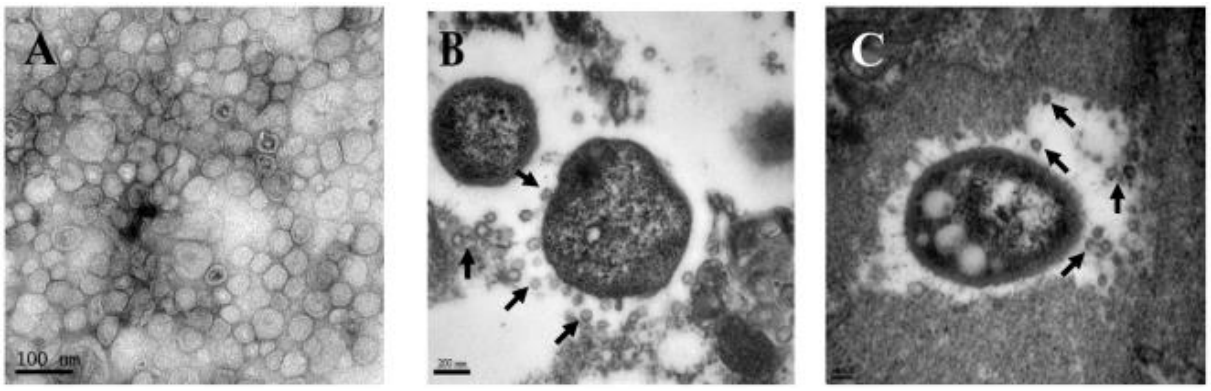
A deleção de *ompA* também está associada à manutenção do peptidoglicano, uma vez que cepas Δ*ompA* demonstraram alteração morfológica, tendendo a formar correntes prolongadas, sugerindo deficiência na divisão celular (SKERNIŠKYTĖ *et al*., 2019). Essa deficiência pode ser explicada pela deleção de resíduos conservados como D268, a qual está associado ao peptidoglicano (SKERNIŠKYTĖ *et al.*, 2019). A complementação de mutantes *ompA* com plasmídeo contendo *ompA*D_{268} (gene *ompA* deficiente do resíduo D268) não eliminou o fenótipo de morfologia alongada observada na cepa Δ*ompA*, sugerindo que a interação do domínio C-terminal é necessária para uma divisão celular apropriada (SKERNIŠKYTĖ *et al*., 2019).

Gaddy, Tomaras e Activas (2009) também observaram que as células da cepa *A. baumannii* 3:233 *OmpA*-deficientes demonstravam quase ou nenhuma adesão em monocamadas de células de pulmão A549, também tendo sido incapazes de invadir as mesmas células, evidenciando o papel dessa proteína no processo de adesão de *A. baumannii* às células eucarióticas. Barati e colaboradores (2024) também observaram a redução da adesão, internalização e proliferação em cultura de células A549 infectadas com *A. baumannii* ATCC 19606 contendo anticorpos Anti-OmpA.

Embora a OmpA não seja uma toxina, a mesma exibe atividade citotóxica *in vitro* e *in vivo*, como observado por Jin e colaboradores (2011). Essa citotoxicidade é mediada por vesículas de membrana externa (*outer membrane vesicle;* OMV) contendo OmpA que são secretadas e internalizadas pelas células eucarióticas. As OMV são nanovesículas biológicas de 20 a 200 nm compostas de LPS, proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos, podendo conter em seu interior fatores de virulência, como toxinas (Jin *et al*., 2011). Jin *et al*. (2011) observaram, através de MET, a secreção de OMVs em ratos imunocomprometidos infectados intratraquealmente (figura 5b e 5c), indicando que as OMV secretadas por *A. baumannii* durante a infecção *in vivo*,

provavelmente, interaja com o hospedeiro.

Figura 5 – Secreção de OMVs de *A. baumannii* durante cultura in vito e infecção in vivo. A) MET de OMVs obtidas a partir de cultura de *A. baumannii* ATCC 19606^{T} em caldo Luria-Bertani. B e C) MET de OMVs em modelo de pneumonia murina.



Fonte – Jin *et al*. (2011)

Análises proteômicas das OMVs liberadas no sobrenadante de culturas de *A. baumannii* em caldo Luria-Bertani revelaram que, das 113 proteínas identificadas, as mais abundantes foram a OMP putativa A1S_0884, com massa molecular de 22,5 kDa e a AbOmpA (A1S_2840), com massa molecular de 38,4 kDa (Jin *et al*., 2011).

Para avaliar se as OMVs foram capazes de entregar fatores de virulência para células eucarióticas através de jangadas lipídica (*lipid rafts*), *i.e.* microdomínios mais organizados e compactos na membrana citoplasmática rica em colesterol e esfingolipídios mais suscetíveis à curvatura e invaginação (O'DONOGHUE; KRACHLER, 2016), foi realizado um ensaio utilizando o agente destruidor de colesterol metil-β-ciclodextrina (MβCD), onde foi observado que essas jangadas lipídicas eram necessários para a internalização das OMVs (JIN *et al*., 2011).

Para confirmar a atividade citotóxica da OmpA, Jin e colaboradores (2011) prepararam cepas mutantes Δ*ompA*, tendo sido observado que as mesmas não induziram apoptose em células U937 nem em concentrações altas. Proteínas recombinantes, internalizadas em micelas, foram preparadas para determinar qual domínio estava associado à toxicidade de OmpA. Os resultados obtidos pelos autores indicaram que os resíduos N-terminais, *i.e.* rAbOmpA$_{22\text{-}170}$ e rAbOmpA$_{1\text{-}356}$, foram

responsáveis pela morte de células HeLa.

O mecanismo associado a essa toxicidade está, sobretudo, relacionado à interação entre OmpA e o núcleo e a mitocôndria do hospedeiro, alterando sua fisiologia funcional (CHOI *et al*. 2008a). A AbOmpA induz a apoptose mitocondrial em um mecanismo associado à ativação da cascata de caspases, com liberação de moléculas pró-apoptóticas como citocromo *c*, fatores indutores de apoptose e ativando a caspase-3, que ativa a caspase-9, ocasionando a degradação do do DNA. (CHOI et al., 2005; CHOI *et al.* 2008a), enquanto no núcleo, a AbOmpA é translocada em um mecanismo mediado e dependente de um um sinal de localização nuclear (*nuclear localization signal;* NLS), composto pelos aminoácidos KTKEGRAMNRR, sendo essencial a presença de dois resíduos de lisina para o processo de translocação da proteína (CHOI *et al.,* 2008a). Após a translocação, sugere-se que ocorra a degradação do DNA cromossomal através da atividade da AbOmpA, onde infere-se que tenha uma atividade enzimática semelhante a DNAse I dependente de cátions divalentes como Ca^{2+}e Mg^{2+} (CHOI *et al*., 2008b).

Compilando seus próprios trabalhos, Choi e colaboradores (2008b) inferiu que, durante o processo de infecção, *A. baumannii* secreta AbOmpA, que é internalizada, podendo atacar a mitocôndria, induzindo a apoptose através da liberação de moléculas pró-apoptóticas do espaço intermembrana, e o núcleo, através de um ataque endonucleotídico, induzindo morte celular (CHOI *et al*., 2008b).

Em infecções pulmonares, os danos induzidos por OmpA também se relacionam ao processo de autofagia celular, um processo de degradação de proteínas citoplasmáticas, organelas danificadas e patógenos intracelulares através da vesiculação e fusão com lisossomos (ZHAO *et al*., 2021).

Através de modelos *in vitro* e *in vivo* utilizando ratos Sprague-Dawley (SD), Zhao e colaboradores (2021) observaram que AbOmpA ocasiona o aumento de citocinas inflamatórias, bem como proteínas LC3, AMPK e PAMPK, associadas ao processo de fagocitose, também tendo encontrado nas células autofagossomos em abundância, expansão do retículo endoplasmático, a ruptura da crista mitocondrial e vacuolização, processos estes associados à autofagia. Segundo os autores, a proteína OmpA de *A. baumannii* promove o processo de autofagia em células pulmonares através da via de sinalização mTOR (*mammalian target of rapamycin - mTOR*; alvo mecanístico da rapamicina), aumentando a capacidade de colonização bacteriana no autofagossomo formado pela autofagia para escapar do *clearance*,

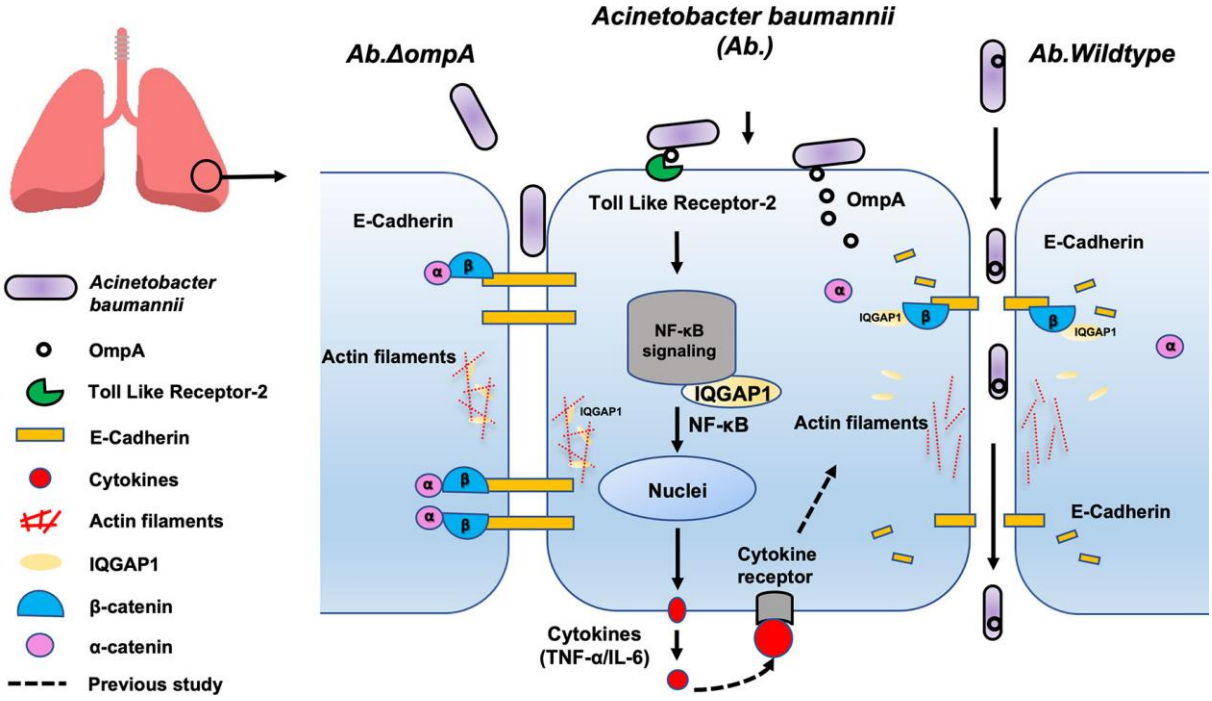
promovendo a liberação de mediadores inflamatórios como IL-1β, GM-CSF, INF-γ e TNF-α, agravando os danos ao hospedeiro.

A proteína OmpA purificada também exerce o efeito de indução de autofagia em outras células, como pesquisado por Tan e Cao (2023), que observaram aumento das proteínas LC3, Beclin1, P62 e LC3II/I em células dendríticas derivadas da medula óssea de camundongos através da via PI3K/mTOR. Os autores também observaram autofagia incompleta, de forma que se sugere que a OmpA induza a autofagia, mas previna a fusão de autofagossomos com lisossomos a fim de escapar do *clearance* do hospedeiro, corroborando com os dados de Zhao *et al*. (2021).

A toxicidade das OmpA às células pulmonares também foi estudada por Zhang e colaboradores (2022), que sugeriram um mecanismo de ação da disfunção da barreira epitelial pulmonar e o processo de translocação bacteriana mediada por OmpA (figura 6), ambos críticos no processo patofisiológico de pneumonias e infecções invasivas secundárias (ZHANG *et al.*, 2022).

No mecanismo proposto, a proteína OmpA se liga ao TLR2, ativando a cascata de sinalização IQGAP1/NF-κB que ocasiona a produção de citocinas epiteliais (TNF-α e IL-6), bem como a dissociação do complexo α-catenina/β-catenina, reduzindo a adesão célula–célula mediada por E-caderina (ZHANG *et al*., 2022). Os autores também observam a diminuição da interação entre IQGAP1 e F-actina, resultando em remodelação dinâmica do citoesqueleto associada à inibição da migração celular. Todos esses fatores, em conjunto, resultaram em aumento da permeabilidade pulmonar e promoção da disfunção da barreira epitelial e translocação de *A. baumannii* (ZHANG *et al*., 2022).

Figura 6 – A OmpA de A. baumannii ativa TLR2/NF-κB, induz inflamação e desorganiza as junções celulares e o citoesqueleto do epitélio pulmonar, enfraquecendo a barreira e facilitando a passagem da bactéria através do epitélio.



(2022).

Fonte – Zhang *et al*. (2022)

Outra porina purificada a partir de *A. baumannii* é a porina HMP-AB (Heat-modifiable protein), uma porina de peso molecular de 43 kDa – 37 kDa se corrida sem aquecimento –, com característica hidrofílica e papel no transporte de açúcares quando incorporada em lipossomas, embora seja menos permeável à L-arabinose quando comparada à porinas de *E. coli* (GRIBUN et al., 2003).

A HMP-AB é considerada uma das porinas de membrana externa mais abundantes em *A. baumannii*, cuja diâmetro do poro permite passagem de solutos de até 800 Da (GRIBUN *et al.*, 2003). É codificada por uma janela de leitura de 1038 pb que codifica 346 aminoácidos, das quais somam aproximadamente 36 kDa. A composição da HMP-AB é semelhante à de porinas de outros Gram-negativos, tendo um índice de hidropatia altamente negativo, alto conteúdo de glicina e ausência de resíduos de cisteína (GRIBUN *et al.*, 2003).

Comparativamente, HMP-AB apresenta maior homologia à OmpA de *E. coli* que OmpF de *Pseudomonas* sp., sendo considerada uma porina OmpA-*like* com uma permeabilidade limitada (GRIBUN *et al.*, 2003).

Outra OmpA-*like* é a porina PsaB, uma proteína de 18 kDa altamente conservada entre *Acinetobacter* spp., compartilhando 33% de identidade com OmpA de *A. baumannii* AB5075 e supondo-se interagir com a proteína TolB-Pal (SCRIBANO *et al.*, 2024), proteína pertencente ao sistema Tol/Pal, um sistema coordenado e complexo associado à manutenção e integridade do envelope de Gram-negativas e cuja deleção dos genes do operon *tol-pal (TolQ, TolR, TolA, TolB* e *Pal)* está diretamente associada à invaginações na membrana, aumento da liberação de vesículas externas, aumento da sensibilidade à detergentes como polimixinas e alteração da composição do lipopolissacarídeo (SZCZEPANIAK; WEBBY, 2024).

Em *A. baumannii*, a deleção do gene *psaB* está diretamente associada à diminuição da permeabilidade da membrana, à redução do crescimento bacteriano a 37 ºC e 42 ºC, entretanto, em menor extensão comparada à deleção de *ompA*, o aumento da taxa de sobrevivência ao etanol, baixo pH, alta salinidade, triton X-100 e clorpromazina (SCRIBANO *et al.*, 2024). Especula-se que a o impacto da ausência da *psaB* na fisiologia, motilidade e tolerância refere-se ao impacto nas proteínas TolB-Pal, de forma que afete a integridade da membrana externa e motilidade associada à superfície (SCRIBANO *et al.*, 2024).

A porina OmpA-*like* ArfA compartilha 37% de similaridade com OmpA de *A. baumannii* AB5075, sendo expressa pelo gene *arfA* (ABUW_2730), com 1,4 kpb (SCRIBANO *et al*., 2024). Pouco é conhecido sobre os impactos de *arfA* sobre a fisiologia, metabolismo e virulência de *A. baumannii*, exceto os dados obtidos por Scribano e colaboradores (2024) que observaram que células Δ*arfA* possuem defeitos no crescimento na fase exponencial, afetando inversamente a resistência mecânica da membrana externa ao estresse, de forma que a ausência de *arfA* contribua com a rigidez e a integridade do envelope celular.

A deleção de *arfA* também está associada à redução da hidrofobicidade da superfície celular, como observado por Scribano *et al*. (2024) em ensaios de agregação do sal $(NH_4)_2SO_4$. Juntamente à deleção de *ompA*, mutantes *arfA* tiveram uma redução estatisticamente significativa da formação de biofilme, a qual é uma concordância à diminuição da hidrofobicidade da superfície celular.

A proteína YiaD é uma OmpA-*like* com similaridade de 45% com OmpA de *A. baumannii* AB5075 (LEI *et al*., 2022; SCRIBANO *et al*., 2024). Por meio de análises de reticulação química associadas à espectrometria de massa, Wu e colaboradores (2016) identificaram principalmente OmpA e YiaD como um dos centros da rede de

interação em *A. baumannii* AB5075, também sendo as proteínas mais frequentemente identificadas nos experimentos e exibindo as arestas mais densas na rede de interação proteica. A expressão da YiaD também está relacionada com uma resistência fenotípica ao meropenem, como descrito por Lei *et al*. (2022) que observaram redução da expressão de *yiaD* em cepas resistentes aos carbapenêmicos coprodutores das β-lactamases TEM e OXA-23, e o aumento de 4 vezes o CIM de AB5116 para o meropenem após a deleção do gene, sugerindo que a expressão de *yiaD* é dependente de estímulos ambientais adversos. Os autores também observaram que a deleção de *yiaD* ocasionou uma redução da formação do biofilme e alteração da morfologia das colônias de AB5116, resultando em colônias largas e irregulares. Embora pouco se saiba a respeito de YiaD, a proteína foi identificada em *E. coli* como uma lipoproteína putativa associada ao peptideoglicano, não essencial ao crescimento, mas reduzindo a motilidade swarming em *E. coli*. Também é especulado pelos autores que YiaD tem atividade similar à porina CarO, atuando como um canal de transporte de meropenem.

Scribano e colaboradores (2024) observaram que cepas mutantes yiaD apresentaram redução da espessura da célula e aumento da permeabilidade celular, entretanto, não observaram alteração da concentração inibitória mínima ao meropenem como foi observado por Lei *et al.* (2023), embora tenha sido relatado aumento da tolerância ao meropenem em ensaios de tolerância ao estresse. Juntamente ao aumento da resistência ao soro humano por cepas mutantes de *yiaD*, também foi observado atenuação da virulência, parcialmente restaurada após complementação de plasmídeos contendo gene *yiaD*. Outro fenômeno encontrado por Scribano e colaboradores (2023) foi o aumento do crescimento a 42 ºC ocasionado pela deleção de *yiaD*

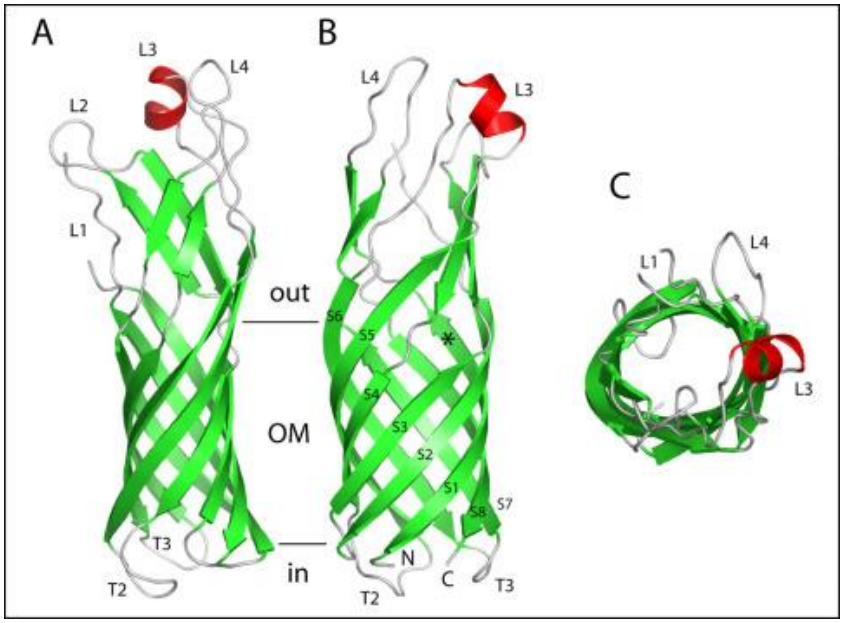
Diferentemente de Lei *et al.* (2022), Scribano e colaboradores (2023) também não observaram envolvimento da proteína YiaD na formação de biofilme, sugerindo que essa porina esteja mais associada à virulência *in vitro* e *in vivo*, na permeabilidade da membrana externa e fisiologia do que no processo de formação de biofilme.

Embora sejam *apenas* porinas, a deleção de OmpA-*like* está associada a efeitos pleiotrópicos no crescimento bacteriano, motilidade associada à superfície, virulência *in* vivo, formação de biofilme, resistência ao soro e, sobretudo resistência à antibióticos (SCRIBANO *et al.*, 2024).

2.1.2.1.2 Outer membrane protein W

A porina OmpW é uma proteína pertencente à família OmpW/AlkL, composta por pequenas proteínas de membrana externa de 200 a 300 aminoácidos com 8 fitas que formam um β-barril, sendo amplamente distribuída por entre bactérias Gram-negativas (HONG *et al*., 2006). A estrutura de OmpW foi primeiramente caracterizada por Hong e colaboradores, em 2006. É uma porina com cerca de 50-Å com um formato elipsóide e dimensões de aproximadamente 17 × 12 Å em seu corte transversal (figura 7). O barril possui um número de cisalhamento de 10, tornando a OmpW estruturalmente semelhante a OmpA e NspA (de *Neisseria meningitidis*) (HONG *et al.,* 2006), também apresentando alta homologia à OmpW de E. coli e P. aeruginosa (VILA, J.; MARTÍ, S.; SÁNCHEZ-CÉSPEDES, J., 2007)

Figura 7 – Visão geral da estrutura de OmpW. A e B) diagrama de fitas das visões laterais da porina mostrando laços extracelulares (L), dobras periplasmáticas (T), domínio N-terminal e C-terminal; C) visão superior da OmpW do ponto de vista extracelular demonstrando formato elipsóide da proteína.

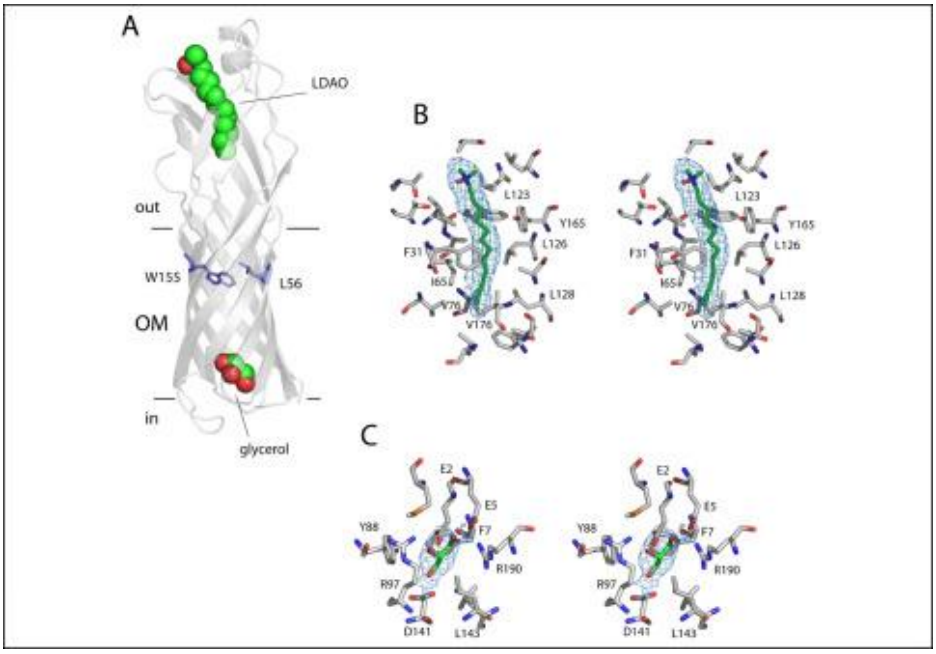


Fonte – Hong *et al*. (2006)

A estrutura mais notável de OmpW, como descrito por Hong e colaboradores (2006), é seu interior hidrofóbico, dotado de um portão hidrofóbico formado pelos resíduos L56 (leucina) na fita S3 e resíduo W155 (triptofano) na fita S7, que fecham o

canal da porina (figura 8).

Figura 8 – A) Estrutura em fita da OmpW com os ligantes LDAO e glicerol visíveis no canal; Leu56 e Trp155, do possível portão hidrofóbico, são destacados em azul; B) Close do bolsão hidrofóbico contendo LDAO, com mapa de densidade 2Fo-Fc contornado a 1,2 σ e resíduos próximos identificados; C) Close do sítio de ligação do glicerol no lado periplásmico, também com mapa 2Fo-Fc e resíduos do sítio destacados.



Fonte – Hong *et al*. (2006)

Análises proteômicas realizadas por Yun e colaboradores (2008) utilizando eletroforese unidimensional seguida de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem (1-DE/LC/MS-MS) evidenciaram que a exposição de *A. baumannii* DU202, uma cepa RMD e altamente resistente à tetraciclina, à concentrações subinibitórias de tetraciclina induziram aumento da secreção de porinas, em especial a OmpW, e a redução da expressão na membrana citoplasmática, levando os autores a sugerir que concentrações subCIM de tetraciclina possa regular a expressão dessas OMPs na membrana.

Esse fenômeno de secreção de OMPs é observável em outras *Acinetobacter* spp. como resposta a estressores químicos como álcoois e compostos aromáticos (YUN *et al*., 2008).

A redução da expressão de OmpW também pode ser observada por outros

autores na exposição à diferentes antibióticos e em diferentes bactérias e diferentes cepas de *A. baumannii*, como em uma cepa *A. baumannii* resistente a polimixina (VILA, J.; MARTÍ, S.; SÁNCHEZ-CÉSPEDES, J., 2007), em uma cepa de *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium resistente à ceftriaxona (HU, W. S; LI, P-C.; CHENG, C-Y., 2005; VILA, J.; MARTÍ, S.; SÁNCHEZ-CÉSPEDES, J., 2007) e na cepa *A. baumannii* RS307 resistente a β-lactâmicos (TIWARI *et al*., 2012). Esses dados levaram todos os autores a sugerirem o papel da captação de antibióticos pela OmpW.

Entretanto, dados divergentes foram observados por Chopra, Ramkissoon e Anderson (2013) e Schmitt e colaboradores (2023) que, contrariamente à Tiwari *et al*. (2012), observaram aumento na produção de OmpW em cepas resistentes a múltiplas drogas e em células persistentes expostas a altas doses de meropenem, respectivamente.

O melhor entendimento da função da OmpW proveio de estudos conduzidos por Catel-Ferreira e colaboradores (2016) que, através da reconstrução de OmpW em uma bicamada lipídica artificial, demonstraram que a OmpW interage com a colistina e o ferro, mas não imipenem. Nesse mesmo estudo, também foi observado que sua perda não gera impacto na sensibilidade de *A. baumannii* à colistina e ao imipenem. Por meio da avaliação do acúmulo de ^{55}Fe *in vivo* por cepas mutantes Δ*ompW*, Catel-Ferreira *et al.* (2016) observaram que a OmpW está envolvida tanto na aquisição do ferro quando na sua homeostase. Os dados de Catel-Ferreira *et al*. (2016) corroboram a observação de Nwugo e colaboradores (2012) que evidenciaram a indução da expressão de OmpW em cenários com repleção de ferro.

Wu e colaboradores (2016) observaram que, para além da resistência, as faces periplasmáticas de OmpW é capaz de interagir com enzimas do sistema antioxidante, como a superóxido dismutase (SodC) e a carbapenemase oxa-23.

Para além da sua relação na homeostase do ferro, a OmpW também está associada à virulência e patogenicidade de *A. baumannii*, como sugere Gil-Marqués, Pachón e Smani (2022).

A. baumannii é um aeróbio obrigatório que necessita se adaptar às condições de hipóxia durante o processo de infecção. Em seu trabalho, Gil-Marqués *et al*. (2016) observaram que condições de hipóxia diminuíram a adesão e invasão de *A. baumannii* a células epiteliais e macrófagos. Em trabalho posterior, utilizando análises proteômicas com abordagem de marcações isobáricas para quantificação relativa e absoluta (*isobaric tags for relative and absolute quantitation*; iTRAQ), Gil-Marqués,

Pachón e Smani (2022) foram capazes de observar a regulação negativa da OmpW durante infecção de células A549 pela cepa *A. baumannii* ATCC 17978 e a redução da adesão, invasão e citotoxicidade à A549 por um mutante ΔOmpW. A relação entre a patogenicidade de *A. baumannii* e OmpW foi mais bem reforçada em ensaio de modelo de sepse murina peritoneal onde mutantes ΔOmpW possuíam uma dose mínima letal maior comparada à cepa selvagem.

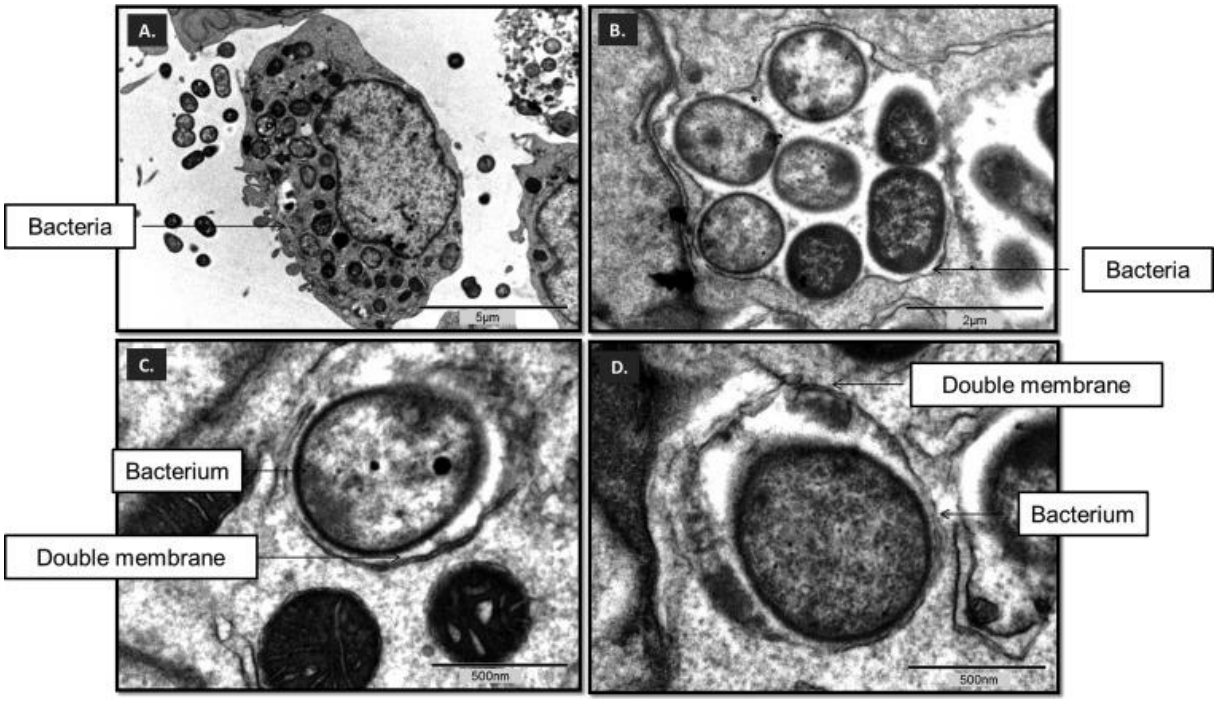
2.1.2.1.3 Outer membrane protein 33- to 36-kDa

A proteína de membrana externa 33-36 kDa (Omp33-36 e Omp33), também chamada de MapA (*modulating autophagy protein* from *Acinetobacter* A) é uma OMP codificada pelo gene *mapA,* localizada na superfície celular, sendo associada tanto à resistência ao meropenem e imipenem, quanto a processos patofisiológicos (RUMBO *et al*., 2014; SMANI; DOMINGUÉZ-HERRERA; PACHÓN, 2013; TOMÁS *et al*., 2005). É uma OMP que compartilha características clássicas de porinas de Gram-negativos como alto conteúdo de glicina, ausência de resíduos de cisteína e carga negativa (TOMÁS *et al.*, 2005). Semelhante à OmpA, Omp33/MapA é passível de liberação em OMVs (RAMBO *et al.,* 2014).

Seu papel na fisiologia de *A. baumannii* está associado à captação de nutrientes, razão pela qual o nocaute de seu gene está relacionado à diminuição do crescimento (SMANI; DOMINGUÉZ-HERRERA; PACHÓN, 2013).

Sua relação com a patogenicidade de *A. baumannii* se assemelha à de OmpA. Sua deleção indica que a Omp33-36 está relacionado ao processo de aderência quanto invasão de células epiteliais de pulmão humano e na citotoxicidade a essas células epiteliais e de macrófagos (SMANI; DOMINGUÉZ-HERRERA; PACHÓN, 2013) (figura 9).

Figura 9 – Eletromicrografia de transmissão de macrófagos RAW 264.7 demonstrando autofagossomos (organelas de dupla membrana) contendo células ativas de *A. baumannii*. A) macrófagos incubados (12 h) com *A. baumannii* ATCC 17978; B) Células *A. baumannii* aprisionadas em uma autofagossomo de macrófagos; C) e D) bactérias individuais envoltas em dupla membrana



Fonte – Rumbo *et al*. (2014)

Em modelo *in vivo* de sepse peritoneal murina, a deleção de Omp33-36 também está relacionada à menores DL_0, DL_{50} e DL_{100}, bem como redução da diminuição da concentração bacteriana no baço e pulmões (SMANI; DOMINGUÉZ-HERRERA; PACHÓN, 2013).

O mecanismo dessa toxicidade foi futuramente investigado por Rambo e colaboracdores (2014) que observaram que a Omp33-36 é capaz de induzir o processo de apoptose e a modulação da autofagia por meio da ativação de cascatas de caspases, inibindo o processo de autofagia e possibilitando a persistência das células de *A. baumannii* em autofagossomos, induzindo a citotoxicidade (RAMBO *et al.,* 2014).

2.1.2.1.4 Carbapenem-associated outer membrane protein O

A proteína de membrana externa CarO (*carbapenem-associated outer membrane protein*) é outra porina de *A. baumannii* associada à sua resistência, estando essas proteínas associada à resistência aos carbapenêmicos e captação da ornitina (SIROY *et al*., 2005; ZAHN *et al*., 2015). Trata-se de uma OMP termo-modificável de 25/29 kDa, composta de 225 resíduos, formada por um monômero de β-barril com 8 fitas, com um domínio extracelular que se assemelha a uma luva,

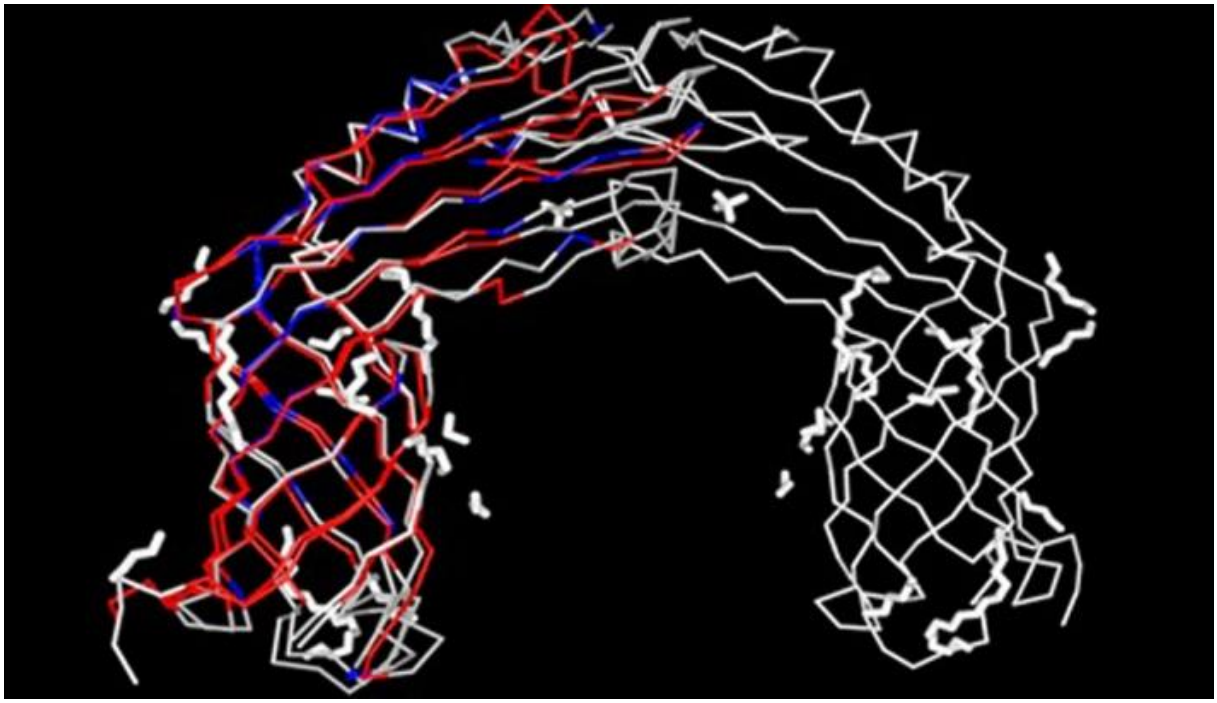
possuindo quatro isoformas, CarO1-CarO4, que compartilham entre si 70-75% identidade de suas sequências, sendo a isoforma CarO3 a mais prevalente (SIROY *et al.*, 2005; ZAHN *et al.,* 2015). CarO também pode ser dividida em dois grandes grupos baseados em suas sequências, CarOa e CarOb, sendo o canal de CarOb duas vezes mais específico que CarOa para o meropenem, entretanto, CarOa facilita a difusão de ornitina, algo que CarOb não é capaz (CATEL-FERREIRA *et al*., 2011).

Embora as análises anteriores de Siroy *et al* (2005) e Catel-Ferreira *et al*. tenham identificado propriedades de formação de poros em ensaios de reconstituição em bicamada lipídica artificial com seletividade ligeiramente catiônica e sem fechamento voltaico, análises cristalográficas conduzidas por Zahn e colaboradores (2014) determinaram que CarO e suas isoformas como sendo desprovidas de um canal.

Segundo as análises de Siroy et al (2005), nenhum sítio de ligação ao imipenem foi encontrado em CarO, levando os autores a concluírem que essa proteína forma um canal monomérico específico. Entretanto, dados divergentes foram encontrados por Catel-Ferreira e colaboradores (2011) que foram capazes de identificar um sítio ao imipenem, mas não ao meropenem, também observando que sua especificidade depende de sua estrutura primária. Segundo os autores, a diminuição da expressão da CarO também reduz a sensibilidade de *A. baumannii* ao meropenem.

Segundo Zhu, Chen e Hou (2019), embora isolados resistentes a imipenem e sensíveis a esse antibiótico possam possuir o gene de CarO, mutações foram identificadas nesse gene presente nas cepas resistentes, corroborado pela análise das sequências de aminoácidos que exibem cerca de 80.9% de similaridade entre si, deleções no resíduo 133, inserções nos resíduos 140-141 e 154-156 e diferenças significativas na estrutura tridimensional (figura 10).

Figura 10 – Estrutura tridimensional da CarO de cepas sensíveis e resistentes ao imipenem. Vermelho: mesmos aminoácidos; azul: aminoácidos diferentes; branco: sequências não correspondentes.



Fonte – Zhu, Chu e Hou (2019)

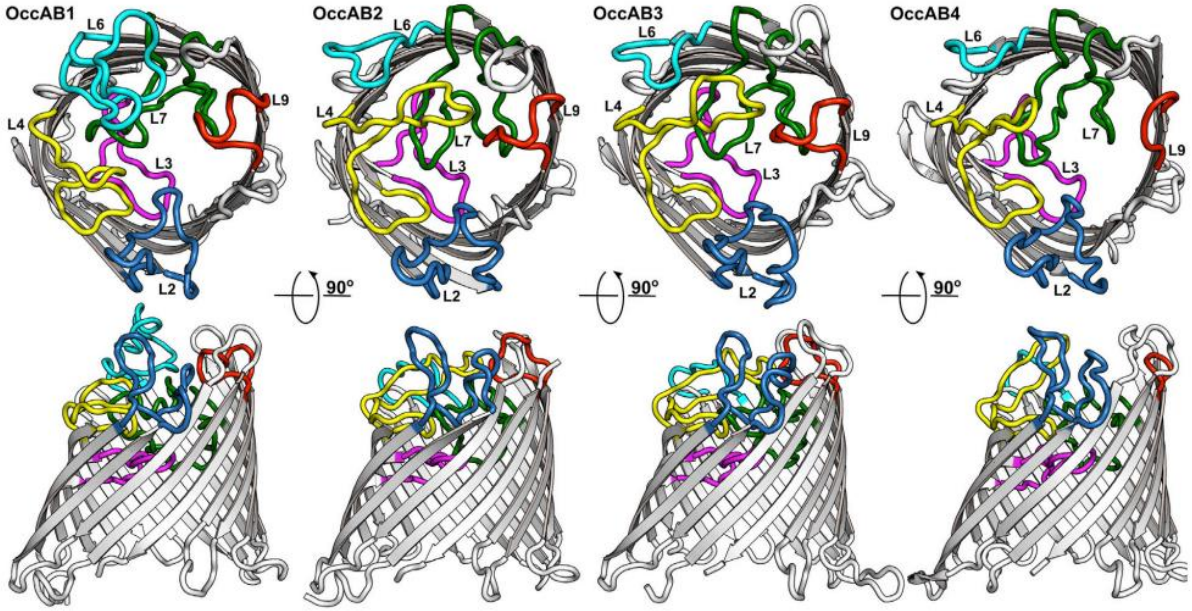
2.1.2.1.5 Outer membrane carboxylate channels

Os canais de membrana externa carboxilados (Occ; *outer membrane carboxylate channels*; anteriormente OprD; outer membrane porin D) correspondem a um grupo de porinas relacionadas à difusão de moléculas através da membrana externa de *A. baumannii*, que não dispõe de proteínas contendo grandes canais (CATEL-FERREIRA *et al*., 2012; EREN *et al*., 2012; ZAHN *et al*., 2016).

As Occ Correspondem a porinas β-barris formadas por 18 fitas, com um canal extremamente estreito, positivamente carregado e alta especificidade a determinados substratos (aminoácidos básicos e oligopeptídeos contendo esses aminoácidos), com peso molecular de 43kDa (CATEL-FERREIRA *et al.*, 2012). *A. baumannii* dispõem de 5 Occ diferentes, que podem ser filogeneticamente divididas nas subfamílias OccD (anteriormente OprD), OccK (anteriormente OpdK) e OccAB2-4: OccAB1 (OprD), OccAB2 (HcaE; responsável pelo transporte de hidroxicinamato), OccAB3 (VanP; responsável pelo transporte de vanilato), OccAB4 (BenP; responsável pelo transporte de benzoato), and OccAB5 (EREN *et al*., 2012; ZAHN *et al*., 2016) (figura 11).

Figura 11 – Comparação dos vestíbulos extracelulares de proteínas OccAB demonstrando os loops L2 (azul escuro), L3 (magenta), L4 (amarelo), L6 (ciano), L7

(verde) e L9 (vermelho). Linha superior: vista do lado extracelular. Linha inferior: vista lateral.



Fonte – Zahn *et al*. (2016)

Para o transporte eficiente, os substratos da Occ necessitam da presença de um grupamento carboxila, razão pelo qual foi nomeada como tal (EREN *et al.*, 2012).

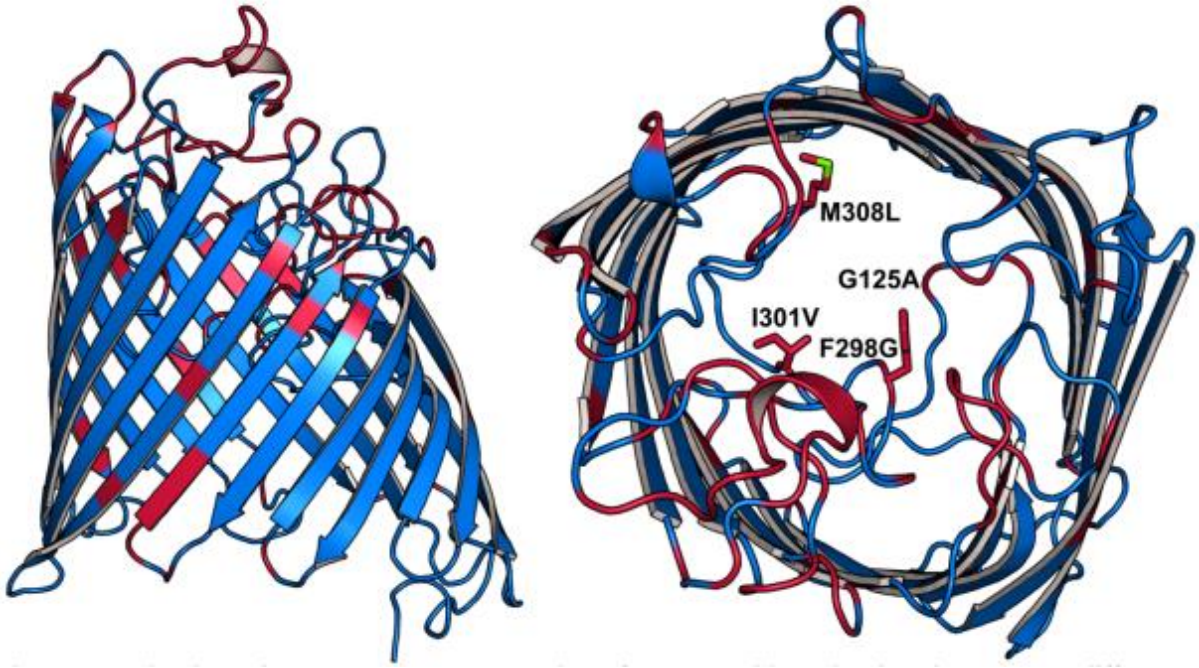
As Occ de *A. baumannii* compartilham uma homologia de 49% com a porina OprD de *P. aeruginosa*, uma superfamília de proteínas canal com atividade específica e diretamente relacionada à resistência a carbapenêmicos em *P. aeruginosa*, uma vez que sua deleção está associada a diminuição da sensibilidade ao imipenem e meropenem (CATEL-FERREIRA *et al.*, 2012).

Em *A. baumannii* a OprD/Occ não está relacionada à resistência a carbapenêmicos, entretanto, enquanto uma proteína semelhante a OprQ, contribui para a adaptação a ambientes com depleção de magnésio e ferro (CATEL-FERREIRA *et al.,* 2012).

A Occ mais estudada de *A. baumannii* é a OccAB1, anteriormente associada à captação de imipenem mas cuja nocaute não afeta sua sensibilidade a imipenem, meropenem, colistina, ceftazidima e ciprofloxacino (CATEL-FERREIRA *et al*., 2012; ZAHN *et al.*, 2016). A OccAB1 é a Occ com maior poro dentre as proteínas Occ (figura 12), o que corresponde a sua alta taxa de captação de moléculas pequenas (ZAHN *et*

al., 2016), mas sendo induzível na depleção de íons metálicos, podendo estar, portanto, relacionada a captação de metais durante a imunidade nutricional e o estresse induzida pelo hospedeiro durante o processo de infecção (UPPALAPATI, S. R.; SETT, A.; PATHANIA, R., 2020).

Figura 12 – Representação em *cartoon* da proteína OccAB1 (azul) mostrando as diferenças de sequência entre a proteína OccAB1 de *A. baumannii* AB307-0294 e ATCC 17978 (vermelho). À esquerda: vista lateral. À direita: vista superior.



Fonte – Zahn *et al*. (2016)

Uma vez que estão associadas à captação de nutrientes, é de se esperar que as Occ estão associadas ao fitness bacteriano e, portanto, à virulência. Como observado por Hua e colaboradores (2021), análises genômicas de isolados ST2/KL22 CRAB (*A. baumannii* carbapenem-resistente; *Carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii*) revelou diferenças nos *locus* do gene *oprD* entre isolados de alta e baixa virulência, mais especificamente, a presença de um códon de parada prematura em cepas de baixa virulência resultavam em uma expressão truncada da proteína OccAB1. A relação entre a virulência e a OccAB1 foi confirmada em ensaios

in vivo com ratos C57BL/6 onde o nocauteamento de *oprD* resultava na atenuação da virulência e sua complementação em cepas avirulentas resultava em um fenótipo altamente virulento.

2.1.2.1.6 Proteína de membrana externa AbuO

A proteína de membrana externa AbuO é uma proteína homóloga a TolC de *E. coli* (47.9% de similaridade), contendo cerca de 488 aminoácidos e sendo codificada pelo gene *abuO* de 1347 pb, cuja região promotora possui um sítio de ligação do SoxR, um regulador transcricional tipo MerR (SRINIVASAN, V. B.; VAIDYANATHAN, V.; RAJAMOHAN G., 2015).

Segundo a predição de sua estrutura secundária, AbuO consiste em três domínios, um β-barril ou domínio canal (composto por 4 fitas-β B1, B2, S4 e S5), um barril α-helicoidal ou domínio do túnel (composto de longas α-hélices H3 e H7 e curtas α-hélices H2, H4, H6 e H8) e uma mistura de domínios a/B ou domínio equatorial (composto de uma pequena fita-β e estruturas α-helicoidais S3, S6, H1, H5 e H9 (SRINIVASAN, V. B.; VAIDYANATHAN, V.; RAJAMOHAN G., 2015).

A TolC é um arquétipo de OMP, sendo considerada uma proteína multifuncional, envolvida na integridade da membrana citoplasmática, tolerância a ácidos, extrusão de metabólitos, exportação de sideróforos, exportação de plasmídeos e toxinas, sendo uma proteína promíscua por contribuir para o funcionamento de bombas de efluxo multidrogas como AcrD, AcrEF e MdtABC (SRINIVASAN, V. B.; VAIDYANATHAN, V.; RAJAMOHAN G., 2015).

A inativação do gene *abuO* está associada ao aumento da sensibilidade a alta osmolaridade e ao estresse oxidativo (SRINIVASAN, V. B.; VAIDYANATHAN, V.; RAJAMOHAN G., 2015).. Cepas *abuO*-mutantes também demonstraram aumento da sensibilidade a amicacina, carbenicilina, ceftriaxona, meropenem, estreptomicina, tiigeciclina e aos desinfetantes clorexidina e cloreto de benzalcônio (SRINIVASAN, V. B.; VAIDYANATHAN, V.; RAJAMOHAN G., 2015).

Sua inativação também está associada à atenuação da virulência em modelo de nematódeo, indicando papel no processo de virulência de *A. baumannii* (SRINIVASAN, V. B.; VAIDYANATHAN, V.; RAJAMOHAN G., 2015).

2.1.2.2 Apêndices proteicos

2.1.2.2.1 Biofilm-associated protein

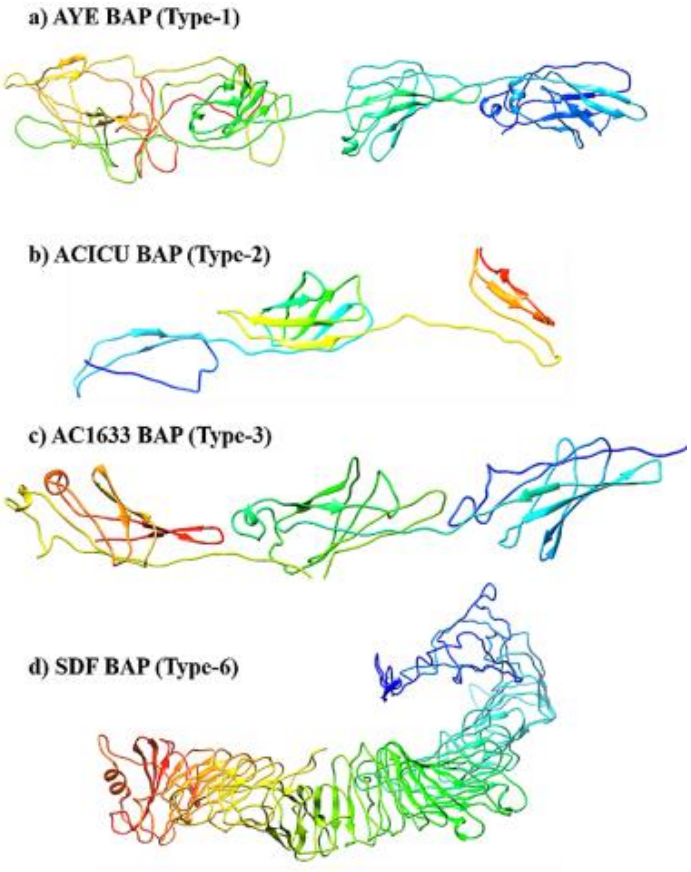
A proteína associada ao biofilme (BAP; *biofilm-associated protein*) foi inicialmente descoberta por Loehfelm, Luke e Campagnari (2007), tendo sido descrita como uma proteína composta de 8.621 aminoácidos, homóloga à BAP estafilocócica e sendo codificada por um gene de 16 kpb a ~26 altamente conservado entre populações de *A. baumannii* mesmo de sequências-tipo diferentes (GOH *et al*., 2013). O operon *bap* é composto de múltiplas cópias de sete unidades repetidas (*bapA-G*), sendo que as cópias A-D apresentam domínios bacterianos semelhantes à Ig, grupo 3 (*bacterial Ig-like domain*, group 3), amplamente encontrado em proteínas de superfície (GREGORIO *et al*., 2015).

As proteínas BAPs são abundantes em tirosina (16% dos aminoácidos totais), alanina (14%) e valina (13%), sendo uma proteína acídica (LOEHFELM; LUKE; CAMPAGNARI, 2007). Em relação ao peso molecular da BAP, o tamanho pode variar de ~200 kDa (GOH *et al*., 2013) a 854 kDa (LOEHFELM; LUKE;CAMPAGNARI, 2007), tamanho esta variável pode ocorrer pelo aumento de repetições em função do desemparelhamento de fita deslizante recA-independente durante a replicação do DNA (GREGORIO *et al*., 2015).

As proteínas BAP apresentam uma região -NH2 conservada e uma região -COOH variável em tamanho, decorrente de cópias do módulo EFG (GREGORIO *et al*., 2015). As BAP podem ser divididas em tipo-1 a 3, sendo que a BAP tipo-2 se difere da tipo-1 devido a presença de uma repetição semelhante a Ig, denominada repetição, distinta da repetição D identificada na tipo-1, enquanto BAP tipo-3 diferencia-se das demais em sua repetitividade, nas regiões -COOH e limitada em tamanho, tendo 2700 aminoácidos a maior BAP tipo-3 encontrada pelos autores (GREGORIO *et al*., 2015) (figura 13). Das BAP, a tipo-2 é a mais disseminada entre *A. baumannii* (GREGORIO *et al*., 2015). Outro tipo de BAP é a SFD BAP, ou BAP tipo-6, encontrada em *A. baumannii* isolado a partir de piolho humano, contendo alta homologia as BAPs no domínio -NH2 terminal e repetição Ig-*like* substituídas por resíduos de serinas e ácido aspártico alternados (GREGORIO *et al*., 2015; UPMANYU *et al*., 2024).

Figura 13 – Predição da estrutura tridimensional de a) BAP tipo-1, b) BAP

tipo-2, c) BAP tipo-3 e d) BAP SDF (tipo-6).



Fonte – Upmanyu *et al*. (2024)

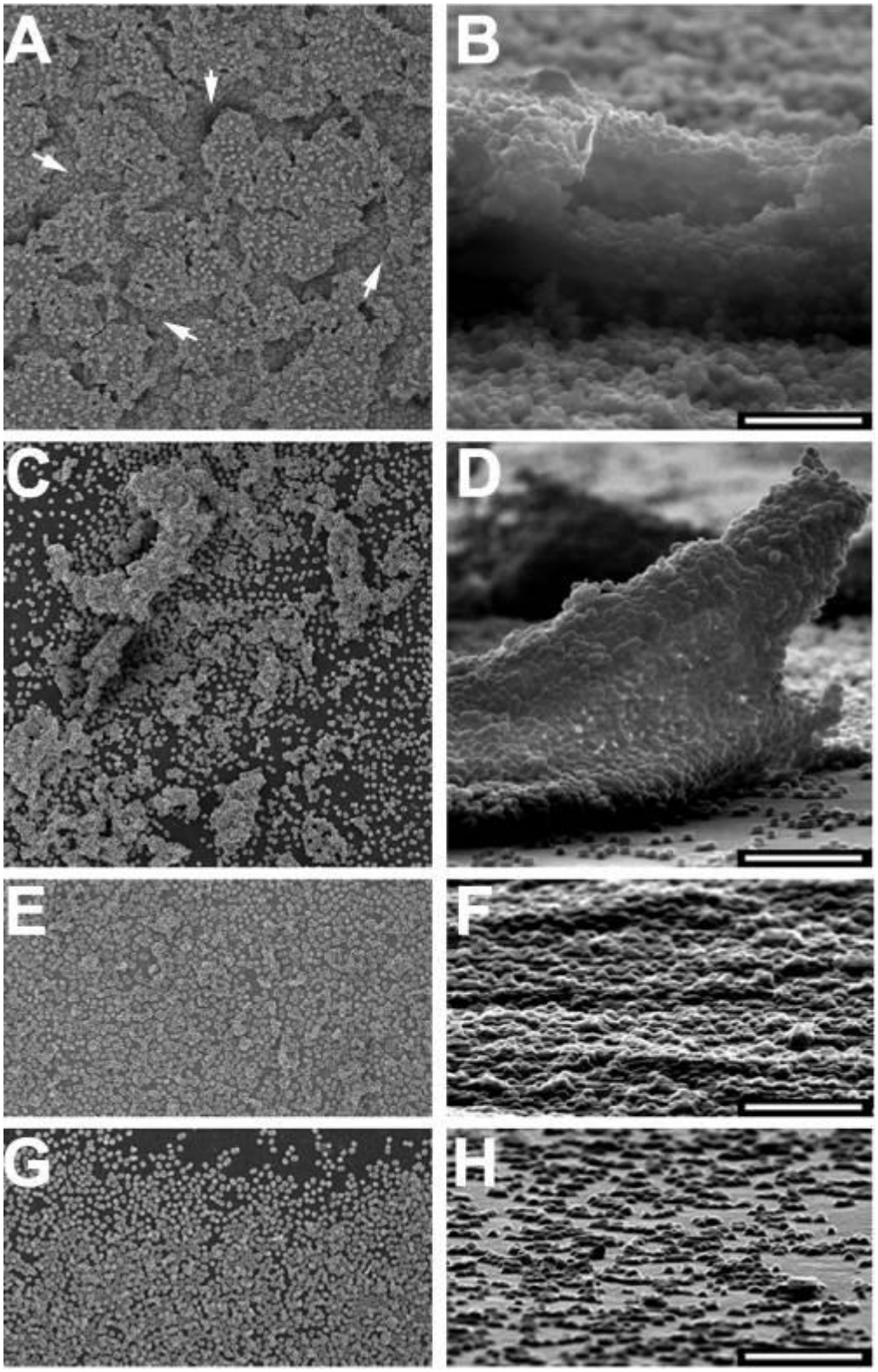
Diversas sequências de BAP, majoritariamente tipo-1, também demonstraram presença de um domínio sialato O-acetilesterase, cuja atividade pode estar relacionada à degradação da mucosa do trato respiratório (UPMANYU *et al*., 2024).

O papel da BAP no biofilme foi investigado e os dados obtidos por Loehfelm, Luke e Campagnari (2007) sugerem que a proteína BapA está envolvida principalmente na manutenção da arquitetura do biofilme maduro, uma vez que a cepa mutante possuía um biovolume de biofilme menor que a cepa selvagem. Os autores também sugerem que essa função da BapA pode estar relacionada com (I) mediação da adesão intracelular a um receptor de uma bactéria vizinha, (II) autoadesão e (III) ligação indireta através de interações compartilhadas com a matriz extracelular do biofilme.

Dados de Brossard & Campagnari (2012) corroboram com os dados dos autores supracitados, demonstrando que a proteína BAP é essencial para uma arquitetura tridimensional e formação da canais de água, sendo este último um

“sistema circulatório rudimentar” em biofilme, cuja função é o transporte de nutriente e subprodutos (QUAN *et al*., 2022) (figura 13). Os autores também observaram o papel da BAP na adesão de *A. baumanii* a células de epitélio brônquico humano normal e de queratinócitos neonatais humanos normais, também tendo sido confirmada a associação entre BAP e o aumento da hidrofobicidade de *A. baumannii*. Os dados também foram corroborados por Goh e colaboradores (2013) que observaram que anticorpos anti-BAP inibiam a formação de biofilme em placas de poliestireno.

Figura 14 – Comparação do fenótipo de biofilme entre cepa selvagem e cepa mutante-*bap* em microscopia eletrônica de transmissão. A a D) Biofilme maduro de *A. baumannii* Ab307 em titânio (A e B) e poliestireno (C e D) evidenciando torres e canais de água (seta branca). Cepa mutante-*bap* em titânio (E e F) e poliestireno (G e H).



Fonte – Brossard & Campagnari (2012)

Segundo os autores, a hidrofobicidade dessa proteína pode estar ligada à sequências conservadas semelhantes ao módulo de repetição hialina (HYR; *hyaline repeat*), uma estrutura com uma dobra semelhante à imunoglobulina e que contém

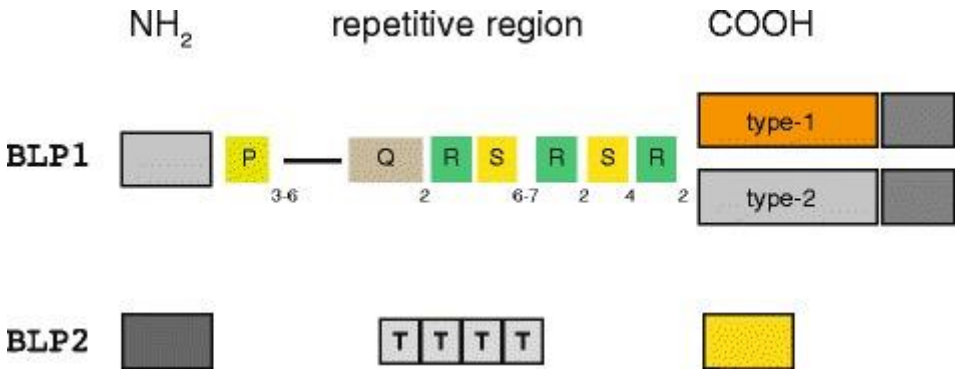
resíduos hidrofóbicos em sua estrutura.

2.1.2.2.2 Proteínas BAP-like

As proteínas semelhantes a BAP (BLP; BAP-*like protein*) foram primeiramente identificadas por Gregorio e colaboradores (2015), tendo sido descritas como duas proteínas contendo repetição Ig-like, anotadas como BLP1 (orf821) e BLP2 (orf1037), compartilhando sequências motivo no domínio -NH2 terminal. A BLP1 e BAP compartilham similaridades no domínio -COOH terminal com proteínas do tipo RTX, secretadas pelo sistema de secreção tipo I, similaridade essa que diferencia-se em apenas 30 kpb.

As proteínas BLP1 e BLP2 compartilham a mesma estrutura tripartite, contendo um domínio -NH2, uma região repetitiva e um domínio -COOH terminal (GREGORIO *et al.*, 2015) (figura 15).

Figura 15 – Organização modular das proteínas BLP1 e BLP2. (Barra) Região única de 297 aminoácidos entre repetição P e Q de BLP1.



Fonte – Gregorio *et al.* (2015)

A região repetitiva da proteína BLP1 é composta por 4 repetições (P, Q, R, S e Q), das quais apenas Q não possui um motivo Big_3_4 (*Bacterial Ig-like domain, group 3*), sendo uma proteína que pode variar de 3044 a 3356 aminoácidos. Alteração de aminoácidos subdistinguem as variantes BLP1 tipo-1 e BLP1 tipo-2 (GREGORIO *et al.*, 2015) (figura 15).

A proteína BLP2 apresenta uma região repetitiva simples composta de apenas

4 repetições T e uma pequena região (de 207 aminoácidos) -COOH terminal, sendo uma proteína altamente conservada (figura 15). BLP2 apresenta 4 principais variantes (variante A-D), sendo a tipo-A a mais prevalente (GREGORIO *et al*., 2015).

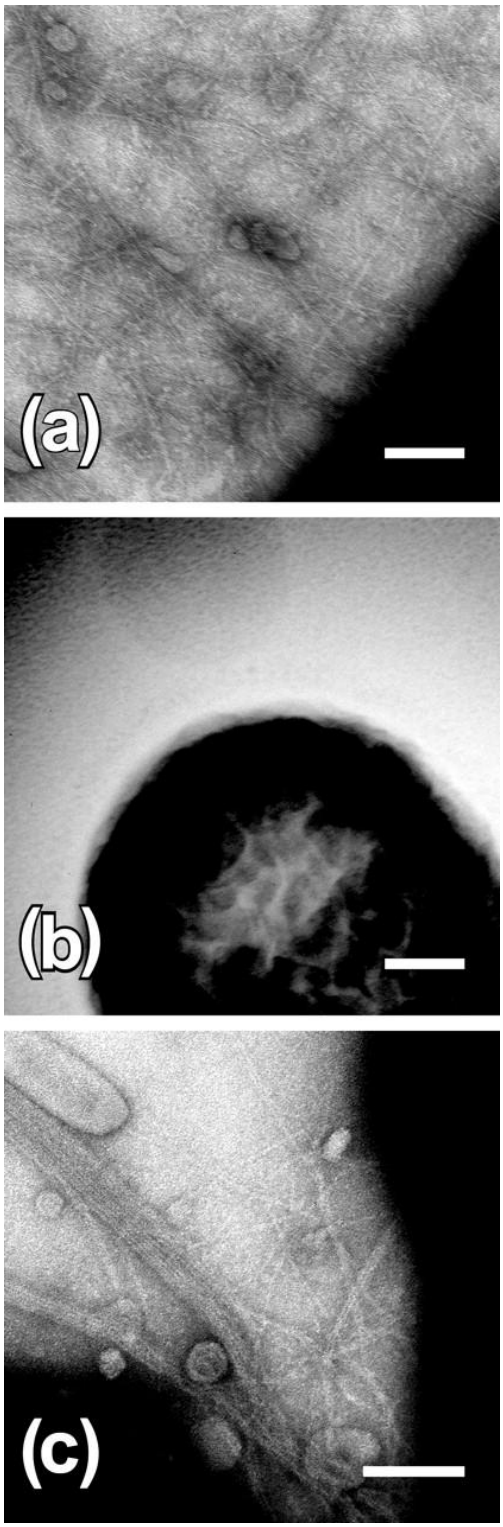
Segundo os dados obtidos por Gregorio e colaboradores (2015), supõe-se que BAP e BLP2 são proteínas interdependentes, interagindo funcionalmente.

A função de BLP1 e BLP2 na formação do biofilme e na adesão à células humans bronquiais A549 também foi investigada, tendo sido demonstrado que cepas Δ*blp1* e Δ*blp2* formaram biofilmes menores.

2.1.2.2.3 Pilus Csu

O primeiro a identificar o papel do pilus Csu na adesão e biofilme de *A. baumannii* foi Tomaras e colaboradores (2003) que observaram que a mutação em um gene altamente similar ao csuE de *Vibrio parahaemolyticus* gerava um fenótipo de *A. baumannii* sem a expressão de pili visíveis em microscopia eletrônica de transmissão e deficiente na formação de biofilme (figura 16). O papel do pilus Csu no biofilme também foi corroborado por Moon, Weber e Feldman (2017) que evidenciaram a inibição da expressão do pilus Csu em *A. baumannii* tratados com concentrações subinibitórias de trimetoprima e sulfametoxazol, por Romero *et al*. (2017) com cepas mutantes *csuD* e por Ahmad e colaboradores (2023) deficientes de pilus Csu. Além da formação de biofilme Csu-dependente, a regulação desse pili Csu está associada ao *quorum sensing* tipo RXI controlado pelo autoindutor N-(3-hidroxidodecanoil)-L-homoserina lactona (OHC12-HSL) (Romero *et al*., 2022).

Figura 16 – Microscopia eletrônica de transmissão de *A. baumannii* ATCC 19606 coradas com molibdato de amônio evidenciando a) *A. baumannii* ATCC 19606 parental com pili evidenciados; b) mutante com gene *csuE-like* interrompido; c) mutante complementado com plasmídeo contendo o respectivo gene evidenciando os pili.



Fonte – Tomaras *et al*. (2003)

Através dos dados, o autores observaram que o cluster de genes, em ordem de ORF, estão relacionados às proteínas CsuA/CsuB, CsuA, CsuB, todas contendo

domínios conservados da subunidade CsuA/B de pili tipo 1, CsuC, contendo domínios conservados característicos de chaperonas, proteína hipotética PP2363 e PA4452 de *P. putida* e *P. aeruginosa*, contendo domínios conservados característicos de *ushers* fimbriais, e CsuE, apresentando alta similaridade com uma proteína secretada não caracterizada de *P. aeruginosa, Y. pestis, Ralstonia solanacearum* e *Rickettsia conorii* e com motivos similares de proteínas fimbriais.

A regulação da região promotora de 583 pb do operon *csu* apresenta sítios de ligação para diversos reguladores transcricionais como PhoP, associado à depleção de Mg^{2+}, os reguladores associados a oxigênio Fnr e DcuR, os associados à biossíntese de aminoácidos LeuO e ArgR, DnaA, HTH-AraC-like, HTH-CRP-like e a proteína tipo HTH AIS_3796 (AHMAD *et al*., 2023).

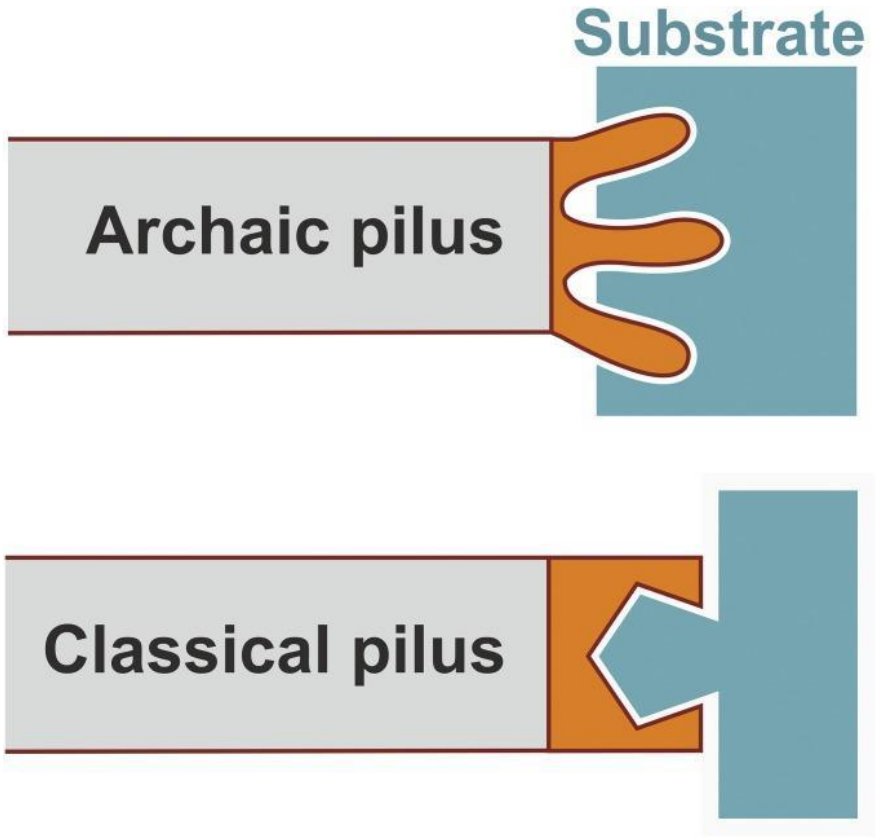
Ainda que a adesão a superfícies abiótica sejam pili CSU/BABCDE-dependente, a adesão à células epiteliais bronquiais humanas e eritrócitos de ovelha não é dependente desse pilus (BREIJ *et al*., 2009), entretanto a presença desse pilus está associada ao aumento da eficiência da colonização da superfície do tecido pulmonar em modelo murino.

O mecanismo de biogênese do pilus Csu bem como sua estrutura foi mais bem estudado por Pakharukova e colaboradores (2015) que evidenciaram que esse pilus é montado através de um sistema arcaico, ou não-clássico, onde as subunidades são mantidas em estado desdobrado pelas chaperonas pelo processo de complementação de fita doadora (DSC; *donor strand complementation*) e através de uma distinta âncora carboxilada da unidade C-terminal.

O pilus Csu pertence ao clado fimbrial σ que contém uma proteína usher contendo o domínio PFAM00577 e que não possui similaridade com proteínas da família chaperona/usher alternativa (fímbria α) ou família chaperona/user clássica (clado β, γ, κ, and π) (NUCCIO; BÄUMLER, 2007).

Enquanto a ponta adesiva de pili clássicos utilizam uma cavidade de ligação contendo uma depressão que é complementar em forma à receptores, a ponta do pilus Csu apresenta protrusões flexíveis semelhante a dedos que se inserem nos substratos para aderir, possibilitando a adesão à substratos estruturalmente diferentes, como superfícies abióticas (PAKHARUKOVA *et al.* 2018) (figura 17).

Figura 17 – Diferença conceitual no reconhecimento de substrato entre *pili* clássicos e *pili* arcaicos.



Fonte – Pakharukova *et al*. (2018)

Em contrapartida, Chen e colaboradores (2022) foram os primeiros a afirmar que o pilus pertencente à família tipo 1 manose-sensível, mesmo com o pili Csu apresentando similaridade com a fímbria P, pertencente ao sistema arcaico chaperona/usher (NUCCIO; BÄUMLER, 2007). Segundo Chen e colaboradores (2022), o pilus Csu possui um domínio de lecitina reconhecedor de manose, cuja aderência pode ser inibida por carboidratos relacionados à manose como a D-manose, metil-α-D-manose, polímeros de D-manose Man_{51}-Al-BSA e copolímeros modificados de α-manose.

2.1.2.3 Lipopolissacarídeo e Oligossacarídeo

Existe certa confusão na literatura sobre a natureza fenotípica de *A. baumannii*. Durante muito tempo, acreditou-se que essa bactéria possuía uma arquitetura LPS do tipo *smooth* (S), composta por lipídeo A ligado a uma região de oligossacarídeo central (com domínios interno e externo) e, finalmente, a uma cadeia de polissacarídeo O (O-antígeno). No entanto, estudos recentes demonstraram a ausência de genes que

codificam a ligase necessária para conectar o polissacarídeo ao lipooligossacarídeo, sugerindo que o LPS de *A. baumannii* é, na verdade, do tipo rugoso (R) (Giguère, D., 2015). *A. baumannii*, entretanto, não possui um antígeno-O, sendo que, na realidade, uma cápsula de polissacarídeos superficiais é produzida no lugar (Giguère, D., 2015). Esse quimiotipo truncado é denominado lipooligossacarídeo (LOS) (VANOTTERLOO *et al*., 2024).

A regulação da transferência de múltiplos resíduos Kdo por glicosiltransferases é único. Giguère (2015) descreve que essas transferases são únicas, embora estudos enzimáticos sejam necessários para a melhor compreensão dessa diversidade dentro do gênero.

As enzimas responsáveis pela transferência do KdoIII e o ácido N-acetilglicosaminurônico para o oligossacarídeo cerne é realizada pelas proteínas 2903 e LpsB, como descrito por VanOtterloo *et al*. (2024)

A síntese do LOS se inicia pela síntese do lipídio A citoplasmático através da via de Raetz, cuja iniciação requer a ativação do UDP-N-Acetil-glicosamina (UDP-GlcNAc), com posterior formação do lipídio IVA, um dissacarídeo bis-fosforilado e tetra-acilado de glicosamina. A transferência de resíduo Kdo, que formarão o cerne de oligossacarídeos, para o recém-formado lipídio IVA é realizada pela enzima WaaA/KdtA. Após algumas etapas, como acilação do LOS por acetiltransferases, o lipídio A-cerne completo é gerado e *flippado* pelo transportador ABC MsbA. O LOS é então translocado por um sistema de transporte de lipopolissacarídeo (Lpt) para a membrana extera (VANOTTERLOO *et al*., 2024).

Embora o LPS/LOS seja importante, fornecendo assimetria protetora à membrana externa bacteriana e resistência mecânica (VANOTTERLOO *et al*., 2024), Simpson e colaboradores (2021) observaram que *A. baumannii* desprovido de LPS/LOS ainda podem manter sua integridade apoiando-se na síntese do elongassomo, um complexo multiproteico que sintetiza peptideoglicano ao longo do seu eixo. A perda do LOS também está associada ao aumento da produção e secreção de OMVs contendo proteínas imunogênica (CANO-CASTAÑO *et al.*, 2024)

A virulência fornecida pelo LOS está associada à indução de resposta inflamatórias via mastócitos e recrutamento de neutrófilos pela IL-8, como descrito por Ueda *et al.* (2021)

O lipídio A pode, entretanto, ser 2-hidroxilado pela enzima LpxO, que catalisa a 2-hidroxilação do laurato transferido pela LpxL. Essa hidroxilação reduz a carga do

LOS, conferindo resistência à polimixina B, colistina e β-defensina humana 3, dessa forma contribuindo para a sobrevivência na corrente sanguínea e sendo necessária para a patogenicidade em modelo de *G. mellonella*. Curiosamente, essa hidroxilação também confere resistência aos peptídeos antimicrobianos de *G. mellonella*. Imunologicamente, modificações dependentes de LpxO também limitam a ativação da proteína quinase ativada por mitógeno Jun N-terminal, atenuando as respostas inflamatórias, além de mediar também a produção de IL-10, via ativação do fator transcricional CREB, de forma que limita a produção de citocinas inflamatórias. Dessa forma, LpxO é um forte candidato para desenvolvimento de novas drogas (BARTHOLOMEW *et al.*, 2019)

2.1.2.4 Cápsula e exopolissacarídeos

Os polissacarídeos capsulares (*capsular polysaccharides;* CPS; antígenos-K) são um dos principais fatores de virulência da panóplia de *A. baumannii*, estando associado à formação de biofilme e evasão do sistema imune do hospedeiro. Estruturalmente, é composto de 4 a 6 açúcares únicos para cada sorotipo, a qual agem como *scaffold* para multimerização e crescimento (ROSHINI *et al.*, 2023). Sua montagem é Wzx/Wzy dependente, o que inclui 16 proteínas para a montagem e o transporte (Roshini *et al.*, 2023). Os *loci* responsáveis pela síntese do antígeno K são compostos por regiões de 20 a 35 kb, cuja localização cromossomal, entre os genes fkpA e lldP é altamente conservada (SINGH; ADAMS; BROWN, 2019)

Estruturalmente, o CPS de *A. baummanii* pode incluir derivados de açúcares UDP-ligados, como glicose, galactose ou ácido glicurônico, ou mesmo açúcares mais raros como o ácido non-2-ulosônico (Singh; Adams; Brown, 2019). Exemplos mais raros incluem o ácido acinetamínico, encontrado exclusivamente no sorotipo K73. Em comprimento, o CPS pode variar dependendo do sorotipo (SINGH; ADAMS; BROWN, 2019).

Algumas cepas sorotipo KL95 podem possuir módulos de genes (*rmlB-rmlA-qdtE-qdtB*) que sintetizam 3-acetamido-3,6-didesoxi-d-glicose, um açúcar raramente encontrado que se liga a três resíduos de D-GalpNAc e dois de D-Galp (ARBATSKY *et al.*, 2025).

Também raros, há-se o ácido nonulosônico 8-epipseudamínico encontrado em apenas 2 cepas de *A. baumannii*, cuja genes para conversão do ácido pseudamínico

em 8-epímero não encontra no locus K. Na realidade, os genes, *epaA* e *epaB*, encontram-se em profagos da clase Caudoviricetes. Essa modificação do antígeno K pode levar à futuras implicações de tipagem e de terapias direcionadas à cápsulas (SHARAR *et al.*, 2025).

O mesmo ocorre em *A. baumannii* KZ-1102 KL102, cuja CPS é formado por resíduos de α-d-Galp, α-d-GlcpNAc e β-d-Glcp, a qual pode ser clivado por um despolimerase de ponta de cauda do fago Cato, gerando monômeros e dímeros da unidade de repetição K (KASIMOVA *et al.*, 2025).

A produção da cápsula é regulada pelos reguladores BmfRS e OmpR-EnvZ. Na presença de antibióticos, o aumento de CPS é BmfRS-dependente. Em caso de variação de fase, ocorre-se produção OmpR-Envz-dependente. Mutações nos genes o*mpR* ou *envZ* estão associadas a mudanças do fenótipo da colônia de opaco para translúcido (Singh; Adams; Brown, 2019).

2.1.2.5 Sistema de aquisição de íons metálicos

Os metais de transição podem atuar estruturalmente, como metalocofatores enzimáticos e participando de metaloproteínas, coletivamente denominados metaloproteoma, correspondendo a até 40% do proteoma típico (CAPDEVILA *et al.*, 2024).

Essas metaloenzimas incluem oxidorredutases, transferases, hidrolases, liases, isomerases, ligases e translocases, e proteínas funcionalmente associadas ao metabolismo central de carbono e síntese de ácidos nucleicos (CAPDEVILA *et al.*, 2017; CAPDEVILA *et al*., 2024). Dessa forma, o pleno funcionamento celular requer a metaloestase, que integra a metalação apropriada de proteínas em níveis transcricionais, durante e pós-tradução (CAPDEVILA *et al*., 2024).

Embora os metais, especialmente os do bloco d (manganês [Mn], ferro [Fe], cobalto [Co], níquel [Ni], cobre [Cu] e zinco [Zn]) sejam importantes, sua toxicidade concentração-dependente requer a expressão de proteínas associadas à alocação temporária em compartimentos ou em proteínas-cliente por metalochaperonas (CAPDEVILA *et al.*, 2017; CAPDEVILA *et al*., 2024). Essa compartimentalização ocorre em metaloproteínas como a ferritina, bacterioferritina e metalotioneína

(CAPDEVILA *et al.*, 2017).

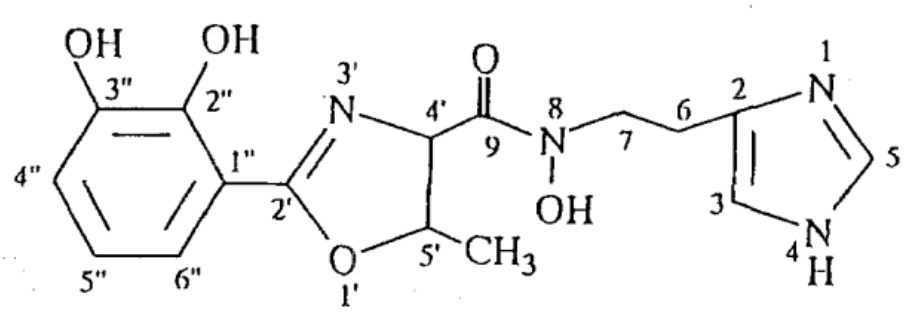
Embora esses metais estejam presentes em variada concentração no meio ambiente, em seres humanos, a imunidade nutricional limita o acesso dos patógenos a esses metais (CAPDEVILA *et al*., 2024). Para se sobressaírem, os microrganismos podem produzir metalóforos, moléculas (como o citrato) e macromoléculas capazes de quelar e transportar metais de transição (bloco D), a maioria mono-, di-, trivalente e oxiânions (MARET, 2024). A depender dos metais quelados e transportados, os metalóforos podem ser caracterizados como sideróforos, calcóforos, zincóforos, etc (MARET, 2024).

Os sideróforos são os metalóforos mais estudados. São metabólitos secundários com altíssima afinidade pelo Fe^{3+}, sintetizados através de vias enzimáticas que incluem sintetases não-ribossomais de peptídeos (NRPS; *non-ribosomal peptide synthetase*) e sintases de policetídeos (PK; *polyketide synthases*). São moléculas cuja peso molecular variam de 200-2000 Da, sendo excretadas para o meio extracelular, onde interagem com o Fe^{3+} (SCHALK, 2025). O ferro é um nutriente essencial para a homeostase bacteriana, a qual requer, para um crescimento ótimo, concentrações de Fe^{3+} 10^{-5} a 10^{-7}. O ferro possui papel no transporte de elétrons, atuando como fator enzimático associado a respiração celular, síntese de DNA e sua reparação e defesa antioxidante (SCHALK, 2025).

2.1.2.5.1 Acinetobactina

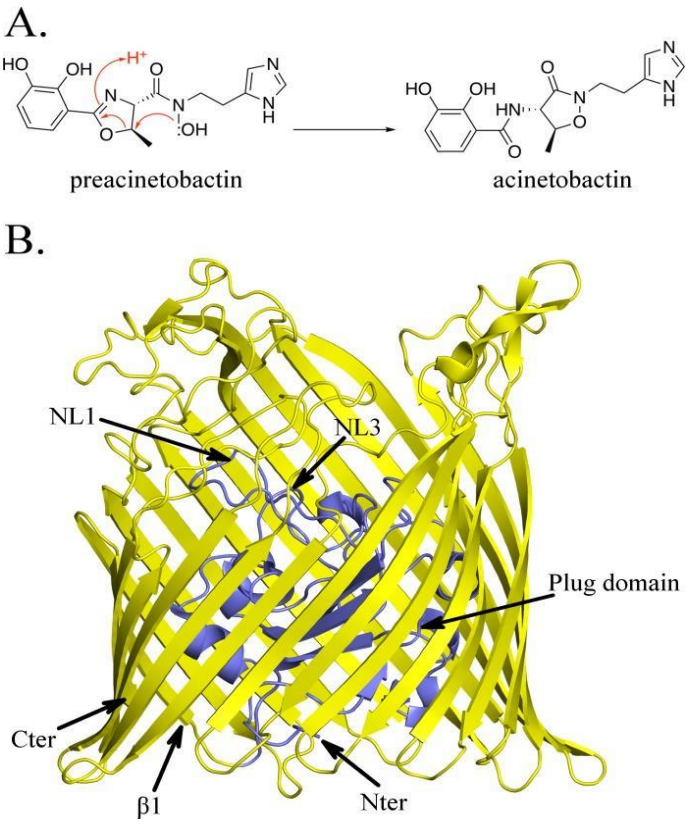
A acinetobacterina é um sideróforo contendo grupamentos funcionais de catecolato e hidroximato, sendo composto de ácido 2,3-dihidroxibenzóico, L-treonina e N-hidroxihistamina (DHBA) (figura 18 e figura 19a) (MIHARA *et al.*, 2004; YAMAMOTO; OKUJO; SAKAKIBARA, 1994) e formada a partir de um intermediário instável denominado preacinetobactina (figura 19a).

Figura 18 – Estrutura da acinetobactina.



Fonte – Yamamoto, Okujo & Sakakibara(1994)

Figura 19 – (A) Representação da isomerização espontânea da preacinetobactina em acinetobactina em pH>7. (B) Estrutura geral de BauA, uma proteína β-barril formada por 22 fitas antiparalelas composta de diversos loops extracelular (amarelo) e um plug N-terminal (azul)

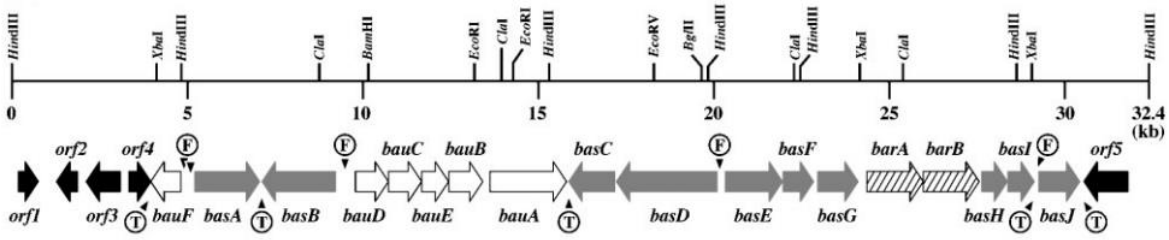


Fonte – Moynié *et al.* (2018)

A produção, liberação e captação do sideróforo complexado é efetuada por 18 genes, o operon *basABCDEFGHIJ* (*A. baumanni acinetobacter biosynthesis*), *bauABCDEF* (*A. baumannii acinetobactin utilization*) e *barAB* (*A. baumannii*

acinetobactin release) (figura 20). Entretanto, a produção do DHBA está associada aos genes *entA* e *entB*, localizados *downstream* ao *cluster* de genes *modE-modA-modB-modC*, um *cluster* associado ao sistema de transporte de molibdênio em *A. baumannii* ATCC 19606 (HASAN; CHOI; OH, 2015). O gene *entA* é funcionalmente anotada como uma 2,3-dihidro-2,3-dihidroxibenzoato desidrogenase, enquanto *entB* é predito como uma isocorismatase.

Figura 20 – Organização genética dos operons associados à biossíntese, utilização e liberação da acinetobactina.



Fonte – Mihara *et al*. (2004)

O domínio A da proteína BasA participa na adenilação (ativação) de uma L-treonina, resultando em um aminoacil-adenilato que é transferido para o grupamento tiol de um (fosfopanteteinilado)-PCP na proteína BasB, que contém os domínios Cy2 e C2 (Mihara *et al*., 2004). O domínio Cy2 da BasD catalisa a condensação do DHB-S-Baf em treonil-S-BasB, seguido da sua conversão em uma enzima tioéster 2,3-dihidroxifeno-5-metiloxazolinil através da desidratação. O domínio C2 da BasB funde o grupamento 2,3-dihidroxifeno-5-metiloxazolinil-acil em N-hidroxihistamina, gerando a preacinetobactina/acinetobactina (MIHARA *et al*., 2004).

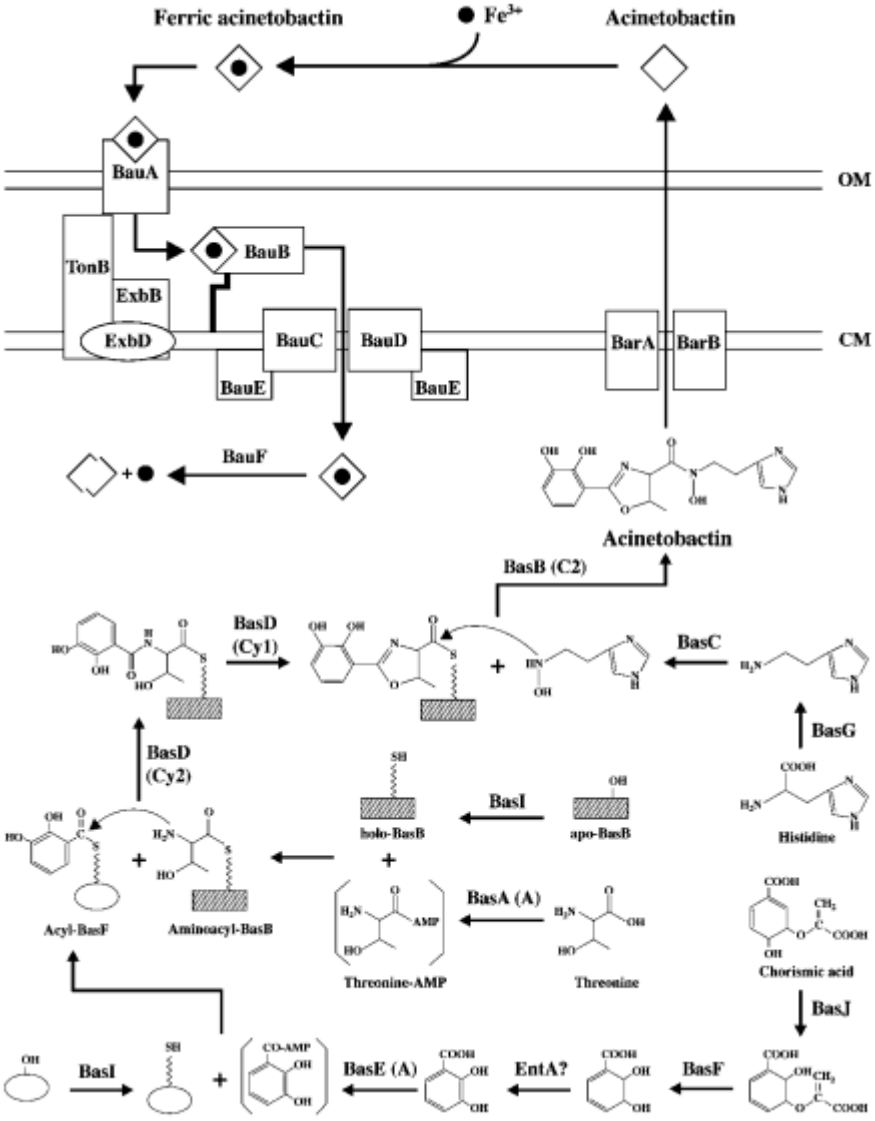
A oxazolina preacinetobactina converte-se na isooxazolidinona acinetobactina por um processo de isomeração pH-dependente, ocorrendo com maior velocidade em pH básico, sendo a preacinetobactina predominante em condições acídicas e a acinetobactina em condições básicas.

As proteínas BarAB apresentam domínios N-terminais hidrofóbicos com seis a-hélices transmembranas e um domínio hidrofílico C-terminal contendo cassetes de ligação ao ATP, sugerindo uma atividade de bomba de efluxo heterodimérico que secreta a acinetobactina para o meio extracelular (MIHARA *et al*., 2004). Após a

interação com o Fe^{3+}, o sideróforo interage com o receptor β-barril BauA (figura 19b; figura 22) (MOYNIÉ *et al*., 2018), que é internalizada ao periplasma pela lipoproteína BauB ligada à membrana interna por meio de um resíduo de cisteína acetilada (MIHARA *et al*., 2004).

A internalização citoplasmática ocorre pelas permease BauD e BauC, ligadas à proteína BauE com atividade de ligação ao ATP e que, provavelmente, fornece energia ao sistema. A liberação do Fe^{3+} do sistema ocorre por meio da proteína BauF, proposta como uma esterase necessária para a liberação do ferro intracelular (figura 21) (MIHARA *et al*., 2004).

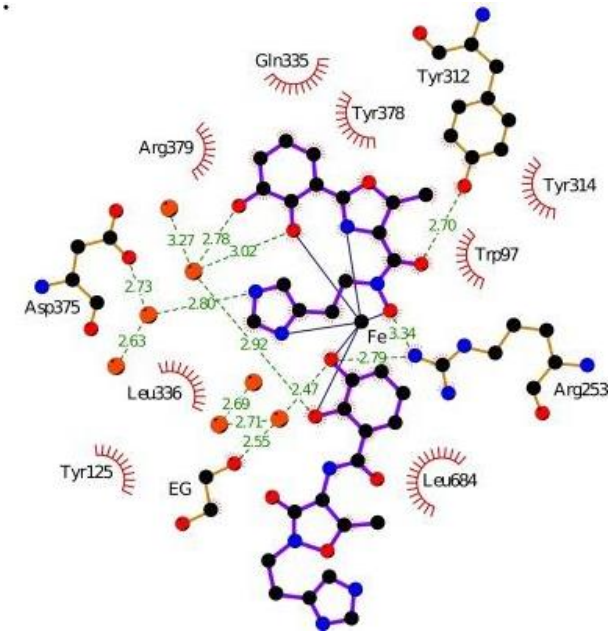
Figura 21 – Diagrama de ligação Fe3+-preacintobactina-acinetobactina a proteína BauA; Ligações covalentes do sideróforo roxo e e resíduos da proteína em marrom. Ligações de hidrogênio estão representadas como linhas verdes tracejadas e contatos hidrofóbicos estão evidenciados como semi-círculos vermelhos com raios radiantes.



Fonte – Mihara *et al*. (2004)

Dados de Moynié e colabradores (2018) sugerem que BauA não reconhece a acinetobacter, mas sim a preacinetobactina que liga-se a proteína por meio de seu grupamento hidroxamato e os resíduos Tyr312 da b7, Arg253 da L3 e uma ponte de água entre Asp375 e o nitrogênio N2 do anel imidazol. A interação entre Fe^{3+}-preacinetobactina leva a formação de um heterocomplexo Fe^{3+}-preacinetobactin-acinetobactina (figura 22)

Figura 22 – Diagrama de ligação Fe3+-preacintobactina-acinetobactina a proteína BauA; Ligações covalentes do sideróforo roxo e e resíduos da proteína em marrom. Ligações de hidrogênio estão representadas como linhas verdes tracejadas e contatos hidrofóbicos estão evidenciados como semi-círculos vermelhos com raios radiantes.



Fonte – Moynié *et al.* (2018)

De acordo com dados obtidos por Gaddy *et al* (2012), a produção da acinetobactina pode ser produzida em resposta à condições de depleção de ferro no ambiente intracelular de A549, aumentando a persistência intracelular, de forma que *A. baumannii* ocasiona mais dano celular. A produção desse sideróforo também é necessária para a virulência completa de *A. baumannii* em modelo de *G. mellonella* e de sepse murina (GADDY *et al*., 2012).

Os dados supracitados também são corroborados por Penwell, Arivett e Actis (2012) que observaram que a deleção de *entA*, gene necessário para síntese do DHBA, está associada à uma atenuação mais drástica em modelo de *G. mellonella* e redução da persistência em culturas de células A549 que a deleção de *basD* em função da atividade de ligação de ferro, embora menor que da acinetobactina, da DHBA.

Embora *A. baumannii* expresse outros sideróforos, a inativação da via biossintética da acinetobactina, por si só, diminui o crescimento de células de *A. baumannii* na presença de soro humano, transferrina e lactoferrina, também

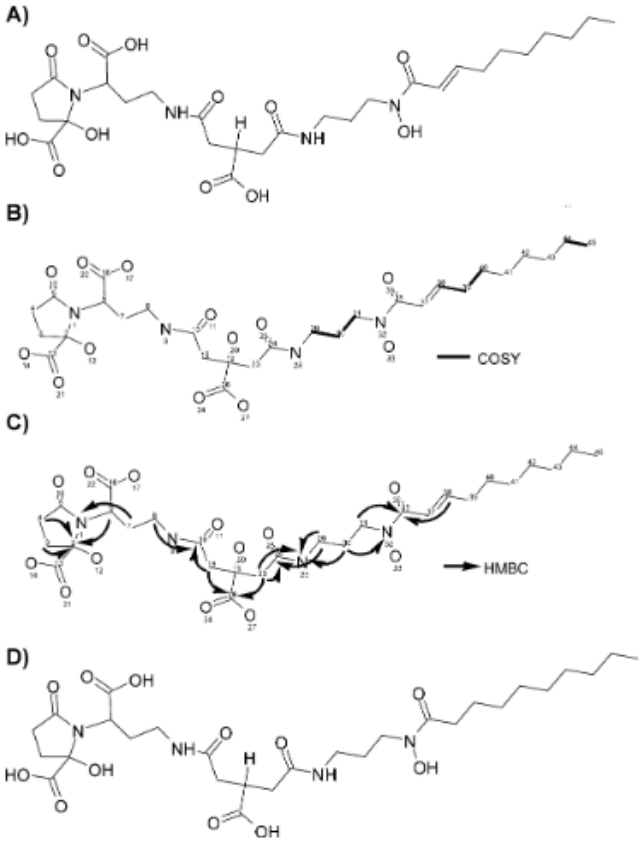
atenuando a virulência em modelo murino de bacteremia (SHELDON; SKAAR, 2020).

A expressão e secreção de acinetobactina por *A. baumannii* também está associada com competição interespécie. Dados de Knauf *et al*. (2022) demonstraram que a secreção de acinetobactina inibe o crescimento de *Corynebacterium striatum* e *Staphylococcus hominis* em ensaios de co-cultura com *A. baumannii*.

2.1.2.5.2 Baumannoferritina A e B

A baumannoferritina A e B foram inicialmente identificada por Penwell *et al*. (2015), cuja análises identificaram dois sideróforos compostos de citrato, 1,3-diaminoproparo, 2,4-diaminobutirato, ácido decenóico e α-cetoglutarato, que diferem entre si apenas por uma dupla ligação (figura 23).

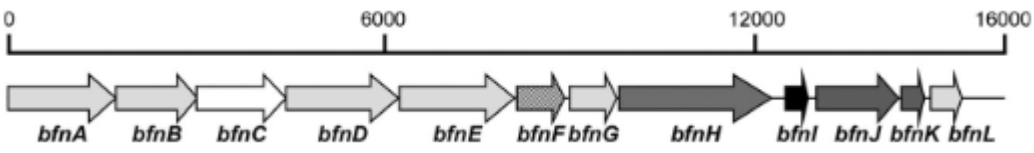
Figura 23 – Estruturas da baumannoferrina determinadas por ressonância magnética nuclear. A) Estrutura da baummannoferrina A. B) Estrutura da Baumannoferrina.



Fonte – Penwell *et al*. (2015)

A biossíntese e utilização desses sideróforos a base de hidroxamato é realizada por um *cluster* de 12 genes denominados *bfnA-L* (baumannoferrin) (figura 24) que contém uma sintetase de sideróforo NRPS-independente (NIS) (BOHAC *et al*., 2018; PENWELL *et al.,* 2015).

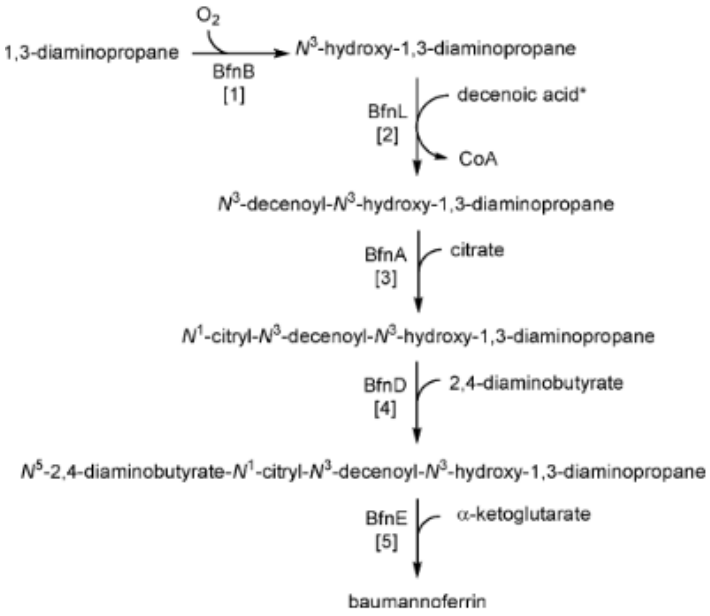
Figura 24 – Mapa genético do cluster *bfnABCDEFGHIJKL*. Setas horizontais indicam direção da transcrição dos genes. Genes preditos que estão envolvidos na biossíntese, exportação e captação estão coloridos em azul claro, branco e azul escuro, respectivamente.



Fonte – Penwell *et al*. (2015)

O genes *bfnA-L* estão relacionados à biossíntese, gene *bfnF* com a utilização, bfnC está relacionado à exportação, *bfnH* como receptor, duas proteínas de transporte *bfnJ* e *bfnK* e uma proteína hipotética *bfnI* (figura 25).

Figura 25 – Proposta da via biossintética da baumannoferrina. *indica ácido decenóico ou ácido (E)-dec-2-enoico.



Fonte – Penwell *et al*. (2015)

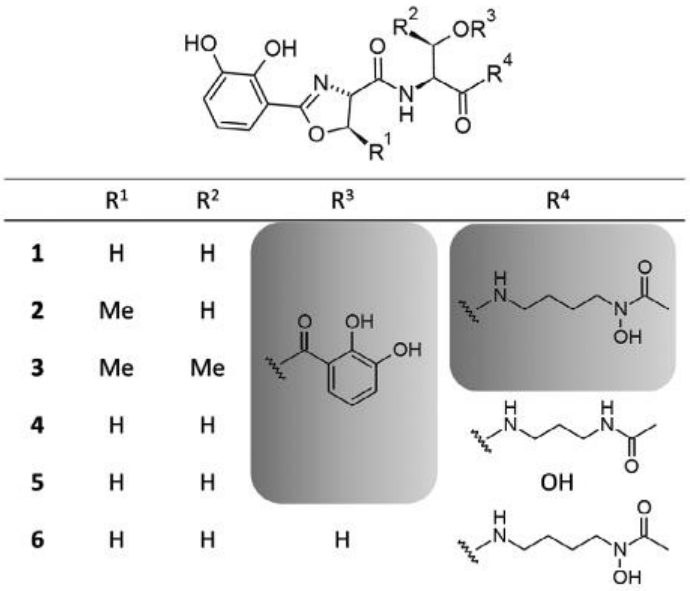
Análises transcriptômicas realizadas por Ten, Rahman e Tan (2024) utilizando modelo de infecção em Galleria mellonella evidenciaram uma up-regulação de genes associados à sideróforos como a acinetobactina, baumannoferrina e sistema Feo. A ação desses genes sobre a virulência em G. mellonella foi confirmada com o nocaute de *basC*, *bfnD* e de isocorismatase, ocasionando aumento da taxa de sobrevivência das larvas em até 35,16% (TEN; RAHMAN; TAN, 2024).

2.1.2.5.3 Fimsbactina

As fimbsbactinas foram identificadas em 2013 por Proschak e colaboradores. Essas moléculas foram identificadas como um sideróforo catecol/hidroxamato, das quais são subdivididas em fimsbactina A-F (figura 23). A fimsbactina A foi isolada a partir de células de *A. baylyi* em culturas crescidas em meio mínimo deficiente de ferro.

A fimsbactina B e C, diferentemente da A, apresenta um e dois resíduos de treonina, respectivamente (figura 23). A fimsbactina D se difere de A por conter 1,3-diaminopropano invés de uma putrescina, enquanto a fimsbactina E não contém nenhuma diamina (figura 23). A fimsbactina F apresenta um grupamento de 2,3-dihidroxibenzoil a menos que a fimsbactina A (figura 23) (PROSCHAK *et al*., 2013). A fimsbactina é estrutural relacionada à acinetobactina pela presença de um catecolato e motivos de ligação de metal fenolato oxazolina, sendo ambos produzidos através de peptídeos não-ribossomais. A fimsbactina forma um complexo 1:1 com o ferro (III), sendo mais estável termodinamicamente que o complexo férrico 2:1 da acinetobactina (BOHAC et al., 2019).

Figura 26 – Estruturas das fimsbactinas A-F.



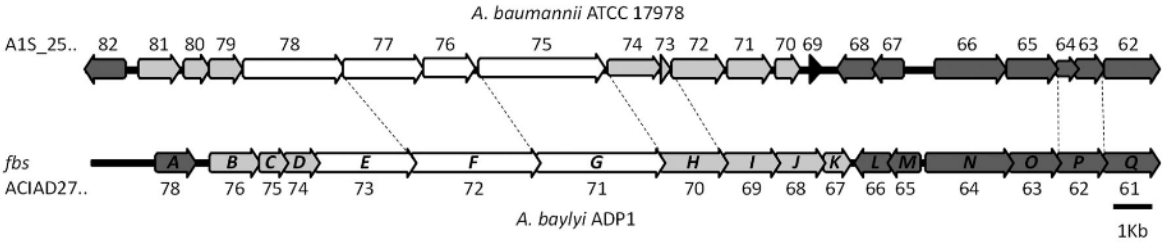
Fonte – Proschak *et al*. (2013)

Curiosamente, ambas estimulam o crescimento de *A. baumannii* quando sozinhas, mas em combinação inibem o crescimento do microrganismo. Esse fenômeno se deve pela competição pelo sítio de ligação da proteína BauB (BOHAC et al., 2019).

As fimsbactinas são produzidas e exportadas por um cluster de genes denominados *fbs* (fimsbactina synthetase; sintetase de fimsbactina), os quais incluem genes para a biossíntese de 2,3-dihidróxibenzoil (*fbsBCD*), uma sintetase de peptídeo não-ribossomal (NRPS; *fbsEFGH*) (figura 24) e genes que expressam bombas de

efluxo (*fbsOQ*) (BOHAC *et al*., 2019; PROSCHAK *et al.*, 2013) (tabela 1). A deleção de um único gene do operon *fbsABCDEG* leva a completa perda da produção da fimsbactina (PROSCHAK et al., 2013)

Figura 27 – Organização genética do operon *fbs*.



Fonte – Proschak *et al*. (2013)

Tabela 1 – Genes *fbs* e sua anotação funcional.

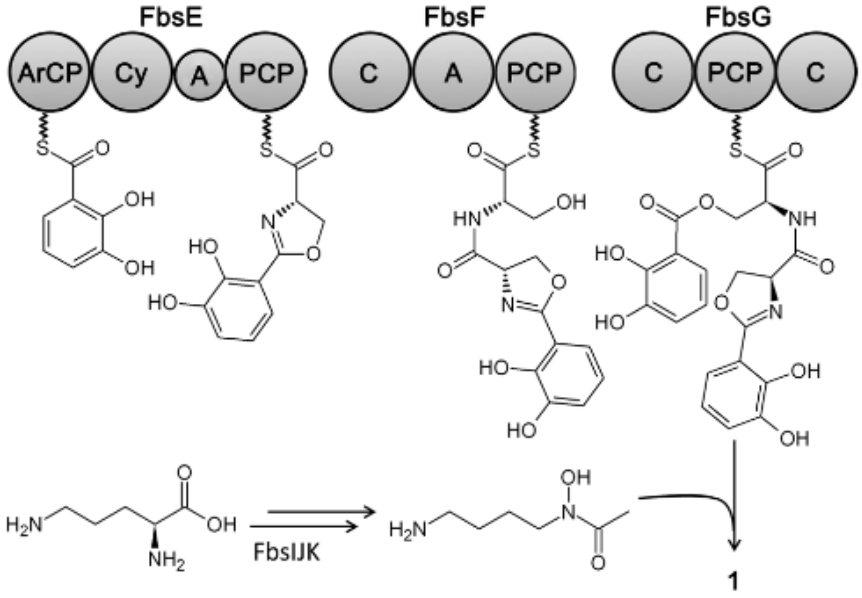
fbs	Anotação funcional
A	regulador transcricional da família AraC
B	Isocorismato sintetase
C	2,3-dihidro-2,3-dihidroxibenzoato sintetase, isocorismato
D	2,3-dihidroxibenzoato-2,3-desidrogenase
E	Peptídeo não-ribossomal sintase
F	Peptídeo não-ribossomal sintase
G	Peptídeo não-ribossomal sintase
H	2,3-dihidroxibenzoato-AMP ligase
I	Lisina N6-hidroxilase
J	Ornitina descarboxilase
K	Acetiltransferase
L	Fosfopanteteinil transferase
M	Tioesterase
N	Proteína receptora de sideróforo férrico
O	Transportador da família MFS

P	Proteína sideroféro-interante
Q	Bomba de resistência a multidrogas

Fonte – Adaptado de Proschak *et al*. (2013)

A biossíntese da fimsbactina se inicia pela formação acil entre o grupamento serina OH da proteína FbsE com o 2,3-hidroxibenzoil ativado, catalisado pelo domínio N-terminal. O domínio C-terminal catalisa a liberação do intermediário FbsG-ligado por um ataque nucleofílico do N-acetil-N-hidroxiputrescina, originário da N-hidroxilação (FbsI), descarboxilação (FbsJ) e acetilação (FbsK) da ornitina, gerando o sideróforo fimsbactina A (PROSCHAK *et al*., 2013).

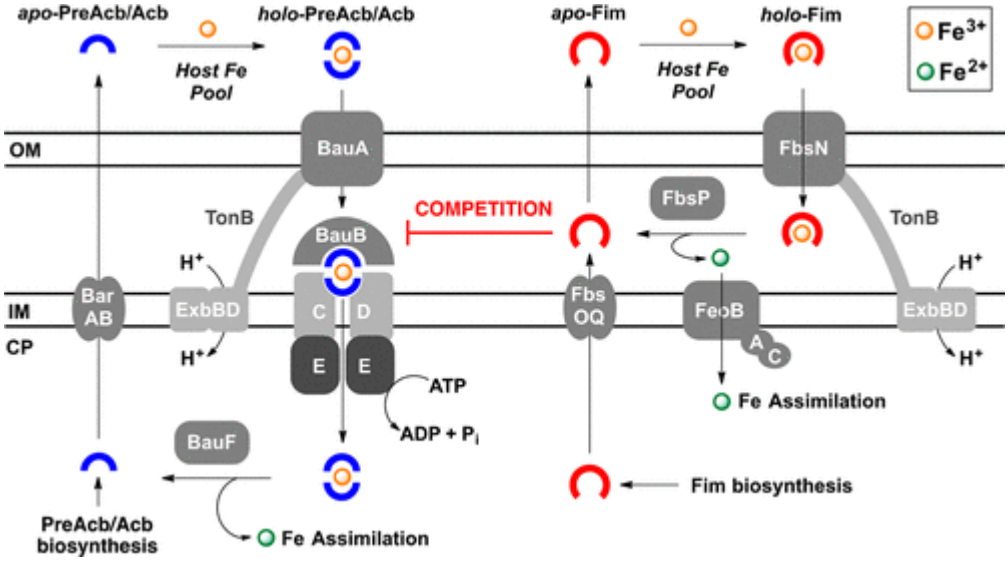
Figura 28 – Proposta da via biossintética da fimsbactina.



Fonte – Proschak *et al*. (2013)

A fimsbactina é produzida e exportada pelas bombas de efluxo FbsOQ. Após a formação do complexo fimsbactina-Fe (III), o sideróforo é importado para o periplasma pela FbsN, sendo reduzido por FbsP, liberando o ferro ferroso para o influxo via FeoABC (figura 29) (BOHAC *et al.*, 2019). Sendo um sideróforo provavelmente periplasmático, seu acúmulo no periplasma cria um cenário de competição com a pré-acinetobactina/acinetobactina (PreAbc) para a ligação ao BauB, alterando o equilíbrio para a formação do complexo BauB-Fimsbactina-Fe, inibindo a importação do complexo [Fe(PreAcb)2] e [Fe(Acb)2], levando uma inibição do crescimento pelo sequestro de ferro periplasmático (BOHAC *et al.*, 2019).

Figura 29 – Proposta da do mecanismo de ação da fimsbactina.



Fonte – Bohac *et al*. (2019)

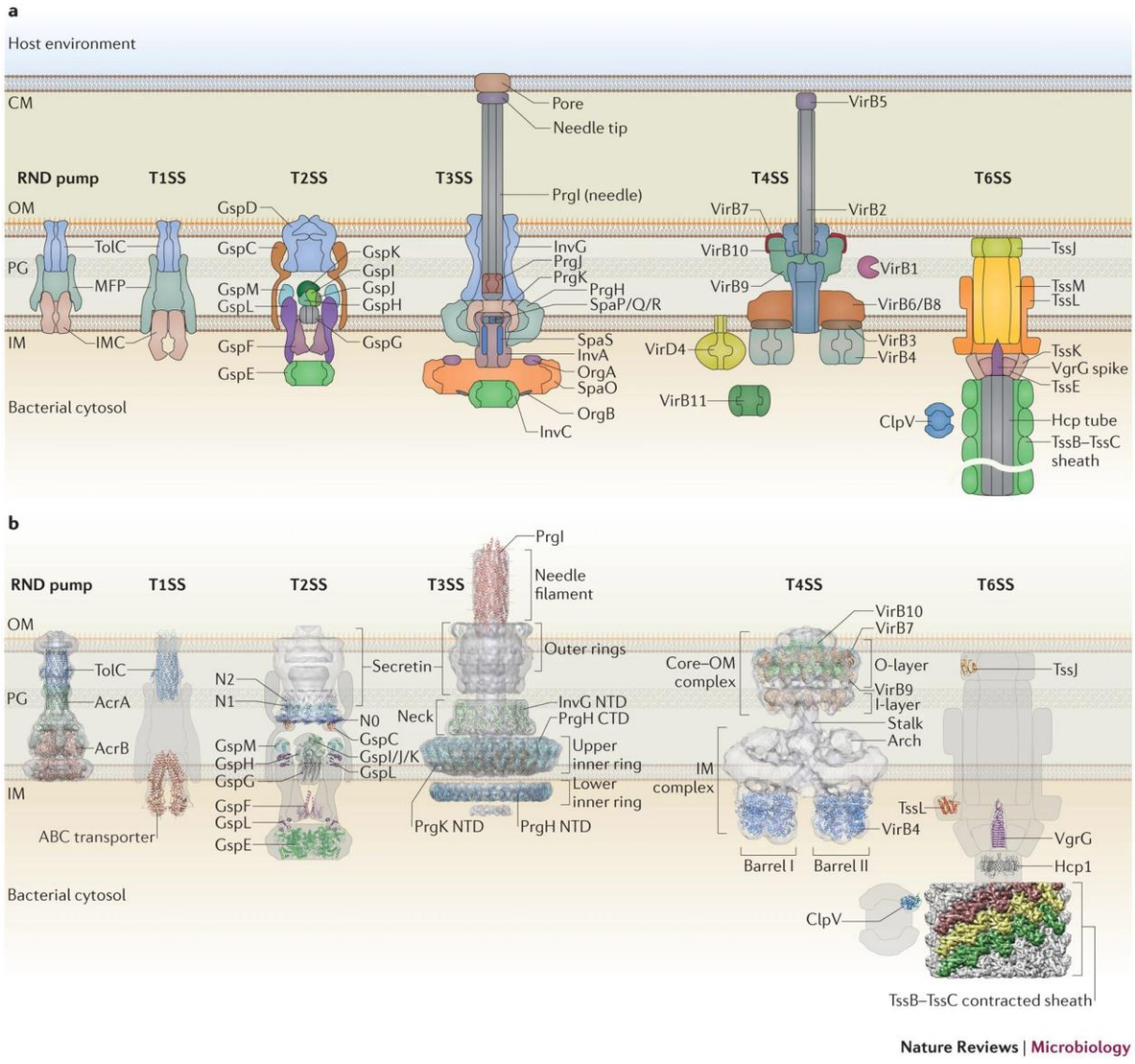
2.1.2.6 Sistemas de secreção

Para exportar moléculas e macromoléculas diretamente no citoplasma de células-alvo, sejam bacterianas ou eucarióticas, as bactérias desenvolveram sistemas de entrega baseada em nanomaquinarias proteicas denominadas sistemas de secreção, associado, portanto, a adesão, patogenicidade, adaptação e sobrevivência do patógeno (COSTA *et al.,* 2015).

Os substratos secretados, dos quais incluem moléculas, proteínas e DNA, podem permanecer ligados à membrana externa, se manterem no periplasma ou serem injetados nas células-alvo (COSTA *et al.,* 2015).

Em Gram-negativas, essas nanomaquinarias podem se estender pela membrana citoplasmática e externa, como sistema de secreção tipo I (T1SS), T2SS, T3SS, T4SS e T6SS, ou se estenderem apenas por uma membrana, seja ela interna ou externa, como T5SS e as maquinarias de montagem de apêndices proteicos como *pili* e *curli* (figura 30)

Figura 30 – Estrutura dos sistemas de secreção que transpassam a membrana externa e a membrana citoplasmática de bactérias Gram-negativas. A) Localização putativa de componentes proteicos individuais; B) Estruturas resolvidas.



Fonte – Costa *et al*. (2015)

2.1.2.6.1 Sistema de secreção tipo 1

O T1SS é um sistema tripartite, composto de um componente associado a membrana interna (IMC; *inner membrane component*), uma proteína adaptadora periplasmática e uma proteína canal na membrana externa (COSTA *et al.,* 2015). É um sistema que secreta diversos produtos, geralmente associados à aquisição de nutrientes e virulência, sendo arquiteturalmente semelhante à família RND de bombas

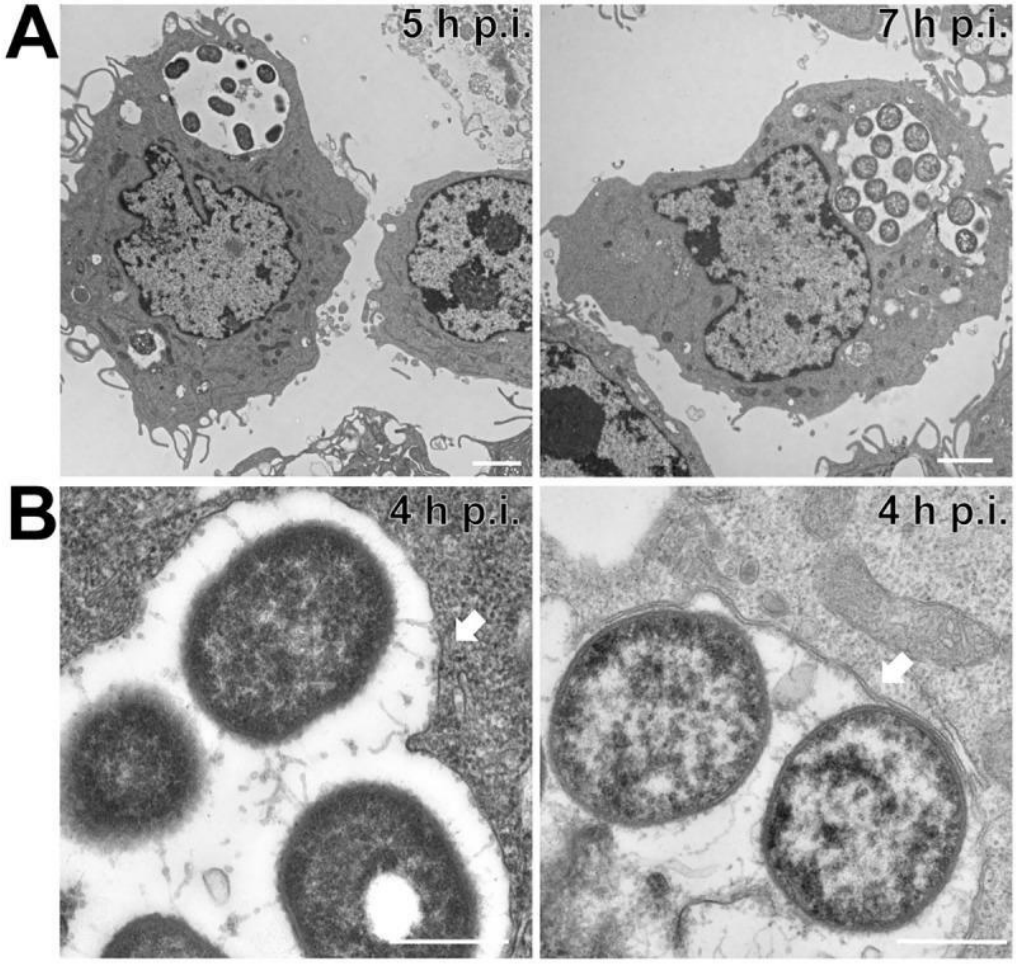
de efluxo a múltiplas drogas (COSTA *et al.,* 2015).

O IMC pertence à família de transportadores *ATP-binding cassette*, que funciona como um dímero, reconhecendo motivos ricos em glicina (Gly-Gly-X-Gly-X-Asp) presente na região C-terminal dos substratos do T1SS (COSTA *et al.,* 2015). É um sistema que utiliza ATP como energia, diferentemente de RND, cuja IMC usa força próton-motiva (COSTA *et al.,* 2015).

Através de bioinformática, proteômica quantitativa e análise mutacional, Harding e colaboradores (2017) demonstraram a presença do T1SS em espécies de *Acinetobacter* com componentes homólogos a *E. coli* como *tolC*, hly*B* e hly*D*, a qual são empregados para exportar uma toxina *repeats-in-toxin* (RTX) semelhante a serralisina e proteína Bap. Os autores também observaram que mutações em um ou todos os componentes do T1SS está correlacionada à redução da habilidade de formação de biofilme.

A presença do T1SS também está associada à persistência e replicação de *A. baumannii* dentro de vacuolos de macrófagos, como observado por Sycz *et al.* (2021) utilizando uma cepa de *A. baumannii* MDR isolado de infecção do trato urinário (figura 28). Além da replicação intracelular em macrófagos, *A. baumannii* UPAB1 utilizada pelos autores também foi capaz de se replicar em células THP-1 (monócito) e BMDM (*bone-marrow-derived macrophage*; macrófago derivado de medula óssea), indicando replicação independente de permissividade celular. Após replicação e sobrevivência nos macrófagos, com pico entre 4-6 h p.i, os autores sugerem que UPAB1 escapa dos mesmos através de um processo lítico, possivelmente manipulando o hospedeiro através da atividade de proteínas secretadas.

Figura 31 – *A. baumannii* UPAB1 residindo dentro de vacúolo de macrófagos J774A.1 vistos em MET. A) 5 (painel esquerdo) e 7 h pós-infecção (painel direito). B) vacúolos contendo *A. baumannii* UPAB1 podem possuir uma (painel esquerdo, seta branca) ou dupla membrana (painel direito, seta branca).



Fonte – Sycz *et al*. (2021)

2.1.2.6.2 Sistema de secreção tipo 2

A presença de componentes do T2SS já foi anteriormente identificada em isolados clínicos de *A. baumannii* por Eijkelkamp e colaboradores (2014), especificamente o gene A1S_0269, anotado funcionalmente como sistema de secreção tipo II cuja inserção por transposon exibiu efeitos nos genes co-transcritos A1S_0270 e A1S_0271, que codificam uma plataforma de membrana interna e um canal/secretina de membrana externa, respectivamente. Esses três componentes

putativos de T2SS estavam altamente conservados entre as cepas.

Uma melhor compreensão do T2SS de *A. baumannii* foi mais bem analisada por Johnson *et al.* (2016) que identificam os genes do T2SS putativo *gspN*, *gspC*, *gspD, gspE1*, *gspE2*, *gspF*, *gspG*, *gspH*, *gspI*, *gspJ*, *gspK*, gspL, *gspM* e *gspO* (também denominado *pilD*) em A. baumanii ATCC 17978, todos dispersos através do genoma invés de localizados dentro de operons. A funcionalidade do T2SS foi analisada através da deleção de *gspD*, uma porina de membrana externa essencial para transporte de proteínas, e *gspE*, uma ATPase. Foi observado pelos autores que a deleção dos genes resultou na perda da secreção da lipase LipA, impactando o desempenho desse mutante em modelo murino de bacteremia, de forma também a evidenciar um possível fator de virulência.

A comprovação do papel do T2SS na virulência de *Acinetobacter* spp. foi comprovada por Harding e colaboradores (2016) com estudos em em modelos de infecção pulmonar em camundongos e em *G. mellonella* com a cepa *A. nosocomialis* M2. Através de análises bioinformáticas, proteômicas e mutacionais, o autores observaram que o T2SS é responsável pela exportação de substratos como as lipases LipA, corroborando os trabalhos de Johnson *et al*. (2016) e LipH e a protease CpaA. Foi observado que o T2SS em *Acinetobacter* está disperso em cinco regiões genômicas distintas e, diferentemente de outros sistemas, não possui uma peptidase de pseudopilina específica, utilizando em seu lugar a peptidase de prepilina do tipo IV, o que reforça a relação evolutiva entre esses mecanismos. Além disso, duas das três proteínas secretadas dependem de chaperonas especializadas para sua exportação. Essas chaperonas, que possuem um domínio transmembrana N-terminal e são codificadas próximas aos seus efetores, são essenciais para a secreção via T2SS. As análises bioinformáticas ampliadas revelaram que chaperonas semelhantes estão presentes junto a efetores do T2SS em outras bactérias Gram-negativas, indicando que essas proteínas representam uma nova classe de chaperonas associadas à membrana, especializadas na mediação da secreção do tipo II.

A dispersão dos genes pelo genoma também foi corroborada por Elhosseiny *et al*. (2016) através de análises *in silico* de espécies de Acinetobacter. Comparado com outros ortólogos de T2SS, os autores observaram que os componentes individuais do T2SS de Acinetobacter possuia maior similaridade com de Pseudomonas aeruginosa. Utilizando a cepa Acinetobacter baumannii ATCC 17978 Δ*gspD* e um mutante trans-complementado, os autores avaliaram diminuição da atividade lipolítica e atenuação

da colonização de pneumonia em modelo murino, corroborando os autores supracitados. Análises do secretoma T2SS-dependente da cepa revelaram uma dedicação a secreção de enzimas lipolíticas, em especial da LipAN, uma fosfolipase plasmidial identificada por espectroscopia em massa.

Elhosseiny, Elhezawy & Attia (2019) comparam o secretoma e a formação de biofilme da cepa *A. baumannii* ATCC 17978 e cepa altamente virulenta e multirresistente A. baumanii AB5075, bem como de seus mutantes *gspD*. Foi observado que o secretoma de *A. baumannii* ATCC 17978 é composto predominantemente composto por enzimas metabolizadoras de lipídio, enquanto de A. baumanii AB5075 as proteínas mais enriquecidas foram gama-glutamil transferase (GGT), proteína da família alfa/beta hidrolase, clorogenato esterase, proteína da família das fosfatases de histidina e N-acetiltransferase YedL putativa. Segundo os autores, o secretoma de AB5075 pode conferir vantagem na formação de biofilme quando comparado com ATCC 17978. A deleção do gene *gspD* também está associada ao aumento do MIC de AB5075 a ciprofloxacino.

2.1.2.6.3 Sistema de secreção tipo 4

A análise estrutural da T4SS de Acinetobacter baumannii realizada por Liu *et al*. (2014) revelou uma organização simétrica em forma de barril, composta por quatro unidades principais: componentes do pili (TraA), complexo central na membrana externa (TraK, TraV, TraN, TraH), plataforma na membrana interna (TraF, TraB, TraG, TraU, TraW, TrbC) e elementos citoplasmáticos (TraC, TraD). Essa estrutura é semelhante ao sistema VirB/D4 de Agrobacterium tumefaciens e possui correspondência genética com os operons tra, como traB/virB10, traC/virB4 e traD/virD4.

A presença de genes do T4SS em plasmídeos de clones multirresistentes como *A. baumannii* ACICU e em outras espécies do gênero Acinetobacter evidencia sua ampla distribuição, fator importante para a patogenicidade bacteriana uma vez que o T4SS está associado à transferência horizontal de genes e secreção de proteínas que medeiam a interação parasito-hospedeiro, atuando também na formação de biofilme, resistência antimicrobiana e virulência como um todo (NASSER *et al.*, 2024; OKE *et al.*, 2024).

2.1.2.6.4 Sistema de secreção tipo 5

Uma proteína da família dos autotransportadores triméricos (TA) foi identificada pela primeira vez em *A. baumannii* ATCC 17978 por meio de uma busca *in silico* e denominada Ata (Acinetobacter TA). Ela compartilha diversas características estruturais com outras proteínas TA conhecidas, como YadA de *Yersinia enterocolitica* e UspA1 de *Moraxella catarrhalis*, apresentando a organização típica em três domínios observada nos substratos do sistema de secreção tipo V (T5SS) (BENTANCOR *et al.*, 2012).

O domínio C-terminal atua como translocador, sendo capaz de transportar domínios passageiros heterólogos até a membrana externa para exibição na superfície celular (BENTANCOR *et al.*, 2012) A análise da expressão de Ata por citometria de fluxo e RT-PCR demonstrou que sua produção depende da fase de crescimento, atingindo níveis mais altos na fase logarítmica inicial. A mutação em *ata* compromete significativamente a formação de biofilmes, indicando sua importância nesse processo. Além disso, Ata se liga a componentes da matriz extracelular e membrana basal, como colágenos tipos I a V e laminina, promovendo a adesão das células bacterianas ao colágeno tipo IV e contribuindo para a letalidade em modelo murino de infecção sistêmica.

Entre 75 isolados clínicos de *A. baumannii*, 44 apresentavam o gene *ata*, e quase todos expressavam a proteína em diferentes níveis, levantando a hipótese de que a variabilidade na expressão de Ata possa influenciar diretamente na virulência da bactéria (Bentancor *et al.*, 2012).

AtaA pertence ao sistema de secreção tipo Vc (T5cSS), uma das variantes do sistema de secreção tipo V (T5SS), que também inclui os tipos Va (autotransportadores clássicos), Vb (sistema de secreção em duas partes, TPS), versões híbridas e o tipo inverso. Recentemente, mais atenção tem sido dada ao sistema TPS em Acinetobacter. Esse sistema é composto por dois genes no mesmo operon: *tpsA*, que codifica uma proteína adesiva, e tpsB, que forma o canal de secreção na OM. Pérez *et al.* (2017) identificaram em *A. baumannii* AbH12O-A2, uma cepa altamente aderente a células epiteliais A549 uma ilha genômica contendo os genes abfhaB e abfhaC. A AbFhaB (TpsA) possui peptídeo sinal típico de T5SS, um

motivo RGD de adesão e um domínio de hemaglutinação; já AbFhaC (TpsB) pertence à família Omp38/TpsB, contendo o domínio PORTA para translocação proteica (ELHOSSEINY; ATTIA, 2018). Embora essa cepa formasse biofilmes mais fracos em superfícies abióticas comparada à ATCC 17978, demonstrou maior adesão e formação de biofilme em células A549, efeito abolido em mutantes ΔfhaC. Além disso, o sistema AbFhaB/AbFhaC contribui para a interação com fibronectina e participa da virulência em modelos animais, indicando seu papel relevante na patogênese (ELHOSSEINY; ATTIA, 2018).

O estudo de Ishikawa *et al.* caracterizou a proteína TpgA, codificada a jusante do gene ataA em Acinetobacter sp. Tol 5, ambos transcritos no mesmo operon. A TpgA possui dois domínios: um SmpA, comum em lipoproteínas da membrana externa (OM), e um domínio OmpA_C-like, associado a proteínas que se ligam ao peptidoglicano. Apesar da semelhança com lipoproteínas, TpgA não apresenta o resíduo de cisteína típico para modificação lipídica, sendo processada em Ala24. Isso indica que ela não se ancora diretamente à OM. Curiosamente, TpgA foi localizada majoritariamente na OM, e não no periplasma, o que levou os autores a sugerirem que essa localização se dá por meio de sua interação com AtaA, hipótese confirmada por ensaios de co-localização e imunoprecipitação. Além disso, a TpgA se liga ao peptidoglicano e é essencial para o correto transporte e exposição de AtaA na superfície celular. Mutantes ΔtpgA apresentam menor capacidade de adesão em comparação ao tipo selvagem, embora ainda superior aos mutantes ΔataA, reforçando o papel colaborativo de TpgA na função adesiva de AtaA (BENTANCOR *et al*., 2012)

2.1.2.7 Bombas de efluxo

2.1.2.7.1 Família resistance nodulation division

Sistema de efluxo RND (*resistance nodulation division*) é um sistema que se estende pelas membranas internas e externas, sendo composta por um transportador da membrana interna RND, uma proteína adaptadora periplasmática (PAP; *periplasmic adapter protein*) e um fator de membrana externa (OMF; *outer membrane factor*). O sistema forma um canal contínuo que possibilita a extrusão de diversos

substratos do citosol para o ambiente extracelular (WIMALASEKARA, R. L.; WHITE, D.; KUMAR, A., 2025).

As bombas de efluxo da família RND em *A. baumannii* (AdeABC, AdeIJK e AdeFGH) exportam substratos diversos, como antibióticos e corantes, de forma dependente da força próton-motriz. A inativação do gene *adeB* aumenta a sensibilidade a azitromicina, zeocina e gentamicina, cuja autores argumentam que na cepa testada, esse é o mecanismo associado à sua resistência; a inativação e *adeIJK* leva a uma à tetraciclina, SDS e novobiocina; e a perda combinada de ambas, à cefepima, ciprofloxacino e eritromicina (LEUS *et al*., 2020).

A relação entre adeB na resistência a antimicrobianos de *A. baumannii* foi relatada por Farshadzadeh *et al.* (2025), que observaram que isolados de *A. baumannii* resistentes a carbapenêmicos possuíam aumento significativo da expressão do gene.

Darby *et al.* (2023) concluíram que apenas AdeIJK é um sistema fundamental nas espécies do gênero *af*, sendo um possível ancestral requerido para a sobrevivência e homeostase, enquanto os sistemas AdeABC e AdeFGH estão mais associadas a processos infecciosos.

A inativação dos genes associados a essas bombas também leva a uma alteração do transcriptoma, como evidenciado por Leus *et al*. (2020). Cepas Δ*adeB* apresentaram aumento de transcritos de genes de bacteriófagos, metabolismo de carbono e regulação de transporte. Já os mRNAs reprimidos incluíam genes de motilidade, formação de biofilme, aquisição de ferro e metalo-beta-lactamases. Entretanto, cepas Δ*adeB* apresentaram aumento da formação de biofilme. Mutantes Δ*adeIJK* apresentaram uma ampla alteração do perfil de transcrição, incluindo upregulação de genes de transporte e regulação e downregulação de genes de metabolismo lipídico e de carbono são reprimidos, sugerindo que AdeIJK está envolvida no efluxo de lipídios. Além disso, genes como o operon *pgaABC* e genes de fímbria estão ativados, indicando possíveis alterações na formação de biofilme, ainda que cepas Δ*adeIJK* apresentaram biofilmes mais fracos quando comparados a cepas parentais (LEUS *et al.* 2020).

Embora essa possível relação entre os sistemas RND e a formação de biofilme tenha se estabelecido, estudos conduzidos por El-Rahman et al (2023) mostraram que essa não há correlação entre expressão dos genes RND e formação biofilme. Farshadzadeh *et al.* (2025), entretanto, observaram que isolados formadores de

biofilmes moderados a fortes possuíam uma expressão de adeG 2,08 maior

A deleção combinada ocasionou upregulação de genes associados a estresse como *tolQR* (associado com a manutenção da membrana), *qseC*, *ygiW*, *mutT* e *soxR* (resposta ao estresse oxidativo e virulência) (LEUS *et al*. 2020). A expressão de *ompW*, porina envolvida na captação de ferro e resistência a antibióticos, também aumentou. A perda simultânea das bombas impõe estresse significativo às células, levando à ativação de múltiplas respostas de adaptação (LEUS *et al*. 2020).

Yoon *et al.* (2016) observou que mutantes em genes associados as bombas AdeABC e AdeIJK foram mais virulentos e possuíam uma maior aptidão em experimentos de competição in vitro, estimulando a maior ativação de neutrófilos em pulmões. Todavia, Xie *et al*. (2025) também analisaram o impacto dos sistemas de efluxo AdeABC, AdeFGH e AdeIJK sobre a virulência, adesão e motilidade utilizando mutantes *A. baumannii* AYE Δ*adeA*, Δ*adeB*, Δ*adeC*, Δ*adeRS*, Δ*adeFGH* e Δ*adeIJK*. As análises conduzidas demonstraram que as bombas de efluxo, especialmente AdeB contribuem para a resistência a carbapenêmicos, fluoroquinolonas, macrolideos, polimixinas e tetraciclina/tigeciclina tanto em células planctônicas quanto em biofilme, também afetando a motilidade e a adesão, diminuindo a formação do biofilme e reduzindo a expressão de genes associados à formação dessa estrutura e genes de virulência como *abaI*, *bap*, *bfmR*, *csuE*, *ompA* e *pgaA*. O impacto na virulência foi analisado em modelo de *G. mellonella*, demonstrando que deleções em genes de bombas de efluxo são capazes de atenuar *A. baumannii* AYE (XIE *et al*., 2025).

A resistência a biocidas também está relacionada a bombas de efluxo. Meyer *et al*. (2022) observou que o aumento da expressão das bombas AdeABC e AdeIJK aumentou a taxa de sobrevivência de *A. baumannii* a cloreto de benzalcônio, gluconato de clorexidina, glucoprotamina e dihidrocloreto de octenidina.

2.1.2.7.2 Família multidrug and toxin extrusion

As proteínas pertencentes à família multidrug and toxin extrusion (MATE) possuem regiões transmembranas de alfa-hélice que utilizam de um gradiente eletroquímico para funcionar. Os substratos são diversos e podem diferir estruturalmente (HUANG *et al.*, 2022). No caso da proteína AbeM antiportadora H+, seus substratos incluem a norfloxacina, ciprofloxacina, gentamicina, 4',6-diamino-2-fenilindol (DAPI), triclosan, acriflavina, Hoechst 33342, daunorubicina, doxorrubicina,

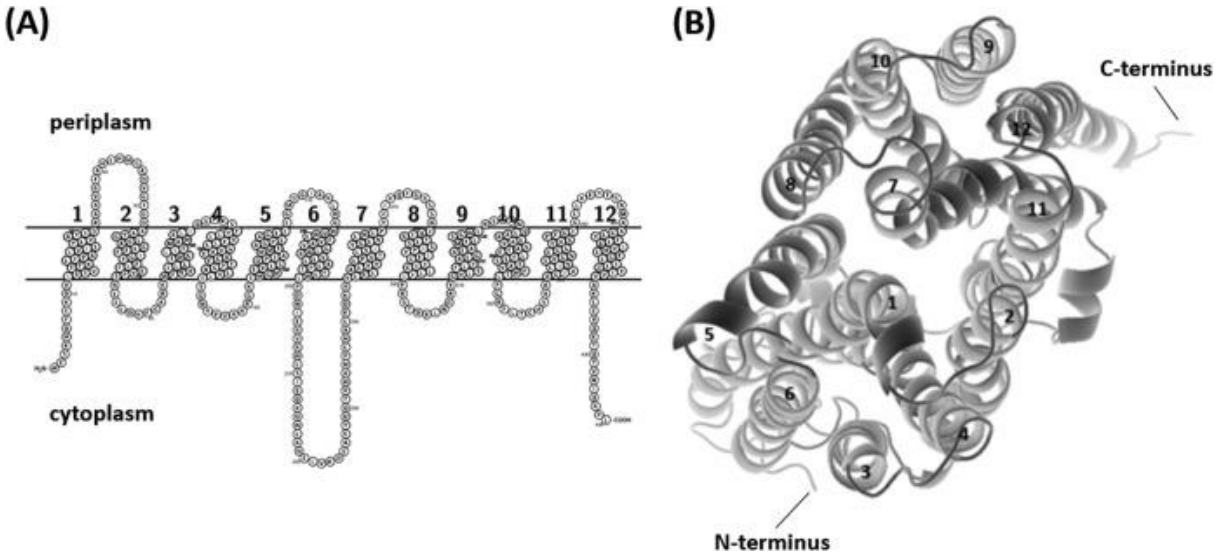
rodamina 6G, brometo de etídio, eritromicina, kanamicina, cloranfenicol, cloreto de tetrafenilfosfônio (TPPCl) e trimetoprima, sendo os melhores substrato as fluoroquinolonas norfloxacina e ciprofloxacina. A clonagem do gene *abeM* em E. coli ocasiona o aumento da concentração inibitória mínima para esses antimicrobianos, como evidenciado por Su *et al*. (2005).

O papel das proteínas MATE na virulência e fisiologia foram observados por Pérez-Varela *et al*. (2019) utilizando *A. baumannii* mutantes da proteína A1S_3371 (MATE). A mutação nesse gene ocasionou atenuação e redução da mobilidade comparado à cepa selvagem.

2.1.2.7.3 Superfamília major facilitator

As primeiras análises da proteína pertencente a superfamília major facilitator AbaQ (*A. baumannii quinolone resistance transporter*) foi conduzida por Pérez-Varela *et al*. (2017) que observaram que a inativação do gene AU097_RS17040 ocasionou diminuição da motilidade associada à superfície. Uma análise mais detalhada desse gene foi conduzida por Pérez-Varela *et al*. (2018). Os autores descreveram o gene como possuindo 1305 nucleotídeos que codificam uma proteína de 434 resíduos, com massa molecular de 47.8 kDa e um ponto isoelétrico teórico de 9.27. Os autores previram que a AbaQ é composta de 12 segmentos transmembrana α-hélice, com rgiões N- e C-terminal localizados no citoplasma (figura 32).

Figura 32 – Predição estrutural da proteína AbaQ: (A) representação esquemática paralela à membrana citoplasmática feita no Protter e (B) modelo tridimensional obtido pelo RaptorX e visualizado no PyMOL, evidenciando 12 hélices transmembrana e as extremidades N e C localizadas no citoplasma.



Fonte – Pérez-Varela *et al*. (2018)

Os dados dos autores também indicam que AbaQ atua como um antiportador H+.

Pérez-Varela *et al.* (2018) analisaram o impacto da ausência de AbaQ na sensibilidade a antimicrobianos e observaram aumento da sensibilidade ao trimetoprima, novobiocina e quinolonas, indicando que se trata de substratos para a proteína. Não foi observado aumento de sensibilidade a β-lactâmicos, aminoglicosídeos, macrolídeos e polimixinas.

Outras proteínas MFS incluem a Tet(A) e Tet(B), responsáveis pela resistência a tetraciclina e minociclina (Martí *et al*., 2006).

O estudo de Roca *et al.* (2009) investigou os mecanismos de resistência ao cloranfenicol em Acinetobacter baumannii, uma vez que a maioria dos isolados da bactéria apresenta resistência intrínseca a esse antibiótico, mas sem um mecanismo claramente definido. Análises anteriores demonstraram que 54 isolados altamente resistentes ao cloranfenicol não apresentavam atividade da enzima cloranfenicol acetiltransferase, descartando esse mecanismo como causa da resistência. Embora bombas de efluxo do tipo RND possam contribuir parcialmente, elas não explicam os altos níveis de resistência observados. Neste trabalho, os autores identificaram o gene orf3, que codifica uma bomba de efluxo da superfamília MFS estruturalmente relacionada à proteína MdfA de *E. coli*. No entanto, enquanto MdfA tem amplo espectro de substratos, a bomba codificada por orf3 mostrou-se altamente específica para o cloranfenicol. Por esse motivo, os autores propuseram renomear orf3 como

CraA (*chloramphenicol resistance Acinetobacter*), sugerindo que essa bomba seja a principal responsável pela resistência intrínseca ao cloranfenicol em *A. baumannii*.

Sharma *et al.* (2017) conduziram experimentos a fim de investigar a função do gene A1S_1331, denominado AbaF (*Acinetobacter baumannii Fosfomycin efflux*), alvo da pequena RNA AbsR25. Os autores observaram que a deleção de *abaF* em *A. baumannii* aumentou a sensibilidade à fosfomicina e reduziu a formação de biofilme e a virulência. Além disso, a expressão de abaF foi maior em células desafiadas com fosfomicina e em cepas clinicamente resistentes, sendo detectada também em isolados clínicos, indicando que AbaF contribui para a resistência à fosfomicina, além de influenciar na virulência e formação de biofilme em *A. baumannii*.

Lin, Lin e Lan (2017) observaram o papel do do sistema de bomba de efluxo Emr em Acinetobacter baumannii, cuja função ainda não havia sido caracterizada nessa espécie. Quatro grupos de genes semelhantes a emr foram identificados no genoma, e os genes A1S_1772 (*emrB*) e A1S_1773 (*emrA*) foram confirmados como co-transcritos em um mesmo operon. Entre os genes analisados, *emrB* (A1S_1772) apresentou maior indução sob estresse osmótico, e sua deleção reduziu significativamente o crescimento em sucrose, aumentou a sensibilidade à colistina, nafcilina, paromomicina, espiramicina e D,L-serina hidroxamato, em comparação com a cepa selvagem.

2.1.2.7.4 Família ATP binding cassette

Os transportadores ATP-binding cassette (ABC), como o próprio nome sugerem, hidrolisam o ATP para a exportação de substratos (ABDI *et al*., 2020). Essas proteínas possuem domínios transmembrana com bolsões de ligação para os domínios de ligação a nucleotídeos que ligam e hidrolisam o ATP. Os exportadores ABC podem ser divididos em heterodiméricos e homodiméricos (ABDI *et al*., 2020).

Recentemente, estruturas cristalográficas de transportadores ABC têm sido descritas em diversos organismos, tanto para exportadores quanto importadores de substratos. Nos exportadores bacterianos tipo I, responsáveis pelo transporte de antibióticos e agentes citotóxicos, a unidade funcional mínima é composta por dois domínios transmembranares e dois domínios citosólicos de ligação a nucleotídeos (NBDs).

Um exemplo é o complexo MacA-MacB-TolC de *A. baumannii*, um complexo

tripartite e transmembranar que extruda substratos como macrolídeos, fatores de virulência, peptídeos e precursores da parede celular. É composto por um dímero de MacB com um domínio de ligação a nucleotídeos e quatro hélices transmembranares, formando um domínio de ligação que possibilita a interação com a proteína MacA (OKADA *et al.*, 2017)

2.1.2.7.5 Família proteobacterial antimicrobial compound efflux

Os transportadores da família PACE (*proteobacterial antimicrobial compound efflux*) são conservados entre os genomas bacterianos. Em *A. baumannii*, foram identificadas três proteínas PACE distintas: uma faz parte do genoma acessório presente em apenas duas cepas, enquanto as outras duas estão conservadas em 100% ou quase todas as cepas, sugerindo que integram o genoma central da espécie (KUMAWAR *et al*., 2023). Por serem conservados, sugere-se que esses genes possam conferir resistência a biocidas e participem da homeostase bacteriana. Seus motivos são altamente conservados, indicando forte ligação entre duas hélices transmembranas, o que também sugere que PACE evoluiu por duplicação gênica (KUMAWAT *et al*., 2023).

Com base na sua sequência, foi previsto que o gene A1S_2063 codifica uma proteína de membrana interna com quatro hélices transmembranares. O gene foi clonado em um vetor de expressão em *E. coli* e, quando superexpresso, conferiu níveis significativos de resistência à clorexidina. A deleção do gene A1S_2063 em Acinetobacter baumannii ATCC 17978 e de seu ortólogo em Acinetobacter baylyi ADP1 reduziu pela metade a resistência à clorexidina, indicando que o gene tem função de resistência em seus hospedeiros nativos (Pérez-Varela *et al*., 2019).

Hassan *et al.* (2019) observaram que o gene AceI é induzido in *A. baumannii* por diaminas como cadaverina e a putrescina, sendo substratos comuns para proteínas da família PACE.

2.1.2.8 Toxinas

2.1.2.8.1 *Fosfolipases e lipases*

Camarena *et al*. (2010) analisando o transcrito de *A. baumannii* na presença do

etanol, uma molécula conhecida por induzir a patogenicidade dessa bactéria. Os autores observaram que, quando cultivados na presença do etanol, havia aumento da expressão de diversas enzimas metabólicas da cepa *A. baumannii* ATCC 17978 e de uma fosfolipase C (plc1; A1S_0043). A fim de avaliar essa fosfolipase como um potencial fator de virulência, os autores estudaram sua deleção e observaram que houve efeito modesto, mas reprodutível, na redução do efeito citotóxico em células epiteliais.

A enzima PLC pode ser classificada em plc1 e plc2, sendo enzimas fosfatidilcolina-específicas (FIESTER *et al*., 2016), que torna *A. baumannii* significativamente hemolítica para eritrócitos de ovelha, cavalo e humano. A expressão dessas enzimas é potencializada em condições ricas em ferro. Mutantes de plc1 e plc2, como observado por Fiester *et al*. (2016) possuíam atividade hemolítica e citolítica reduzida e atenuação em modelo de *G. mellonella*.

Efeitos semelhantes foram encontrados por Jacobs et al. (2010), mas estudando a fosfolipase D (A1S_2989). Sua disrupção ocasiona redução na habilidade de sobrevivência no soro humano, na invasão epitelial e atenuação em modelo murino de pneumonia.

A enzima PLD pode ser dividida em PLD1 e PLD2, ambas possuindo dois domínios PLDc_2 PFAM, que possuem motivo HxKx4Dx6GS/GGxN (HKD) que forma seu sítio catalítico, e PLD3, entretanto, possui apenas 1 PLDc_2 PFAM e 1 motivo HKD conservado (Stahl *et al.*, 2015). Experimentos conduzidos por Stahl *et al.* (2015) observaram que essas 3 PLDs atuam como um fator de virulência, possuindo papel importante na invasão celular.

Outra fosfolipase é a LipAN, uma fosfolipase plasmidial encontrada por Elhosseiny *et al*. (2016) juntamente com um sistema T2SS.

2.1.2.9 Proteases

Uma das principais proteases de *A. baumannii* é a CpaA (*coagulation targeting metallo-endopeptidase of Acinetobacter baumannii*), uma metalo-endopeptidase zinco-dependente similar a reprolisina secretada capaz de clivar o factor V e o fibrinogênio, reduzindo a atividade de coagulação em plasma humano (TILLEY *et al.*, 2014). Ensaios de plasma tratado com CpaA apresentou menor atividade de coagulação nos ensaios de aPTT (via de contato), mas maior atividade de coagulação

nos ensaios de PT (via do fator tecidual) (TILLEY *et al.*, 2014). Blair *et al.* (2025) observaram que a CpaA é capaz de clivar o fator de coagulação XII em sítios glicosilados O-ligados, inibindo ativação por contato. O fator XII (FXII) desempenha papéis importantes nas vias de contato e calicreína-cinina. Ele pode ser convertido em sua forma ativa, FXIIa, pela calicreína plasmática (PKa) ou por autoativação ao entrar em contato com superfícies biológicas, como as de origem bacteriana. No organismo, o FXIIa desencadeia a via intrínseca da coagulação e contribui para a resposta inflamatória ao ativar a pré-calicreína, que por sua vez cliva o cininogênio de alto peso molecular (HK), liberando bradicinina.

Blair *et al*. (2025) observaram que a CpaA cliva tanto o FXII na forma de zimogênio quanto sua forma ativada (FXIIa), mas não afeta o fator XII beta. Apesar disso, a clivagem do FXIIa não compromete sua função coagulante, indicando que a CpaA não a inativa, mas sim impede a ativação do FXII ainda inativo. A proteína também cliva o cininogênio de alto peso molecular (HK), resultando em menor ativação da calicreína e redução na produção de bradicinina. Neste trabalho, foi demonstrado que a CpaA cliva o FXII presente nesses leucócitos, o que leva à diminuição da fosforilação de Akt2, da quimiotaxia, do burst oxidativo e da formação de armadilhas extracelulares (NETs). Como consequência, a CpaA reduz a capacidade dos neutrófilos humanos de eliminar *A. baumannii* em cultura.

Nos estudos de Muhammed *et al.* (2021), os autores expressaram serina protease extracelular do tipo subtilisina, denominada SPSFQ. A forma madura e cataliticamente ativa da SPSFQ apresentou 99% de identidade de sequência com proteases extracelulares de isolados clínicos de *A. baumannii* e *Klebsiella pneumoniae*, além de uma identidade moderadamente alta com outras proteases bacterianas conhecidas por atividade queratinolítica e colagenolítica (MUHAMMED *et al.*, 2021). O modelo por homologia da forma madura da SPSFQ revelou uma estrutura composta por 10 fitas β, 8 hélices α e alças de conexão, característica da arquitetura típica do motivo α/β das subtilisinas.

Outra importante protease é a enzima Lon, uma enzima intracelular ATP-dependente e conservada entre os domínios, degradando proteínas mal dobradas e proteínas reguladores (CHING *et al.*, 2018). Embora não seja um fator de virulência propriamente dito, *A. baumannii* mutante de Lon via transposição formam menos biofilme, se aderem menos ao poliestireno e possuem motilidade reduzida, embora, contrariamente, possuam uma maior complexidade topológica comparado à cepa

parental (CHING *et al.*, 2018). Os autores também observaram que Lon possui papel na resistência à radiação UV, havendo superexpressão do gene *surA1*, um gene indiretamente regulado pela depleção de Lon. É importante ressaltar que a proteína SurA1 é citotoxica e medeia a sobrevivência no soro humano (CHING *et al.*, 2018).

2.1.2.10 Biofilme e quorum sensing

A expressão de genes associados a biofilme é controlada por um sistema integrado de sinalização interna e externa, o quorum sensing, um sistema densidade-dependente. Em *A. baumannii*, o sistema de quorum é tipo RXI, possuindo uma AbaI que sintetiza o alarmônio N-(3-hidroxidodecanoil)-l-homoserina lactona (OHC12-HSL), o AbaR, um receptor cognato, e AbaM, um regulador negativo (Romero *et al*., 2022).

A chave para a maturação do biofilme de *Acinetobacter* spp. é a aeração robusta (Romero *et al*., 2022). Quando maturados, os biofilmes adquirem estruturas tridimensionais semelhantes a cogumelos com depressões centrais. Em mutantes *abaI*, a adição de OHC12-HSL exógeno recuperava a biomassa do biofilme, ocorrendo a formação dessas estruturas, embora possuam tamanho reduzido.

Segundo Romero *et al*. (2022) a razão para a ausência dessas estruturas de cogumelo em mutantes *abaI* é a redução da expressão do operon *csu*, responsável pela produção do pili Csu, citado supramente.

Em termos de matriz, a matriz polimérica desse biofilme era composta principalmente de DNA extracelular (DNAe) e poli-ß-(1-6)-N-acetil-glicosamina (PNAG), havendo aumento de DNAe conforme a maturação do biofilme, indicando o papel do DNAe enquanto *scaffold* para as estruturas de cogumelo (Romero *et al*., 2022). Análises conduzidas por Kumar *et al.* (2025) observaram a presença de DNA extracelular, carboidratos e proteínas fosforiladas, fosfolipídeos e moléculas com grupamentos amida I e II na matriz extracelular.

Em um estudo conduzido por Lin e colaboradores (2020), foi observado que o nocaute do gene *baeR*, um gene associado ao sistema regulatório de dois componentes, bem como genes de bombas de efluxo e OMPs resultaram na redução da formação de biofilme.

2.2 PATOLOGIAS ASSOCIADAS A *A. baumannii*

A transmissão de *A. baumannii* ocorre principalmente por superfícies ou equipamentos contaminados ou colonizados, razão pela qual a formação de seu biofilme é importante (ASIF; ALVI; REHMAN, 2018). Equipamentos e instrumentos incluem dispositivos de sucção, materiais para acesso intravascular e equipamentos respiratórios. Roupas de cama, cortinas, grades de leitos, mesas, pias etc. também são fontes de transmissão (ASIF; ALVI; REHMAN, 2018).

A. baumannii é conhecido por ocasionar infecções principalmente em pacientes com comorbidades como recém-nascidos e idosos com doenças crônicas. Os fatores predisponentes para sua infecção incluem internação prolongada, ventilação mecânica, terapias antimicrobianas prévias e permanência em unidades de tratamento intensivo (UTI) (ASIF, ALVI E REHMAN, 2018). As infecções por *A. baumannii* ocorrem principalmente nas UTIs, com taxa de mortalidade que pode chegar até 43%. É agente etiológico de pneumonia associada à ventilação mecânica, representando 15% das infecções hospitalares e até 50% do uso total de antibióticos em UTIs. Pode ocasionar bronquiolite e traqueobronquite em crianças e imunocomprometidos a partir da colonização de locais submetidos a traqueostomia (ASIF; ALVI; REHMAN, 2018).

Corresponde por 10 a 15% das infecções de corrente sanguínea, geralmente posterior a procedimentos invasivos como cateterismo, podendo ocasionar endocardite. Em pacientes neurocirúrgicos, é responsável por meningites e infecções relacionadas, com uma taxa de mortalidade de até 70%. Raramente ocasionam infecções do trato urinário, geralmente em pacientes debilitados e com sondas de demora (ASIF; ALVI; REHMAN, 2018).

2.3 RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS EM *A. baumannii*

2.3.1 Mecanismos de resistência

2.3.1.1 Resistência aos β-lactâmicos

O principal mecanismo de resistência aos β-lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas, monobactâmicos e carbapenêmicos) obsevado em *A. baumannii* é a

produção de β-lactamases, enzimas catalíticas que hidrolisam o anel β-lactâmico e, consequentemente, inativando a propriedade antibacteriana desses fámacos (KYRIAKIDIS *et al*. 2021; SHI *et al*., 2024; SCOFFONE *et al*., 2025).

As β-lactamases são classificadas em quatro classes (A, B, C e D) segundo a estrutura molecular, conforme a classificação de Ambler (KYRIAKIDIS *et al*. 2021; SHI *et al*., 2024; SCOFFONE *et al*., 2025).

As β-lactamases de classe A são enzimas contendo serina e inclui penicilinases, cefalosporinases, carbencilinases e as chamadas ESBLs (extended-spectrum β-lactamases). A maioria das ESBLs é da classe A, embora algumas pertençam à classe D. Entre os exemplos mais comuns de β-lactâmicos do tio A estão TEM, SHV, CTX-M, PER, KPC, VEB, GES, BES e SFO. No caso de *A. baumannii*, as ESBLs do tipo TEM são as mais frequentemente detectadas e representam o principal mecanismo de resistência a antibióticos β-lactâmicos. Os genes de classe A podem ser cromossomal, plasmidial ou adquiridos via transferência horizontal de genes (KYRIAKIDIS *et al*. 2021; SHI *et al*., 2024; SCOFFONE *et al*., 2025).

As β-lactamases de classe B, também chamadas de metalobetalactamases (MBLs), possuem um sítio ativo contendo metas, geralmente o íon $Zn^{2}+$. Elas são capazes de hidolisar a maioria dos antibióticos β-lactâmicos, especialmente carbapenêmics como o imipenem, com exceção de monobactâmicos, como o aztreonam. Estas enzimas não são inibidas por inibidores como clavulanato, sulbactam ou tazobactam, mas podem ser inibidas por quelantes metálicos, como etilenodiaminotetracético (EDTA). Entre os tipos mais comuns encontrados em A. baumannii estão IMP, VIM, SIM e NDM, sendo o NDM-1 (*New Delhi Metallo-β-lactamase*) uma enzima com alta taxa de eficiência de hidrólise dos carbapenêmicos e que confere o fenótipo pan-resistente. O gene associado a gene NDM-1, normalmente, é plasmidial (KYRIAKIDIS et al. 2021; SHI *et al*., 2024; SCOFFONE *et al*., 2025).

As β-lactamases de classe C, também conhecidas como AmpC ou cefalosporinases, são capazes de hidrolisar cefalosporinas, especialmente as de terceira geração, e não são inibidas por clavulanato. Elas são cromossomalmente codificadas, principalmente no cromossomo de *A. baumannii* (ADC, cromotipo), embora também possam estar presentes em plasmídeos (DHA, plasmídeo-tipo). A expressão destas enzimas é significativamente aumentada quando há a presença do elemento genético insercional como o ISAba1 upstream do gene AmpC. AmpC é uma

das principais causas da resistência de *A. baumannii* às cefalosporinas de terceira geração, sendo que infecções causadas por essas cepas geralmente são tratadas com carbapenens ou cefalosporinas de quarta geração (KYRIAKIDIS et al. 2021; SHI *et al*., 2024; SCOFFONE *et al*., 2025).

As β-lactamases de classe D, chamadas oxacilinases (OXA), são capazes de hidrolisar penicilinas semissintéticas, cefalosporinas e carbapenêmicos. Elas possuem lisina carboxilada no centro do sítio ativo, conferindo um mecanismo catalítico distinto. A presença de OXAs é um dos principais fatores de resistência a carbapenêmicos em *A. baumannii*. Entre as enzimas mais prevalentes estão OXA23, OXA24, OXA51, OXA58, OXA143 e OXA235. OXA51 ocorre naturalmente na espécie, mas apresenta baixa atividade hidrolíticas de carbapenêmcios, entretanto, sua expressão aumenta quando acompanhada do elemento ISAba1. A OXA23 é considerada a principal responsável pela resistência a carbapenêmicos, podendo estar em cromossomos ou plasmídeos e ser transferida através de transposons e outros elementos móveis. A OXA24 e a OXA58 podem ser disseminadas por vesículas de membrana externa, que também protegem bactérias sensíveis a carbapenêmicos. A resistência tende a aumentar com o número de elementos genéticos móveis presentes simultaneamente, sendo a presença de ISAba1 um fator que intensifica ainda mais a resistência (KYRIAKIDIS *et al*. 2021; SHI *et al*., 2024; SCOFFONE *et al*., 2025).

2.3.1.2 Resistência aos aminoglicosídeos

O principal mecanismo responsável pela resistência de *A. baumannii* aos aminoglicosídeos é a expressão de enzimas modificadoras de aminoglicosídeos (EMA) e a produção de metilases do RNAr 16S (KYRIAKIDIS *et al*. 2021; SHI *et al*., 2024; SCOFFONE *et al*., 2025).

As EMA podem ser classificadas em acetiltransferases (AAC; codificada pelo gene *aac*), nucleotidiltransferases (ANT; codificada pelo gene *ant*) e fosfotransferase (APH; codificado pelos genes *aph*). Essas enzimas adicionam acetil, nucleotidil e fosfato a grupos hidroxilas livres no aminoglicosídeo. Essa modificação altera ligações covalentes e bloqueiam a ligação ao ribossomo (KYRIAKIDIS *et al*. 2021; SHI *et al*., 2024; SCOFFONE *et al*., 2025).

As principais EMA em *A. baumannii* são AAC(3)-I, AAC(3)-II, AAC(6′)-I,

ANT(2″)-I, ANT(2″)-II, APH(3′)-I, and APH(3″)-II. Esses genes podem estar localizado em elementos móveis, o que facilita sua disseminação (KYRIAKIDIS *et al*. 2021; SHI *et al*., 2024; SCOFFONE *et al*., 2025).

O gene AAC(31)-Ia esta associado com resistência a tobramicina e amicacina A enzima AAC(3′)-IIa é associada a resistência a kanamicina. A enzima ANT(2′)-Ia está associada a resistência a tobramicina, gentamicina e amicacina e APH(3′)-Via é associada à resistência tanto a amicacina quanto kanamicina (KYRIAKIDIS *et al*. 2021; SHI *et al*., 2024; SCOFFONE *et al*., 2025).

Como supracitado, outro mecanismo de resistência é a metilação do RNAr 16S. As principais metilases são codificadas pelos genes *armA*, *rmtA*, *rmtB*, *rmC*, *rmtD*, *rmtE*, *rmtF*, *rmtG*, *rmtH* e *npmA*. A metilação dessa porção ribossomal reduz a afinidade a aminoglicosídeos (KYRIAKIDIS *et al*. 2021; SHI *et al*., 2024; SCOFFONE *et al*., 2025).

2.3.1.3 Resistência às tetraciclinas

A resistência a tetraciclinas é mediada por bombas de efluxo ATP-dependente, inativação enzimática da tetraciclina e proteínas de proteção ribossomal (KYRIAKIDIS *et al*. 2021; SHI *et al*., 2024; SCOFFONE *et al*., 2025).

As principais bombas de efluxo associadas a resistência a tetraciclina são as bombas RND, predominantemente AdeABC, e bombas MFS, especialmente TetA e TetB (KYRIAKIDIS *et al*. 2021; SHI *et al*., 2024; SCOFFONE *et al*., 2025).

As principais proteínas de proteção ribossomal são as TetM, TetW, TetO, TetS, que atuam através da modificação não-covalente do ribossomo através da liberação da tetraciclina do sítio de ligação ribossomal por um mecanismo GTP-dependente (KYRIAKIDIS *et al*. 2021; SHI *et al*., 2024; SCOFFONE *et al*., 2025).

2.3.1.4 Resistência às fluoroquinolonas

A resistência às quinolonas causada pela superativação das bombas RND é conhecida há bastante tempo e é relativamente comum. Mutações nos elementos do sistema de dois componentes que regulam a bomba AdeABC, tanto no regulador AdeR (especialmente os polimorfismos D20N, A91V, A136V e P116L) quanto no sensor AdeS (principalmente G30D, A94V, G103D, G186V e T153M), levam a um

aumento no efluxo de fluoroquinolonas. Alterações em *adeR* e *adeS* estão associadas superexpressão do sistema de efluxo AdeABC, principalmente do gene da subunidade permease *adeB*, associado a resistência a ciprofloxacino, norfloxacino e ofloxacino. Além da AdeABC, os sistemas de efluxo AdeIJK e AdeFGH também são utilizados por *A. baumannii* para excreção de fluoroquinolonas da célula, resultando em valores elevados de CIM. A bomba AbeM afeta principalmente fluoroquinolonas hidrofílicas, como norfloxacino e ciprofloxacino, e tem pouco efeito sobre moléculas mais hidrofóbicas, como o ofloxacino. De modo geral, essas bombas de efluxo não pertencentes à família RND conferem apenas níveis baixos de resistência às fluoroquinolonas, embora alguns estudos indiquem o contrário (KYRIAKIDIS *et al*. 2021; SHI *et al*., 2024; SCOFFONE *et al*., 2025).

Além da expressão de bombas de efluxo, regiões determinantes de resistência a quinolonas, conhecidas como QRDRs, podem ser passíveis de modificação nos sítios-alvo da girase e da topoisomerase IV. Mutações como Ser83Leu, Gly81Asp e Ser81Leu da girasse impedem a ligação das quinolonas à subunidade alfa. Alterações como Ser80Leu, Glu84Lys, Gly78Cys e Ser84Leu afetam a subunidade C da topoisomerase IV. Em *A. baumannii*, uma única mutação pontual na girase geralmente não é suficiente para conferir resistência a fluoroquinolonas, com possível exceção para levofloxacino. Mutações isoladas em *parC* podem se associadas à resistência ao ciprofloxacino. O surgimento simultâneo de mutações nas QRDRs dos genes *gyrA* e *parC* está relacionado a níveis significativamente mais altos de resistência. Alterações em *gyrB* e *parE* possuem importância menor (KYRIAKIDIS *et al*. 2021; SHI *et al*., 2024; SCOFFONE *et al*., 2025).

A resistência às quinolonas e fluoroquinolonas também pode ser mediada por plasmídeo (PMQR; *plasmid-mediated quinolone resistance*). Genes *qnrAI*, *qnrB*, *qnrB19* e *qnrS* codificam proteínas da família dos repetidos de pentapeptídeos, homólogas às proteínas McbG e MfpA. Essas proteínas inibem a ação da girase competindo com o DNA pelo sítio de ligação, o que reduz a afinidade da topoisomerase pelo DNA e protege o complexo enzima-DNA da ação das quinolonas. (KYRIAKIDIS *et al*. 2021; SHI *et al*., 2024; SCOFFONE *et al*., 2025).

A resistência cromossômica às fluoroquinolonas decorre de dois processos principais: diminuição da entrada do antibiótico devido à expressão reduzida ou ao mau funcionamento de porinas, e hiperatividade de bombas de efluxo. Genes de porinas já foram relacionados a mecanismos de resistência. Uma expressão reduzida

das porinas Omp25 e CarO parece se correlacionar com cepas resistentes de A. baumannii (KYRIAKIDIS *et al*. 2021; SHI *et al*., 2024; SCOFFONE *et al*., 2025).

2.3.1.5 Resistência aos macrolídeos

A resistência a macrolídeos em A. baumannii envolve três grupos principais de determinantes genéticos. O primeiro inclui três metiltransferases de 23S rRNA, especificamente adenina(2058)-N(6)-metiltransferases, codificadas por *erm(B)*, *erm(C)* e *erm(F)*. O segundo compreende a proteína de proteção ribossomal do tipo ABC-F Msr(E). O terceiro é formado por duas macrolídeo 2'-fosfotransferases codificadas por *mph(A)* e *mph(E)*. As duas primeiras categorias conferem resistência por meio da modificação do sítio-alvo ribossomal, enquanto as fosfotransferases promovem a inativação direta dos macrolídeos. Especificamente, Mph(A) e Mph(E) parecem conferir resistência a eritromicina, claritromicina, azitromicina e oleandomicina, mas apenas quando proteínas regulatórias específicas estão presentes.

Além desses mecanismos, *A. baumannii* conta com bombas de efluxo que contribuem para o fenótipo resistente. O sistema tripartite MacA–MacB–TolC promove a extrusão ativa de macrolídeos, enquanto a bomba AdeABC, cuja expressão é controlada por mutações no operon adeRS, também participa desse processo.

2.3.1.6 Resistência às polimixinas

A resistência de *A. baumannii* à polimixina se dá principalmente pela perda do LPS ou através de sua modificação química.

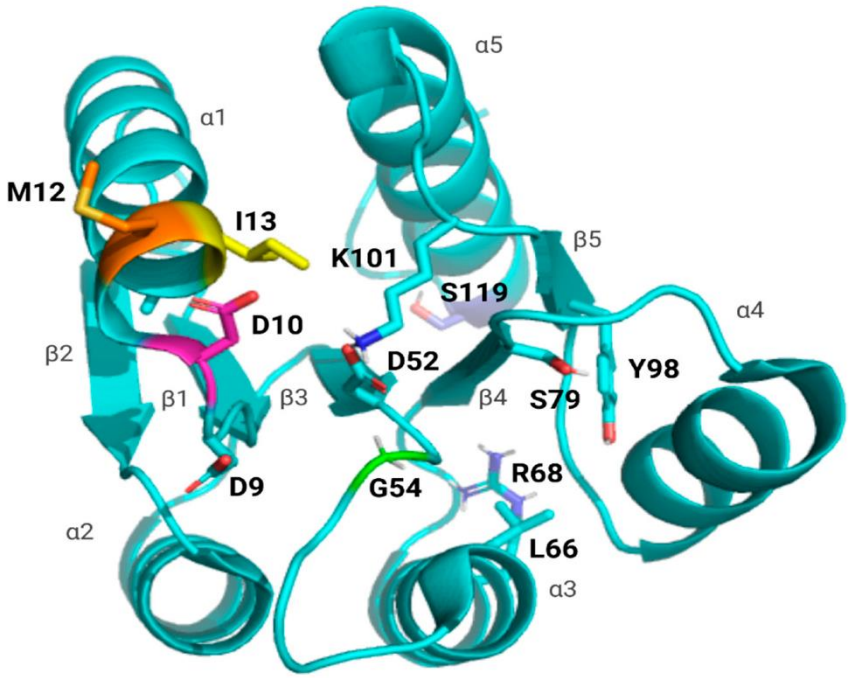
Moffatt e colaboradores (2010) observaram a detecção de cepa deficientes de LPS espontaneamente. Foi observado mutações nos genes associados à via de biossíntese do LPS, os genes *lpxA*, uma UDP-N-acetilglicosamina aciltransferase, *lpxC* e *lpxD,* todas enzimas associadas com as etapas iniciais da biossíntese do lipídeo A. A perda da função desses genes resultou na diminuição da sensibilidade à polimixina B.

Alterações estruturais do LPS já foram observadas em cepas de Gram-negativos resistentes à polimixina (MOFFATT et al., 2010; ARROYO et al., 2011). O mecanismo de resistência pauta-se na neutralização, ou redução, da carga negativa

da superfície celular, através de moléculas como o 4-amino-deoxi-L-arabinose (4-Ara4N) e fosfoetanolamina (PeTN) em *E. coli*, uma modificação regulada pelo sistema PmrAB pH, Fe^{3+} e Mg^{2+}-dependente (MOFFATT et al., 2010; ARROYO et al., 2011).

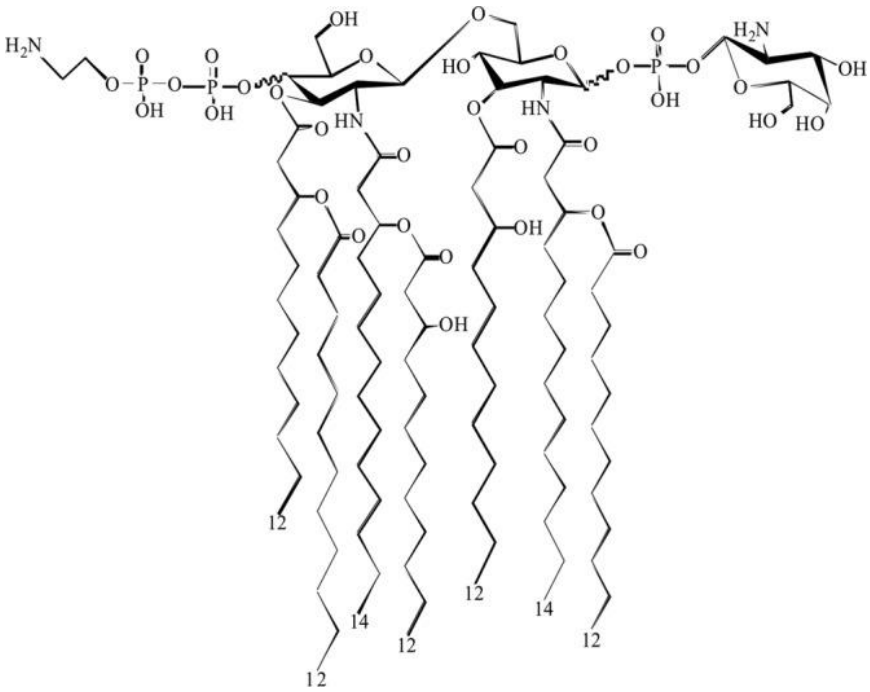
Como observado por Arroyo *et al*. (2011), o operon *pmrCAB* também possui um papel na resistência. O operon é constituído pela enzima PmrC. uma pEtN transferase (com atividade semelhante a do gene *mcr-1*, a proteína quinase PmrB e a proteína reguladora PmrA (figura 33) (JAIMES *et al*., 2025). Através de técnicas de nocaute e análises espectrofotométricas, foi observada a ressensibilização de cepas com nocaute do gene *pmrB*. Também foi observada uma correlação entre a expressão do gene *pmrC* e a resistência a poliximina. Análises utilizando espectrofometria de massa indicaram a adição de fosfoetanolamina ao lipídeo A. Nocautes no gene *pmrC* reverteram a modificação. Outras modificações incluem adição de galactosamina (GalN) ao grupamento fosfato do LPS (figura 34) (PELLETIER et al., 2013).

Figura 33 - Mapa do domínio REC da proteína PmrA selvagem. Em ciano: alfa-helíces. Resíduos-chave D9, D52, L66, R68, S79, Y98 e K101 estão associados à comunicação intracelular.



Fonte: Jaimes *et al*. (2025)

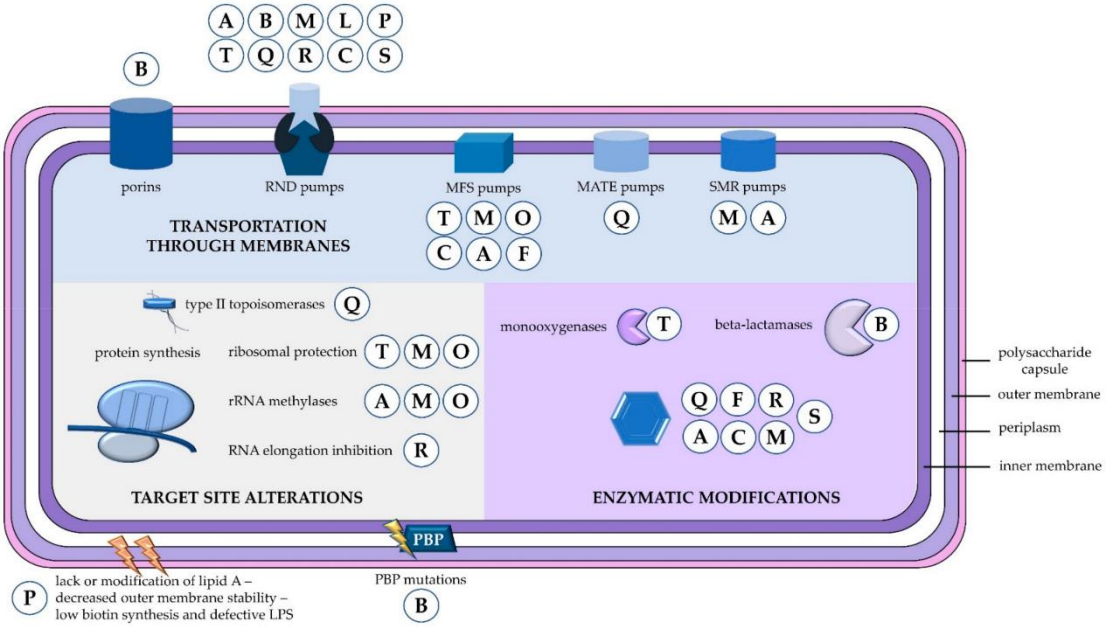
Figura 34 - Estrutura do lipídeo A contendo pEtN e GalN.



Fonte: Pelletier *et al*. (2013)

Os mecanismos de ação para cada classe são sumarizados na figura 35.

Figura 35 - Mecanismos de resistência a antibióticos em *A. baumannii*.
A resistência aos antibióticos pode ocorrer por três mecanismos principais: (1) controle do transporte do antibiótico através das membranas, seja pela redução da permeabilidade das porinas ou pelo aumento do efluxo; (2) modificação dos alvos dos antibióticos; e (3) inativação enzimática dos próprios antibióticos. As abreviações incluem: A = aminoglicosídeos; B = beta-lactâmicos; C = cloranfenicol; F = fosfomicina; L = lincosamidas; M = macrolídeos; MATE = extrusão de multirresistentes e compostos tóxicos; MFS = superfamília dos facilitadores maiores; O = oxazolidinonas; P = polimixinas; PBP = proteína ligadora de penicilina; Q = fluoroquinolonas; R = rifamicinas; RND = resistência-nodulação-divisão; S = diaminopirimidinas e sulfonamidas; SMR = família de resistência a múltiplos fármacos de pequeno porte; T = tetraciclinas



Fonte: Kyriakidis *et al*., 2021

2.4 NANOTECNOLOGIA

2.4.1 História da Nanotecnologia

A ISO 80004-1:2023 que descreve os vocabulários da nanotecnologia descreve a nanoescala como uma faixa de comprimento de 1 a 100 nm, nanociência como estudo, descoberta e compreensão de materiais cuja propriedades e fenômenos são tamanho-dependente, manifestando-se em nanoescala; nanotecnologia sendo a aplicação do conhecimento científico para manipular e controlar a matéria em nanoescala; nanomaterial como material que possui qualquer dimensão externa em nanoescala e nano-objeto como porção discreta de material com uma, duas ou três dimensões externas na nanoescala.

A história da nanotecnologia remonta de períodos pré-era comum, quando essa ciência ainda era tratada como alquimia.

O uso de nanopartículas metálicas remonta desde períodos do Egito antigo e mesopotâmica (XIV e XII a.C). A aplicação dessas nanopartículas era principalmente na fabricação de vidros coloridas, principalmente avermelhados. Sabe-se que esse avermelhado se deve principalmente pela presença de cobre metálico e nanopartículas de óxido cuprosos, gerado principalmente pela presença do antimônio,

um opacificante com potencial redutor, capaz de converter íons cúpricos em cobre (BAYDA et al., 2019; SCHAMINF, D.; REMITA, H., 2015).

O caso mais conhecido do uso de nanopartículas em artefatos antigos é a taça de Licurgo, uma taça romana que remonta de IV d.C. Essa taça apresenta efeito de dicroísmo, apresentando coloração verde-amarelhada quando a luz é refletida e rubi translúcida quando é transmitida. Esse fenômeno se deve a presença de uma liga de nanopartículas de prata e ouro em razão de 7:3 e de 50 a 100 nm, além de ter sido detectado 10% de cobre. Nesse objeto, também foi detectada a presença de antimônio que pode ter atuado como agente redutor dos sais de ouro e prata (BAYDA et al., 2019; SCHAMINF, D.; REMITA, H., 2015).

O conceito de nanômetro foi proposto em 1925 pelo ganhador do Nobel em química Richard Zsigmondy, tendo sido ele o primeiro a mensurar partículas coloidais de ouro (HULLA, J. E.; SAHU, S. C.; HAYES, A. W., 2015).

A nanotecnologia moderna foi fruto da criatividade de Richard Feynman, laureado com nobel de física em 1965. Em 1959, durante um encontro da Sociedade Americana de Física, Feynman realizou uma palestra intitulada “There’s Plenty of Room at the Bottom”, na qual ele discursou sobre a manipulação da matéria em seu nível atômico (BAYDA et al., 2019; HULLA, J. E.; SAHU, S. C.; HAYES, A. W., 2015).

Quase 15 anos após a palestra de Feynman, o japonês Norio Taniguchi foi o primeiro a utilizar o termo “nanotecnologia” para descrever processos em semicondutores. Sua definição para nanotecnologia consistia no processamento, separação, consolidação e deformações de materiais átomo por átomo ou molécula por molécula (HULLA, J. E.; SAHU, S. C.; HAYES, A. W., 2015).

A era de ouro da nanotecnologia teve início na década de 1980, quando Kroto, Smalley e Curl descobriram os fulerenos, e Eric Drexler, do Instituto de Tecnologia de Massachusetts (MIT), utilizou as ideias da palestra de Feynman “There is Plenty of Room at the Bottom” e o termo nanotecnologia proposto por Taniguchi em seu livro de 1986, intitulado “Engines of Creation: The Coming Era of Nanotechnology”. Drexler propôs a ideia de um “montador” em nanoescala capaz de construir uma cópia de si mesmo e de outros objetos de complexidade arbitrária. Essa visão de Drexler é frequentemente chamada de “nanotecnologia molecular” (BAYDA et al., 2019; HULLA, J. E.; SAHU, S. C.; HAYES, A. W., 2015).

O avanço da nanotecnologia continuou quando Iijima, outro cientista japonês, desenvolveu os nanotubos de carbono. O conceito geral das abordagens top-down e

bottom-up, bem como os diferentes métodos adotados para a síntese de nanopartículas por essas técnicas, é resumido na Figura 2. Em 1986, K. Eric Drexler publicou o primeiro livro sobre nanotecnologia, “Engines of Creation: The Coming Era of Nanotechnology”, o que contribuiu para a popularização da teoria da “engenharia molecular”. Drexler descreveu a construção de máquinas complexas a partir de átomos individuais, capazes de manipular moléculas e átomos de forma independente, produzindo nanoestruturas auto-organizadas (BAYDA et al., 2019; HULLA, J. E.; SAHU, S. C.; HAYES, A. W., 2015).

Posteriormente, em 1991, Drexler, Peterson e Pergamit publicaram “Unbounding the Future: The Nanotechnology Revolution”, no qual utilizaram os termos “nanobôs” ou “montadores” para processos em nanoescala aplicados à medicina, sendo então empregado pela primeira vez o termo “nanomedicina” (BAYDA et al., 2019).

2.4.2 Nanopartículas de Prata

2.4.2.1 Síntese de nanopartículas de prata

A síntese de nanopartículas (NPs) pode ser realizada por duas abordagens principais: top-down e bottom-up, que envolvem métodos físicos, químicos ou biológicos. A abordagem top-down parte de um material em maior escala, reduzindo-o até o nível nanométrico por técnicas como fotolitografia, moagem, litografia por feixe de elétrons e gravação por plasma (DHAKA *et al*., 2023). Já a abordagem bottom-up constrói NPs a partir da união de átomos ou moléculas, utilizando métodos como sol-gel, pirólise a laser, deposição química de vapor, automontagem molecular, precipitação química/eletroquímica e síntese bioassistida. Apesar de amplamente empregadas, as técnicas top-down tendem a ser mais caras e tóxicas em comparação às bottom-up (DHAKA *et al*., 2023).

A síntese química de nanopartículas de prata (AgNPs) pode ser realizada por diferentes métodos, como sol–gel, redução química, deposição química em fase vapor, microemulsão, redução eletroquímica e síntese em poliol (tabela 2). O processo envolve três componentes principais: sais de prata como precursores ($AgNO_3$, $AgClO_4$, $AgBF_4$), agentes redutores (citrato de sódio, ácido ascórbico, $NaBH_4$, DMF, hidrogênio, entre outros) e agentes estabilizantes (PVP, PVA, PEG, quitina, etc.)

(DHAKA *et al*., 2023). É importante ressaltar que muito dos métodos utilizados na síntese de AgNP são adaptações de métodos de síntese de nanopartículas de ouro.

Tabela 2 – Métodos químicos de obtenção de AgNP

Método	Redutor	Estabilizante	Tamanho	Referência
Método de Turkevich modificado	Ascorbato dissódico	Citrato trissódico	20-50 nm	BALLARINI *et al*., 2010.
Método de Brust–Schiffrin	Borohidreto de sódio	Tióis (ex.: 1-dodecanotiol)	1-6 nm	GOULET, P. J. G.; LENNOX, R. B., 2010.
Método de Tollens modificado	Glicose	Glicose	20–50 nm	ABUDALO *et al.*, 2019.

O processo envolve três componentes principais: sais de prata como precursores ($AgNO_3$, $AgClO_4$, $AgBF_4$), agentes redutores (citrato de sódio, ácido ascórbico, $NaBH_4$, DMF, hidrogênio, entre outros) e agentes estabilizantes (PVP, PVA, PEG, quitina, etc.) (DHAKA *et al*., 2023).

O agente redutor converte os íons Ag^+ em prata metálica, que forma núcleos e posteriormente cresce em nanopartículas. Os agentes estabilizantes evitam a agregação e controlam o crescimento, permitindo obter partículas menores e de formato esférico. Condições como pH, tempo de reação e escolha dos reagentes influenciam diretamente a nucleação, o crescimento, a morfologia e a uniformidade das AgNPs produzidas (DHAKA *et al*., 2023).

Os métodos físicos de síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) incluem técnicas como ablação a laser, litografia, moagem mecânica, arco de plasma, pirólise por spray, deposição por sputtering e condensação de vapor. Esses processos utilizam diferentes formas de energia (mecânica, térmica, elétrica ou luminosa) para reduzir a prata em escala nanométrica. Entre eles, a condensação de vapor em fornos tubulares é o mais comum. Para evitar a re-agregação e garantir estabilidade coloidal, agentes estabilizantes como PVP são frequentemente empregados. A ablação a laser é uma das técnicas mais utilizadas, produzindo AgNPs de alta pureza por meio da

formação de plasma de prata seguido de condensação em meio líquido. Já a pirólise por spray permite obter AgNPs monodispersas sem agentes redutores, atomizando soluções de $AgNO_3$ (com PVA ou dextrana) em reatores aquecidos, com fluxo de nitrogênio para prevenir oxidação (DHAKA *et al*., 2023).

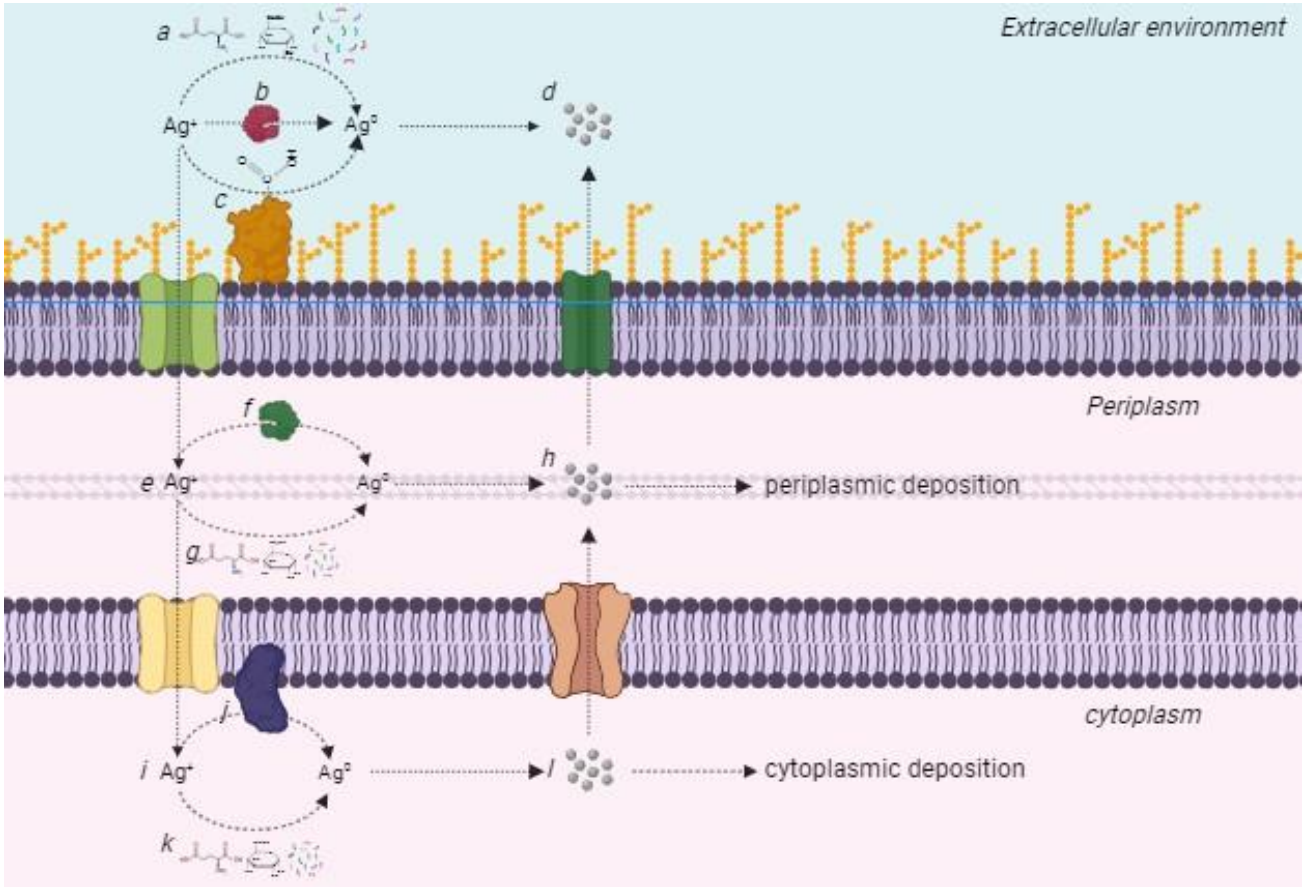
Os métodos físico-químicos tradicionais de síntese de nanopartículas (NPs) são caros, demandam muita energia e utilizam substâncias tóxicas, representando riscos à saúde e ao meio ambiente (DHAKA *et al*., 2023). Considerando a ampla aplicação das NPs na área biomédica, especialmente como antimicrobianos, cresce a necessidade de rotas mais sustentáveis e seguras. Nesse contexto, a atenção tem se voltado para a química verde e a síntese biológica, alternativas não tóxicas, economicamente viáveis e baseadas em agentes naturais redutores que permitem a produção de NPs estáveis (DHAKA *et al*., 2023).

A síntese verde tem se destacado como alternativa promissora aos métodos físico-químicos tradicionais para produção de nanopartículas. As nanopartículas de prata (AgNPs) obtidas por abordagens biológicas vêm atraindo crescente interesse por reduzirem a formação de subprodutos tóxicos (DHAKA *et al*., 2023). Extratos vegetais e microrganismos fornecem uma ampla gama de biomoléculas como polissacarídeos, polifenóis, vitaminas, alcaloides, terpenoides, taninos e ácidos orgânicos que atuam simultaneamente como agentes redutores e estabilizantes. Esses metabólitos naturais não apenas convertem íons Ag^+ em AgNPs metálicas, mas também promovem seu recobrimento e estabilização, evitando a agregação e reduzindo a toxicidade, tornando a biossíntese uma estratégia sustentável e ecologicamente correta (DHAKA *et al*., 2023). Além disso, o emprego de complexos biológicos como fitocomplexos, extratos vegetais, fúngicos e bacterianos possibilitam a funcionalização das nanopartículas, adicionando propriedades biológicas além da atividade antibacteriana.

A síntese bacteriogênica pode ser realizada a partir de diversas abordagens, como utilizando a biomassa bacteriana, o lisado ou o sobrenadante livre de células contendo metabólitos e subprodutos (figura 36). O método utilizando a biomassa, pura ou em uma suspensão pode ser utilizado para uma síntese intracelular, com captação dos íons prata e sua redução, ou para síntese extracelular, com interação dos íons prata com estruturas e macromolécula da superfície bacteriana.

Figura 36 – Possível mecanismo de síntese de AgNP por métodos

bacteriogênicos. Os íons Ag+ são reduzidos por a) aminoácidos, açúcares e peptídeos, b) pela ação catalítica em enzimas na superfície ou c) pela interação com grupamentos carboxílicos de proteínas superficiais, sendo convertido a Ag0 que pode se aglomerar e d) depositar extracelularmente; Os íons Ag+ podem ser e) internalizados para o periplasma, sendo reduzidos a Ag0 pela f) atividade catalítica de enzimas ou pela g) interação com aminoácidos, açúcares e peptídeos, podendo se aglomerar e h) serem depositados no periplasma; os íons Ag+ podem ser i) internalizados para o citosol, sendo j) reduzidos por enzimas citosólicas ou ligadas à superfície interna da membrana citoplasmática ou k) reduzidos a Ag0 pela interação com macromoléculas. Os íons Ag0 podem se aglomerar e l) se depositar citoplasmaticamente.



Fonte: Montini, V. H. (2024)

No método extracelular, a síntese ocorre no ambiente extracelular, passíveis de recuperação via centrifugação.

No método extracelular, moléculas orgânicas como açúcares, aminoácidos (em especial arginina, aspartato, cisteína, glutamato, lisina e metionina), peptídeos contendo pontes dissulfeto, proteínas e enzimas auxiliam no processo de redução dos

íons de prata à AgNP (MONTINI, V. H., 2024). A interação eletrostática entre o grupamento carboxílico de proteínas superficiais e íons Ag^+ levam à precipitação da prata sobre a superfície celular, sua nucleação metálica e acúmulo (MONTINI, V. H., 2024).

Na síntese intracelular, sais de prata são acrescentados a uma cultura bacteriana. Os íons Ag^+ são reduzidos no citosol ou periplasma, acumulando-se dentro das células, o que torna necessário técnicas de lise (ultrasonicação, autoclavação ou uso de detergentes para lise) para recuperação das AgNP (MONTINI, V. H., 2024).

Os íons captados podem se complexar às proteínas, como metaloproteínas contendo grupamentos S-S e S-H, ou serem reduzidos por nitrato redutases, nitrogenases, hidrogenases, amilases, lacases, peroxidases, lisozimas, glutationas e tioredoxinas (MONTINI, V. H., 2024). Os íons Ag^+ podem interagir com aminoácidos cistina, histidina, metionina, tirosina e triptofano presentes no citosol bacteriano ou com peptídeos superficiais (DE MATOS; COURROL, 2017; SHANKAR; RHIM, 2015). Utilizando análises por FTIR, Shankar e Rhim (2015) observaram que os aminoácidos, além de atuarem como redutores, também atuam como moléculas estabilizadoras das AgNP formadas.

Além disso, a polarizabilidade dos aminoácidos, relacionada à massa molar e ao tamanho da nuvem eletrônica, influencia diretamente a formação das nanopartículas. Aminoácidos com alta polarizabilidade, como triptofano, tirosina e histidina, mostraram-se mais eficazes na formação de AgNPs. Metionina e cistina, embora com polarizabilidade intermediária, apresentam enxofre em suas estruturas, elemento com alta afinidade por prata, o que também favorece a síntese. No entanto, nem todos os aminoácidos polarizáveis são eficazes: arginina e fenilalanina, por exemplo, não resultaram em soluções estáveis, mesmo com alteração de cor sob irradiação. Esses dados reforçam que tanto propriedades eletrônicas quanto características estruturais específicas dos aminoácidos são determinantes na síntese de AgNPs (DE MATOS; COURROL, 2017).

Moléculas orgânicas redox-ativas como a antraquinona-2,6-disulfonato (AQDS), nicotinamina adenina dinucleotídeo (NAD+) e ácidos húmicos também são capazes de reduzir o íon Ag^+, mas apenas em suas formas reduzidas (DONG *et al.*, 2021). Outras moléculas redutoras incluem açúcares como a glicose (KUMAR *et al*., 2018) e o sal citrato de sódio (CHIRIAC *et al*., 2025), por exemplo.

2.4.2.2 Caracterização de nanopartículas de prata

2.4.2.2.1 Espalhamento dinâmico da luz

Em um instrumento de espalhamento de luz dinâmico, quando a luz laser encontra macromoléculas, essa luz incidente se espalha em todas as direções e sua intensidade do espalhamento é registrada por um detector. Essa dispersão ocorre em função do tamanho e da forma das macromoléculas. Quando as flutuações de intensidade da luz dispersa (fenômeno ocasionado pelo movimento browniano das macromoléculas em solução) forem analisadas, poderá ser obtido o coeficiente de difusão (D_T), que está relacionado ao tamanho hidrodinâmico das macromoléculas (STETEFELD, J.; MCKENNA, S. A.; PATEL, T. R., 2016).

A dispersão dinâmica de luz (dynamic light scattering; DLS), também conhecida como espectroscopia de correlação de fótons ou dispersão de luz quase-elástica, é uma técnica que possibilita a medição, principalmente, do movimento browniano das macromoléculas em solução que está associado ao tamanho (ou D_T) das partículas, a temperatura e a viscosidade do solvente (STETEFELD, J.; MCKENNA, S. A.; PATEL, T. R., 2016).

Durante uma análise de um intervalo de tempo, partículas grandes se difundem lentamente, o que acaba resultando em posições semelhantes em diferentes tempos, entretanto, partículas menores se movem com mais rapidamente e, portanto, não adotam uma posição específica (STETEFELD, J.; MCKENNA, S. A.; PATEL, T. R., 2016).

O tamanho hidrodinâmico de uma partícula submetida ao DLS é determinado pela equação de Stokes–Einstein a partir do coeficiente de difusão translacional (D_T):

$$D_{\mathrm{t}} = \frac{K_B T}{6\pi\eta R_h}$$

Nessa equação, é obtido o raio hidrodinâmico partindo da teoria de que a partícula se trata de uma esfera hipotética. Nessa equação, kB é o coeficiente de Boltzmann (1.380 × 10−23 kg.m2.s−2.K−1), T é a temperatura absoluta e η é a viscosidade do meio (STETEFELD, J.; MCKENNA, S. A.; PATEL, T. R., 2016).

A faixa de distribuição de tamanho das partículas é expressa pelo índice de polidispersidade (PDI), que é um resultado da função de autocorrelação. O termo

polidispersão, ou dispersão, refere-se ao grau de não-uniformidade na distribuição de tamanho de nanopartículas (DANAEI et al., 2018; KUMAR, A.; DIXIT, C. K., 2017). Os valores de PDI variam entre 0 e 1, sendo que 1 representa uma população altamente heterogênea e 0 representa uma população de nanopartículas altamente homogênea. Essa técnica também permite a análise de partículas não esféricas, como bastonetes, utilizando DLS multiângulo (KUMAR, A.; DIXIT, C. K., 2017).

2.4.2.2.2 Espalhamento eletroforético da luz

A medição do potencial zeta é uma técnica amplamente empregada para a determinação da carga superficial de nanopartículas dispersas em soluções coloidais. As nanopartículas apresentam cargas em sua superfície, as quais promovem a atração de uma fina camada de contra-íons, formando a denominada camada de Stern (KUMAR; DIXIT, 2017). Esse arranjo dá origem à dupla camada elétrica (electrical double layer, EDL), que acompanha a nanopartícula durante sua difusão no meio líquido.

Sobre a camada de Stern encontra-se uma segunda camada composta por contra-íons, que se estende até o plano de deslizamento. O potencial elétrico medido nesse plano, conhecido como potencial zeta (ζ), corresponde ao potencial que separa a fina camada líquida aderida à superfície sólida em movimento do restante do meio dispersante (JARZYNSKA et al., 2025). Os valores de potencial zeta geralmente situam-se entre −100 e +100 mV e sua magnitude está diretamente relacionada à estabilidade coloidal da suspensão, sendo um importante indicador da tendência à agregação das nanopartículas (KUMAR; DIXIT, 2017).

A determinação do potencial zeta é comumente realizada por meio da técnica de espalhamento eletroforético da luz (*Electrophoretic Light Scattering*; ELS), que mede o deslocamento Doppler da luz laser espalhada por partículas carregadas quando estas migram sob a aplicação de um campo elétrico. A partir desses dados, obtém-se a mobilidade eletroforética das partículas, permitindo o cálculo do potencial zeta e da carga efetiva com base em teorias eletrocinéticas (GEORGE et al., 2024).

A mobilidade eletroforética, relação entre a velocidade da partícula e o campo elétrico aplicado, é convertida em potencial zeta (ζ), a partir da relação Helmholtz-Smoluchowski:

$$\zeta = \frac{4\pi\eta v}{\varepsilon_r \varepsilon_0}$$

Onde ζ é o potencial zeta, η é a viscosidade do meio de dispersão, v é a mobilidade eletroforética, ε_r é a constante dielétrica e ε_0 é a permissividade de ar (8,854x10-12 C2 J-1m-1).

2.4.2.2.3 Espectroscopia ultravioleta-visível

A espectroscopia UV-Vis é uma técnica rápida, sensível e amplamente usada para caracterizar AgNP, fornecendo informações quantitativas e qualitativas. A intensa extinção da luz por nanopartículas metálicas está ligada ao SPR (*Surface Plasmon Resonance)*. A ressonância plasmônica de superfície ocorrida quando elétrons de condução dentro de uma partícula oscilam coletivamente, permitindo dispersão e absorção de luz em frequências específicas (WILEY et al., 2006). Plasmons são elétrons livres que oscilam coletivamente quando interagem com a luz. Quando excitadas pela luz, as cargas dos plasmons propagam como uma onda eletromagnética ao longo da superfície dessas partículas. As cargas oscilantes podem ser confinadas e amplificadas na superfície, sendo esse fenômeno a ressonância plasmônica de superfície localizada (*Localized Surface Plasmon Resonance*; LSPR) (WILEY et al., 2006). Esse efeito ocorre principalmente em nanopartículas.

A extinção inclui tanto absorção quanto espalhamento da luz. O LSPR depende do tamanho, forma e composição das NPs, influenciando a largura da banda de absorção, o deslocamento do comprimento de onda ressonante e o surgimento de bandas adicionais. Em nanopartículas esféricas de prata, a banda LSPR ocorre perto de 400 nm, enquanto em nanoplacas triangulares ocorre entre 500 e 1000 nm (PRYSHCHEPA, O.; POMASTOWSKI, P.; BUSZEWSKI, B., 2020).

Através da espectroscopia de UV-VIS é possível determinar a energia de banda proibida através do gráfico de Tauc, construído através da equação:

$$(\alpha h\nu)^{1/n} = A(h\nu - E_g)$$

Onde α é o coeficiente de absorção, hv é a energia do fóton, A é uma constante de proporcionalidade, Eg é a energia da lacuna de banda, n é um expoente que depende da natureza da transição eletrônica, sendo n = 2 para transições diretas e n

= 1/2: para transições indiretas.

A determinação da banda de energia proibida é um fator importante quando se trata de associação com a bioatividade das AgNP. Nanopartículas com menor energia de banda proibida aumentam a produção de EROs com dissipação de energia relativamente menor nas proximidades da interface do que a partícula com maior energia de banda proibida (NAYAK et al., 2018). Esse fenômeno é importante tanto para a atividade antibacteriana quanto toxicidade das AgNP.

2.4.2.2.4 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

A caracterização do *coating* pode ser realizado principalmente pela técnica de espectroscopia por transformada de Fourier, que identifica estruturas moleculares e ligações químicas em nanopartículas sintetizadas por via química e biológica, especialmente em amostras complexas (ALLEND, S. O. et al., 2022; DE MATOS, R. A.; COURROL, L. C, 2017; DEONAS *et al*. 2024; PASIECZNA-PATKOWSKA, S.; CICHY, M.; FLIEGER, J., 2025).

O FTIR se utiliza dos modos vibracionais das moléculas, que possuem momento dipolar permanente. O FTIR é preferível em comparação ao Raman devido a possibilidade de indução de fluorescência e danificação de amostras biológicas sensíveis pela excitação por laser de alta energia, diferente do FTIR que usa de comprimentos de onda mais longos e menos prejudiciais (PASIECZNA-PATKOWSKA, S.; CICHY, M.; FLIEGER, J., 2025).

O FTIR pode ser aplicado para identificação de grupos funcionais em NP, auxiliando na compreensão da liberação de fármacos, monitoramento do carregamento e sua liberação, interação NP-tecidos ou células biológicas e controle de qualidade e validação de processos (PASIECZNA-PATKOWSKA, S.; CICHY, M.; FLIEGER, J., 2025).

A FTIR permite confirmar a identidade química das nanopartículas, identificar grupos funcionais envolvidos na redução e no recobrimento, e avaliar biomoléculas responsáveis pela estabilização, além de otimizar as condições de síntese ao correlacionar parâmetros reacionais com características como tamanho e estabilidade (PASIECZNA-PATKOWSKA, S.; CICHY, M.; FLIEGER, J., 2025).

2.4.2.2.5 Espectroscopia de absorção atômica

Trata-se de uma técnica analítica destinada à quantificação de elementos químicos, em especial os metais, em uma amostra, baseada na absorção seletiva de radiação eletromagnética por átomos livres do elemento de interesse. No processo de espectrometria de absorção atômica, os átomos no estado fundamental absorvem radiação nas regiões do ultravioleta e do visível, proveniente de uma fonte monocromática específica, promovendo transições eletrônicas para níveis mais elevados de energia. Cada elemento apresenta comprimentos de onda característicos, determinados por sua configuração eletrônica, o que confere elevada seletividade à técnica (GARCÍA, R.; BÁEZ, A. P., 2011).

Todo espectrômetro possui os mesmos componentes e que incluem a fonte, um cortador (*chopper*), a amostra, um monocromador e um detector que transfere a informação para um computador (GARCÍA, R.; BÁEZ, A. P., 2011).

A quantidade de radiação absorvida pela amostra é mensurada na forma de absorbância, a qual é diretamente proporcional à concentração do analito, conforme descrito pela lei de Beer–Lambert.

A técnica envolve etapas de desolvatação, em que o solvente é evaporado, vaporização, na qual a amostra é convertida em fase gasosa, e atomização, processo em que os compostos gasosos são dissociados em átomos livres aptos à absorção da radiação incidente (GARCÍA, R.; BÁEZ, A. P., 2011).

$$A = \varepsilon c l$$

Onde A é a absorbância, ε é a absortividade ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$), c a concentração (mol/L).

A atomização pode ser feita por três pocessos diferentes: a espectrometria de absorção atômica por chama (*flame atomic absorption spectrometry*; FAAS), espectrometria de absorção atômica por atomização eletrotermal (*electrotheramal atomization atomic absorption spectrometr*y; ETAAS) e espectrometria de absorção atômica por geração de vapor químico (*chemical vapor generation atomic spectrometry*; CVG-AAS) (FERREIRA *et al.,* 2018)

Outras técnicas de determinação de concentração de metais incluem Espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (*inductively*

coupled plasma optical emission spectrometry; ICP-OES) e espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (*Inductively coupled plasma with mass spectrophotometry*; ICP-MS) (FERREIRA *et al.,* 2018)

Comparativamente a essas técnicas, o espectrômetro FAAS é um equipamento mais barato do que o espectrômetro ICP-OES e os custos de consumo de gases para utilizar o FAAS são menores do que para o ICP-OES, mesmo quando se utiliza óxido nitroso, que é mais caro que o acetileno (FERREIRA *et al.,* 2018).

Entretanto, existe a diferença nos limites de detecção de elementos (tabela 3):

Tabela 3 – Limites de detecção (em (mg L^{-1}) de técnicas espectrométricas para alguns elementos.

Elemento	FAAS (mg L^{-1})	ETAAS (mg L^{-1})	ICP-OES (mg L^{-1})	ICP-MS (mg L^{-1})
Ag	3	0.02	0.2	0.003
Al	30	0.2	0.2	0.06
Ba	20	0.5	0.01	0.002
Ca	1	0.5	0.0001	2
Cd	1	0.02	0.07	0.003
Cr	4	0.06	0.08	0.02
Cu	2	0.1	0.04	0.003
Fe	6	0.5	0.09	0.45
K	2	0.1	75	1
Mg	0.2	0.004	0.003	0.15
Mn	2	0.02	0.01	0.6
Mo	5	1	0.2	0.003
Na	0.2	0.04	0.1	0.05
Ni	3	1	0.2	0.005
Pb	5	0.2	1	0.007
Sn	15	10	1	0.02
V	25	2	8	0.005

Elemento	FAAS (mg L^{-1})	ETAAS (mg L^{-1})	ICP-OES (mg L^{-1})	ICP-MS (mg L^{-1})
Zn	1	0.01	0.1	0.008

Fonte: Adaptado de FERREIRA et al. (2018)

O preparo das amostras é uma etapa crítica e garante a eliminação de material orgânico e a recuperação quantitativa do analito em solução. O preparo pode ser realizado pelo método seco e úmido (GARCÍA, R.; BÁEZ, A. P., 2011):

(i) Decomposição seca por incineração onde a amostra é queimada em altas temperaturas (450-550 ºC). Nesse método é possível calcinar grandes quantidades de amostras e posteriormente dissolvê-las em um volume pequena de ácido, geralmente ácido nítrico;

(ii) Digestão úmida, onde é realizada a oxidação ácida ou por uma mistura de ácidos auxiliadas por aquecimento.

2.4.2.2.6 Difração de raios-X

Uma das principais, e mais importantes, na caracterização de nanopartículas é a difração de raios X (XRD) que fornece informações sobre a estrutura cristalina, a natureza da fase, os parâmetros da rede cristalina e o tamanho do grão cristalino. Essa técnica permite a análise elementar de uma amostra seca, comprovando a presença ou ausência de determinados metais presentes (MOURDIKOUDIS, S.; PALLARES, R. M.; THANH, N. T. K., 2018).

O tamanho médio do cristalito pode ser estimado a partir dos dados de difração de raios X utilizando a equação de Scherrer, considerando o alargamento do pico de difração (FWHM), preferencialmente do pico mais intenso, devidamente corrigido pelo alargamento instrumental (MOURDIKOUDIS, S.; PALLARES, R. M.; THANH, N. T. K., 2018). A equação de Scherrer é composta por K (fator de forma, geralmente 0,9), λ é o comprimento de onda dos raios X, βcos é o FWHM em radianos e θ é o ângulo de Bragg:

$$D=K\lambda/(\beta\cos\theta)$$

A equação de Scherrer leva em conta apenas a contribuição do tamanho dos cristalitos para o alargamento dos picos de DRX, não permitindo avaliar as microestruturas da rede cristalina, como a deformação intrínseca (microdeformação),

que surge em nanocristais em decorrência de defeitos pontuais, contornos de grão, junções triplas e falhas de empilhamento (NATH, D.; SINGH, F.; DAS, R., 2020)

Além da equação de Scherrer, o tamanho do cristalito pode ser obtido pelas técnicas de Williamson-Hall e Strain Spot Plot, que também são utilizados para determinação das microdeformações dos cristalitos. Quanto mais próximo de 0, menos microdeformações o cristal exibe (OHIRA, T.; YAMAMOTO, O., 2011).

O método de Williamson-Hall descreve o alargamento dos picos como dependente do ângulo de difração (2θ), considerando que esse efeito resulta da combinação entre o alargamento associado ao tamanho dos cristalitos e aquele provocado pela deformação da rede cristalina (NATH, D.; SINGH, F.; DAS, R., 2020).

A importância do estudo das microdeformações está em seu papel na atividade antibacteriana. Cristalitos menores podem exibir maiores microdeformações, o que aumenta sua área superficial específica e consequentemente maior eluição de íons, gerando mais espécies reativas de oxigênio (OHIRA, T.; YAMAMOTO, O., 2011).

A natureza elementar e a composição do cristalito podem ser determinadas comparando a posição e intensidade dos picos com padrões de referência disponibilizados pelo banco de dados do International Centre for Diffraction Data (ICDD) (MOURDIKOUDIS, S.; PALLARES, R. M.; THANH, N. T. K., 2018).

A desvantagem para a técnica é na aplicação em materiais amorfos, gerando picos muito largos em partículas com tamanho inferior a 3 nm (MOURDIKOUDIS, S.; PALLARES, R. M.; THANH, N. T. K., 2018).

2.4.2.3 Atividade antibacteriana

As AgNP são conhecidas por serem potentes antimicrobianos com atividade de amplo espectro, com CIM e CBM variando de <19,53-78,12 µM e <19,53-156,25 µM, respectivamente (DEONAS *et al*., 2024). Contra *A. baumannii*, esses valores variam de 0,007 a 0,03 µg/mL (ALLEND *et al*., 2022).

A prata possui carga positiva e tende a interagir com biomoléculas carregadas negativamente, como fósforo e enxofre, presentes na membrana celular, em proteínas e nas bases do DNA (MORE *et al*., 2023). As nanopartículas de prata danificam a parede e a membrana celular bacteriana, promovendo alterações morfológicas. Diversos estudos demonstraram sua eficácia contra patógenos Gram-positivos e Gram-negativos (MORE *et al*., 2023). Entre as características essenciais dessas

nanopartículas estão o tamanho, que deve variar entre 1 e 100 nm, a elevada razão área superficial/volume e a forma, fatores que exercem papel crucial (MORE *et al*., 2023). O tamanho, em especial, influencia diretamente a atividade antibacteriana, sendo que nanopartículas menores apresentam maior capacidade de penetração nas bactérias (MORE *et al*., 2023).

Em termos mecanísticos, um dos mecanismos de morte é pela liberação do íon Ag^{+}. Concentrações micromolares inicialmente aumentam a respiração bacteriana por desacoplamento da cadeia respiratória, mas logo causa sua completa inibição. O principal alvo está entre os citocromos b e a_2, seguido por inibição nas desidrogenases de NADH e succinato (HOLT; BARD, 2005).

Em seus experimentos, Kim e Lee (2021) observaram que as AgNP aumentam a produção intracelular de H_2O_2, causando estresse oxidativo que esgota a glutationa e inativa a glutationa peroxidase, comprometendo o sistema antioxidante. Esse processo leva a danos oxidativos no DNA, incluindo fragmentação, e ativa a resposta SOS. A toxicidade é confirmada pela atenuação do efeito com piruvato de sódio, que quela H2O2. O gene *dinF* atua de forma protetora nesse contexto, pois sua ausência intensifica o dano ao DNA e a morte celular. Portanto, o mecanismo de morte em *E. coli* induzido por AgNPs está ligado ao estresse oxidativo por H_2O_2, à fragmentação do DNA e à resposta SOS mediada por *dinF*.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Sintetizar AgCl-NP, caracterizá-las e avaliar sua atividade antibacteriana frente a uma cepa de referência de *A. baumannii* e isolados patogênicos multirresistentes, bem como caracterizar a atividade citotóxica dessa nanoestrutura frente às células eucarióticas.

3.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar AgCl-NP;
- Caracterizar a nanoestrutura;
- Determinar as concentrações inibitórias e bactericidas mínimas das AgCl-NP frente a isolados de *A. baumannii*;
- Avaliar a cinética de ação;
- Determinar as concentrações citotóxicas das AgCl-NP;

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE CLORETO DE PRATA

As AgCl-NP foram sintetizadas de acordo com o documento BR 10 2024 013609 8. Brevemente, uma solução de nitrato de prata foi misturada a uma solução contendo sobrenadante livre de células (SLC) de *E. coli* ATCC 25922 obtido por fermentação líquida submersa. Posteriormente, essa solução foi irradia por luz ultravioleta C utilizando uma lâmpada UV germicida (Esco) por 1 h em temperatura ambiente. Após o período de síntese, a dispersão de AgCl-NP foi congelada em -20 ºC, com posterior congelamento em -80 ºC e liofilizada em liofilizador Alpha 1-2 LD plus por 48 h. O liofilizado foi pesado e posteriormente resuspendida em água ultrapura estéril em concentração final de 1 mg/mL.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE CLORETO DE PRATA

4.2.1 Espalhamento dinâmico e eletroforético da luz

O diâmetro hidrodinâmico foi calculado a partir do coeficiente de difusão translacional obtido por espalhamento dinâmico de luz (DLS), aplicando a equação de Stokes–Einstein, enquanto o potencial Zeta foi determinado a partir da mobilidade eletroforética por meio da equação de Helmholtz–Smoluchowski, utilizando o equipamento Zetasizer Pro Blue (Malvern Panalytical).

4.2.2 Microscopia eletrônica de varredura

Cerca de µL foram depositados sobre e secos ao ar livre. Posteriormente, amostras foram submetidas a microscópio eletrônico de varredura MEV/FEG APREO 2 (Thermo Fischer) utilizando técnica de elétrons secundários e espectroscopia de energia dispersiva.

4.2.3 Microscopia eletrônica de transmissão

O tamanho e forma das AgCl-NP foram analisadas através da técnica de microscopia eletrônica de transmissão utilizando microscópio eletrônico JEM 1400

(JEOL) da Universidade Estadual de Maringá (UEM). Para análise, 10 µL da suspensão de AgCl-NP foram depositados sobre grades de carbono revestidas com resina e secas *overnight* a temperatura ambiente. Imagens obtidas foram analisadas utilizando software ImageJ 1.54p.

4.2.4 Difração de Raios-X

As medidas de Difração de Raios X (XRD) foram realizadas no Laboratório de Difração de Raios X do LARX (Laboratório Multiusuário da Pró Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação) da UEL, em um difratômetro da marca PANalytical modelo X´Pert PRO MPD, com radiação CuKα, utilizando a técnica conhecida como θ-2θ. A tensão e a corrente usadas foram, respectivamente, 40 KV e 30 mA. O intervalo de varredura 2θ utilizado foi de 5 a 80 º com passo angular de 0,0394 º. O tempo de contagem por ponto foi de 97,92 s. Para poder desprezar possíveis orientações preferenciais no processo de preparação das amostras e homogeneizar a medida na superfície das amostras, estas foram giradas ciclicamente durante o processo de medida com um período de 1 segundo.

A influência instrumental foi eliminada através da medição de um padrão de silício para correção.

4.2.5 Espectrometria de absorção atômica

A concentração de prata iônica foi quantificada utilizando a técnica de espectroscopia de absorção atômica por chama utilizando espectrômetro AA-7000 (Shimadzu), equipado com lâmpada de cátodo operando em corrente de 10mA, com comprimento de onda a 328,1 nm. A chama utilizada no equipamento consistiu em uma mistura de acetileno/ar, operando em taxa de fluxo de 2.4 L min^{-1} e 15.0 L min^{-1}. A concentração de prata elementar foi determinada utilizando regressão linear utilizando soluções conhecidas de prata de 0-10 mg/L de $AgNO_3$ dissolvidas em água ultrapura.

4.2.6 Espectrometria no infravermelho por transformada de Fourier

A transmitância do SLC e das AgCl-NP foi quantificada em espectrofotômetro

Infravermelho com Transformada de Fourier IR Prestige-21 (Shimadzu) utilizando pastilhas de KBr, com resolução de 4 cm^{-1} e 32 scans, com comprimento de onda 400 a 4000 cm^{-1}.

4.2.7 Espectrometria no ultravioleta-visível

A ressonância plasmônica e a energia de banda proibida foram determinadas a partir da técnica de espectroscopia ultravioleta-visível utilizando espectrofotômetro UV-2600 (Shimadzu), com comprimento de onda de 190-1100nm, no Laboratório de Espectroscopia – ESPEC, pertencente ao Central Multiusuária de Laboratórios de Pesquisa da UEL. Determinação da energia de banda proibida foi realizada utilizando a equação do gráfico de Tauc: $(\alpha h\nu)^{1/n} = A(h\nu - Eg)$, onde α é o coeficiente de absorção, hv é a energia do fóton, A é uma constante de proporcionalidade, Eg é a energia da lacuna de banda, n é um expoente que depende da natureza da transição eletrônica, sendo n = 2 para transições diretas e n = 1/2: para transições indiretas.

4.3 CEPAS E ISOLADOS

Foram utilizadas 8 isolados de *A. baumannii* gentilmente cedidas pelo Hospital Universitário de Londrina – PR e uma cepa comercial (tabela 4).

Tabela 4 – Cepa e isolados usados nesse trabalho.

Cepa	Sítio	Ano de isolamento	Fenótipo
A. baumannii ATCC 19606	Cepa de referência	-	Sensível
A. baumannii Ab183	Sangue	2020	CRAB, XDR e PolR
A. baumannii Ab289	Sangue	2023	CRAB, XDR e PolR
A. baumannii Ab565	Sangue	2022	CRAB e XDR
A. baumannii Ab576	Urina	2022	CRAB e XDR
A. baumannii	Sangue	2022	CRAB e XDR

Ab791			
A. baumannii Ab846	Sangue	2021	PDR
A. baumannii Ab860	Sangue	2023	CRAB, XDR e PolR

CRAB – Carbapenem-resistente *A. baumannii*

PDR – Pan-droga resistente

PolR – Polimixina-resistente

XDR – Extensivamente droga-resistente

4.4 MICRODILUIÇÃO SERIADA EM CALDO

A cepa e os isolados foram submetidos ao ensaio de microdiluição seriada em caldo para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e bactericida mínima (CBM) da AgCl-NP utilizando metodologia descrita pelos documentos M07-A (CLSI, 2012) e M26 (NCCLS, 1999). Brevemente, um inóculo final de 10^6 UFC/mL de *A. baumannii* preparado em caldo Mueller-Hinton foi misturado em placas de poliestireno de 96 poços, em proporção de 1:1, com AgCl-NP previamente diluídas em caldo Mueller-Hinton. Após a mistura, as placas foram incubadas *overnight* a 37 ºC para determinação da CIM. Para determinação da CBM, foram subcultivados 10 µL dos poços límpidos em ágar Mueller-Hinton em triplicata. As placas foram incubadas *overnight* a 37 ºC e as UFC foram contadas. A razão CBM:CIM foi utilizada para determinar se o composto foi bactericida (≤4) ou bacteriostático (4-32) contra os isolados (MAKADE *et al.*, 2024)

4.5 ENSAIO TIME-KILL

A cinética de ação das AgCl-NP foi avaliada através de ensaio de *time-kill* utilizando metodologia descrita por NCCLS (1999). Brevemente, um inóculo de 10^5 UFC/mL em caldo Mueller-Hinton foi exposto às AgCl-NP em CBM por 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12 e 24 h a 37 ºC. Após cada tempo, 10 µL foram subcultivados, em triplicata, em ágar Mueller-Hinton, incubados *overnight* a 37 ºC e, posteriormente, as UFC foram quantificadas para montagem de uma curva de cinética de crescimento e morte utilizando software GraphPad 9. Em função do fenótipo de resistência, para esse ensaio foi selecionada a cepa *A. baumannii* ATCC 19606 e os isolados *A. baumannii*

Ab846 e *A. baumannii* Ab860. Dados da curva foram utilizados para calcular a área sob curva, também utilizando GraphPad 9.

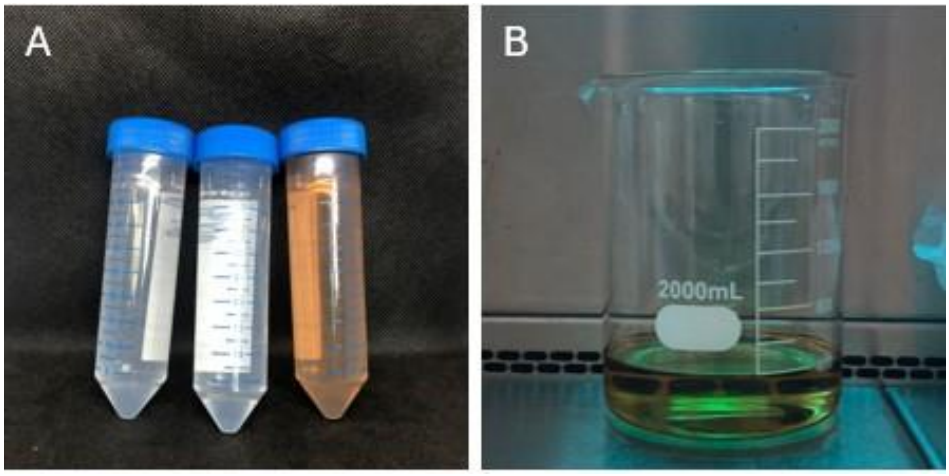
4.6 ENSAIO DE HEMÓLISE

O ensaio de hemólise foi realizado de acordo com Scandorieiro *et al.* (2016), com aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CAAE 47661115.0.0000.5231, nº 1.268.019 – UEL). Aproximadamente 8 mL de sangue humano foi coletado com tubo heparinizado. Posteriormente 1 mL foi transferido para microtubo estéril e centrifugado a 5.000 r.p.m, por 5 min a 4 ºC. O plasma foi descartado e 60 µL de pellet de erutrócitos foram coletados e adicionados em 940 µL de PBS a 0,1M. Posteriormente, a suspensão a 6% foi misturada em proporção de 1:1 em microplacas de poliestireno com PBS contendo a AgCl-NP. Controle negativo foi realizado com PBS sem a AgCl-NP e negativo contendo PBS e triton-X a 1%. Posteriormente as placas foram incubadas por 3 horas a 37 ºC e, posteriormente 100 µL do sobrenadante foi analisado em espectrofotômetro no comprimento de onda de 570 nm para avaliar a liberação de hemoglobina.

5 RESULTADOS

Após o período padronizado, a solução contendo o sobrenadante livre de células e o $AgNO_3$ apresentaram alteração de cor para um castanho claro, indicando a formação de prata coloidal (figura 37). Essa alteração de cor pode ser observada em estudos utilizando extratos de plantas (DEONAS *et al*., 2024), células ou metabólitos bacterianos (YUSOF *et al*., 2020), fungos (MALIK *et al*., 2024) e sínteses químicas (CHIRIAC *et al*., 2025), indicando formação de AgNP. Embora AgCl seja um sólido insolúvel branco, a explicação para sua coloração acastanhada pode ser uma mistura Ag/AgCl, conferindo a cor característica. O fenômeno óptico da coloração se dá pela absorção de luz azul por AgNP menores que 40 nm e a emissão combinada dos comprimentos vermelho e verde, resultando em coloração amarelada (WILEY *et al*., 2006).

Figura 37 - A) da esquerda para a direita, água ultrapura, mistura de $AgNO_3$ e sobrenadante livre de células anteriormente à radiação e mistura pós-irradiação por 1 h; B) Mistura após 1 hora de irradiação.

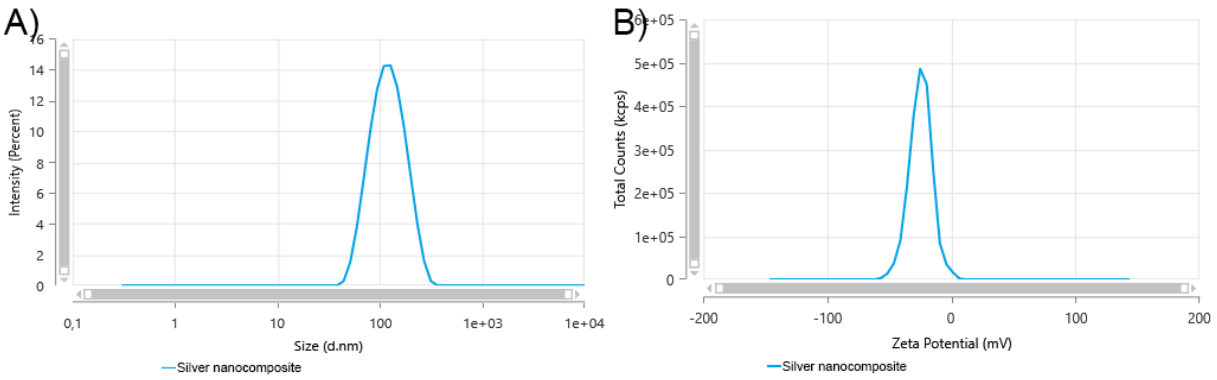


Fonte: o próprio autor (2025)

Análises de DLS e ELS revelaram que o nanocompósito apresenta diâmetro hidrodinâmico médio de 101,754 nm, índice de polidispersão (PDI) de 0,205 (figura 1a) e potencial Zeta de −24,686 mV (gráfico 1b). Esses resultados confirmam sua natureza nanométrica e indicam adequada estabilidade coloidal.

Gráfico 1 – A) distribuição de tamanho por intensidade; B) Potencial zeta por

contagem total.



Fonte: o próprio autor (2025)

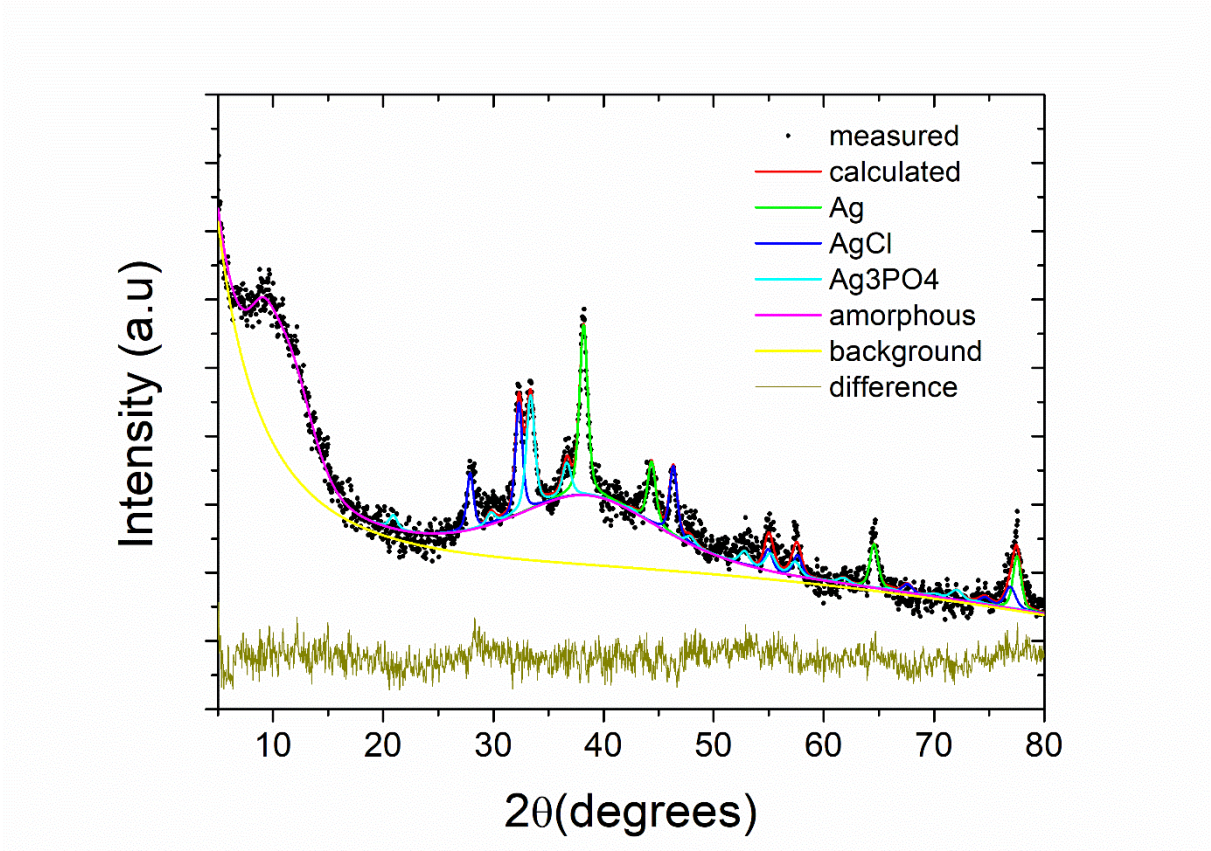
De acordo com critérios amplamente utilizados na literatura, valores de potencial Zeta na faixa de ±0–10 mV, ±10–20 mV, ±20–30 mV e >±30 mV classificam as nanopartículas como muito instáveis, pouco estáveis, estáveis e altamente estáveis, respectivamente (Bhattacharjee, 2016). Assim, o valor obtido sugere que o nanocompósito apresenta estabilidade coloidal satisfatória.

Quanto ao índice de polidispersão, partículas com PDI ≤0,1 são consideradas altamente monodispersas; entre 0,1–0,4, moderadamente polidispersas; e >0,4, altamente polidispersas. Com base nessa classificação, o nanocompósito pode ser caracterizado como moderadamente polidisperso.

O difratograma de raios X (gráfico 2) revelou a presença de picos característicos das fases Ag metálica, AgCl e Ag_3PO_4, identificados por comparação com os cartões JCPDS correspondentes (tabela 6). Esses dados confirmam uma composição multifásica do nanocompósito Ag/AgCl/Ag3PO_4-NP.

Gráfico 2 – Difratograma da suspensão de Ag/AgCl/Ag3PO4-NP liofilizado

evidenciando os picos referentes a fases.



Fonte: o próprio autor (2025)

A composição do nanocompósito corresponde a 27,4% (m/m) de Ag, 32% de AgCl e 41% de Ag_3PO_4 em massa, o que equivale aproximadamente a uma razão molar de Ag:AgCl:Ag_3PO_4 de 2,6:2,3:1, ou, ≈3:2:1.

A partir da FWHM e da posição (tabela 5) foi possível determinar o tamanho e a microdeformação dos cristais utilizando as equações de Scherrer, Williamson-Hall e Size-strain plot (tabela 6).

Tabela 5 – Parâmetros estruturais obtidos por DRX

No.	Posição (2θ)	h	k	l	d (Å)	FWHM (°2θ)	Fase
1	20,9133	0	1	1	4,24428	0,01476	Ag3 (PO4)_27843

2	20,9658	0	1	1	4,24429	0,014764	Ag3 (PO4)_27843
3	27,8708	1	1	1	3,19854	0,012573	AgCl_64734
4	27,9414	1	1	1	3,19855	0,012579	AgCl_64734
5	29,7365	0	0	2	3,00198	0,015362	Ag3 (PO4)_27843
6	29,812	0	0	2	3,00199	0,015369	Ag3 (PO4)_27843
7	32,2886	0	0	2	2,77029	0,012891	AgCl_64734
8	32,371	0	0	2	2,77029	0,012896	AgCl_64734
9	33,3405	0	1	2	2,68525	0,015671	Ag3 (PO4)_27843
10	33,4258	0	1	2	2,68525	0,015678	Ag3 (PO4)_27843
11	36,6282	1	1	2	2,45142	0,015984	Ag3 (PO4)_27843
12	36,7224	1	1	2	2,45142	0,015994	Ag3 (PO4)_27843
13	38,1526	1	1	1	2,3569	0,015242	Ag_44387
14	38,2511	1	1	1	2,3569	0,01524	Ag_44387
15	42,5456	0	2	2	2,12315	0,016628	Ag3 (PO4)_27843
16	42,6565	0	2	2	2,12315	0,01664	Ag3 (PO4)_27843
17	44,3404	0	0	2	2,04129	0,015132	Ag_44387
18	44,4564	0	0	2	2,04129	0,01513	Ag_44387

19	46,3023	0	2	2	1,95926	0,014221	AgCl_64734
20	46,424	0	2	2	1,95926	0,014233	AgCl_64734
21	47,8589	0	1	3	1,89911	0,017294	Ag3(PO4)_27843
22	47,9852	0	1	3	1,89911	0,017312	Ag3(PO4)_27843
23	52,758	2	2	2	1,73371	0,017989	Ag3(PO4)_27843
24	52,8991	2	2	2	1,73371	0,01801	Ag3(PO4)_27843
25	54,9014	1	1	3	1,67098	0,015294	AgCl_64734
26	55,0493	1	1	3	1,67098	0,015314	AgCl_64734
27	55,0894	0	2	3	1,66572	0,018347	Ag3(PO4)_27843
28	55,2379	0	2	3	1,66573	0,018371	Ag3(PO4)_27843
29	57,3564	1	2	3	1,60516	0,018713	Ag3(PO4)_27843
30	57,5122	1	2	3	1,60516	0,01874	Ag3(PO4)_27843
31	57,5636	2	2	2	1,59987	0,01567	AgCl_64734
32	57,72	2	2	2	1,59988	0,015692	AgCl_64734
33	61,7291	0	0	4	1,50153	0,019473	Ag3(PO4)_27843
34	61,8992	0	0	4	1,50153	0,019504	Ag3(PO4)_27843

35	63,8478	0	1	4	1,45671	0,019865	Ag3 (PO4)_27843
36	64,0252	0	1	4	1,45672	0,0199	Ag3 (PO4)_27843
37	64,4961	0	2	2	1,44363	0,014759	Ag_44387
38	64,6758	0	2	2	1,44363	0,014755	Ag_44387
39	65,9287	1	1	4	1,41569	0,02027	Ag3 (PO4)_27843
40	65,9287	0	3	3	1,41569	0,02027	Ag3 (PO4)_27843
41	66,1133	1	1	4	1,41569	0,020307	Ag3 (PO4)_27843
42	66,1133	0	3	3	1,41569	0,020307	Ag3 (PO4)_27843
43	67,5492	0	0	4	1,38561	0,017277	AgCl_64734
44	67,7397	0	0	4	1,38561	0,01731	AgCl_64734
45	69,9946	0	2	4	1,34307	0,02111	Ag3 (PO4)_27843
46	70,194	0	2	4	1,34307	0,021153	Ag3 (PO4)_27843
47	71,9874	1	2	4	1,31071	0,02155	Ag3 (PO4)_27843
48	72,1943	1	2	4	1,31071	0,021595	Ag3 (PO4)_27843
49	73,9578	2	3	3	1,28059	0,022	Ag3 (PO4)_27843
50	74,1723	2	3	3	1,28059	0,02205	Ag3 (PO4)_27843

51	74,5712	1	3	3	1,27156	0,018621	Ag Cl_64734
52	74,7881	1	3	3	1,27157	0,018665	Ag Cl_64734
53	76,8544	0	2	4	1,23938	0,019101	Ag Cl_64734
54	77,0804	0	2	4	1,23938	0,01915	Ag Cl_64734
55	77,4595	1	1	3	1,2312	0,014505	Ag_44387
56	77,6879	1	1	3	1,2312	0,0145	Ag_44387
57	77,8435	2	2	4	1,22609	0,022948	Ag3 (PO4)_27843
58	78,0735	2	2	4	1,22609	0,023005	Ag3 (PO4)_27843
59	79,764	0	3	4	1,20132	0,023445	Ag3 (PO4)_27843

Fonte: o próprio autor (2025)

A origem do Cl^- e PO_4^- presentes nos metais pode ser principalmente dos compostos orgânicos utilizados na síntese como os hidrolisados de células vegetais (soja) e o sobrenadante livre de células resultante de um processo de fermentação bacteriana. O cloro é de suma importância para as células vegetais, principalmente por sua função osmótica e por seu papel como cofator essencial na fotossíntese (TERRY, N. 1977), atuando como um osmólito também em bactérias. Já o fósforo é um macronutriente crítico para transferência de energia por comporem moléculas altamente energéticas como AMP, ADP e ATP, desenvolvimento da raiz, nodulação, além de comporem os nucleotídeos.

Tabela 6 – Modelos analíticos para estimativa microestrutural por DRX.

		Scherrer	Williamsom-Hall		SSP	
Fase	JCPDS	cristalito nm	Cristalito Å	microdeformação %	cristalito Å	microdeformação %

Ag	01-089-3722	10,146	8,181	-0,0026	11,463	0,0026
AgCl	01-085-1355	12,052	14,373	0,0019	12,668	0,0025
Ag3(PO4)	01-074-1876	10,101	11,506	0,0020	10,387	0,0031

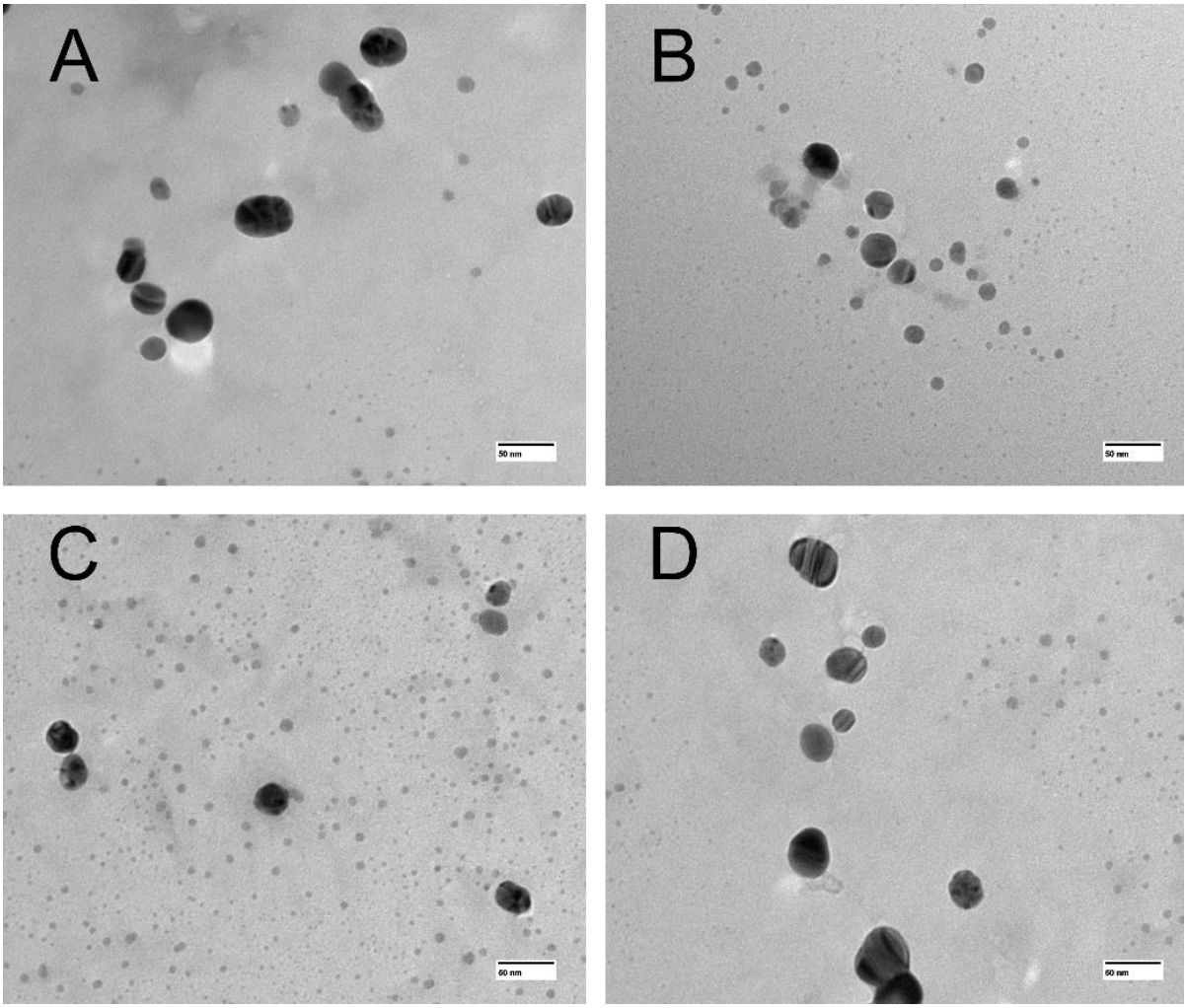
Fonte: o próprio autor (2025)

Esses dados confirmam a natureza trifásica do nanocompósito e o tamanho do cristalito em nanoescala. Os valores baixos de microdeformação indicando que o alargamento dos picos de difração está majoritariamente associado ao tamanho reduzido dos cristalitos e não a tensões significativas na rede cristalina.

O tamanho das nanopartículas obtidas foi analisado por microscopia eletrônica de transmissão (figura 38). Utilizando o software ImageJ, foi possível quantificar o tamanho médio do nanocompósito, sendo esse valor de 26,47±10,9nm, com formato oval, levemente alongado, ou esférico. Valores esses que se aproximam dos obtidos pela modelagem analítica a partir do DRX.

A diferença entre o tamanho obtido via MET e via DLS está relacionado ao fato de que o DLS é uma técnica mede o tamanho hidrodinâmico, contabilizando o tamanho do *coating* e levando em consideração que, pela sua equação, o tamanho da nanopartícula é perfeitamente esférica.

Figura 38 – A a D) Microscopia eletrônica de transmissão das AgCl-NP. Barra = 50 nm.

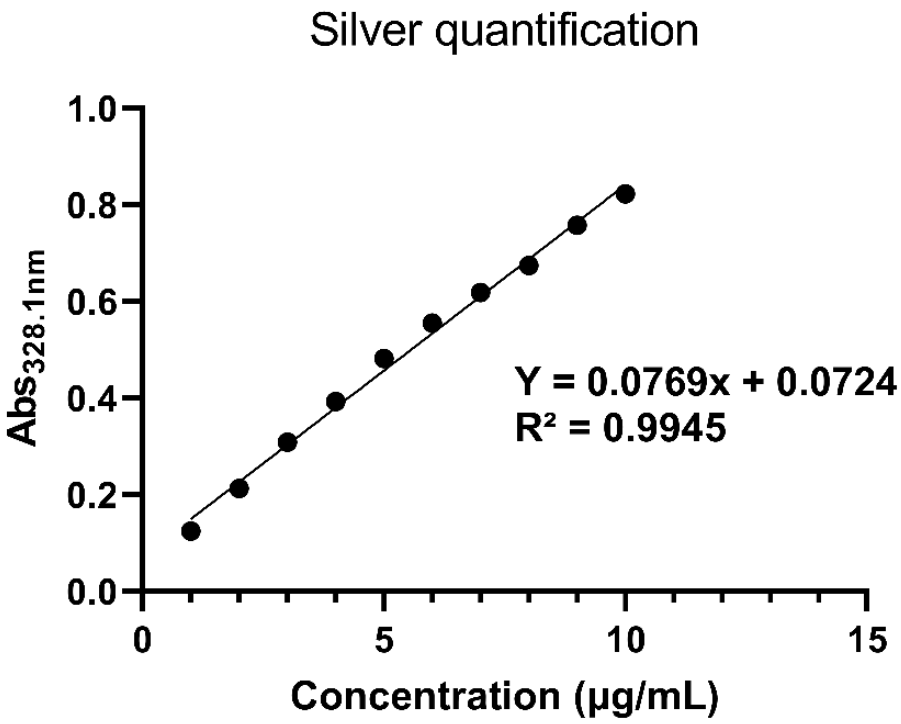


Fonte: O próprio autor (2025)

A quantificação de prata elementar presente na dispersão de 827 µg/mL foi de 82,7% da massa total da amostra (gráfico 3). Esse valor é superior ao conteúdo teórico de prata esperado para as fases AgCl (75,3%) e Ag_3PO_4 (77,3%), indicando uma composição não-estequiométrica do nanocompósito, com presença de prata metálica (Ag^0) em excesso. Esse resultado, aliado à coloração escura da dispersão, reforça os dados obtidos por difração de raios X, confirmando a coexistência das fases $Ag/AgCl/Ag_3PO_4$.

.

Gráfico 3 – Curva de calibração usando soluções conhecidas de $AgNO_3$ para quantificação de prata.

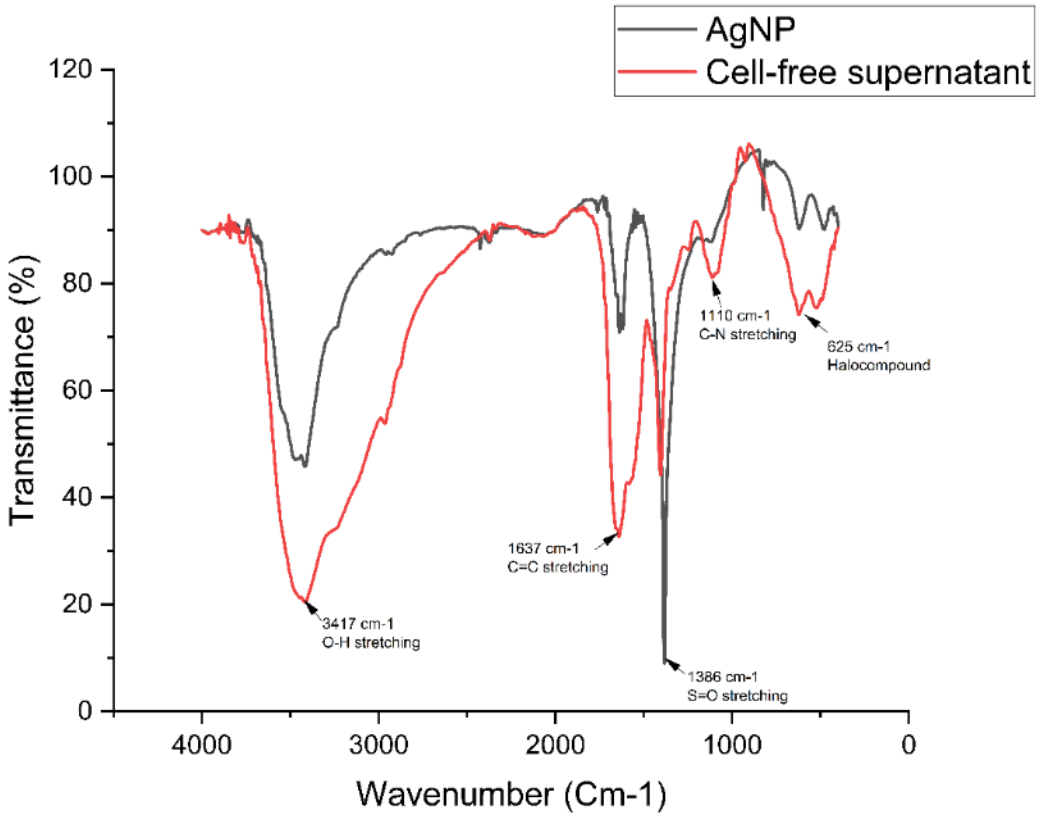


Fonte: o próprio autor (2025)

A análise de FTIR evidenciou picos correspondentes a diversos grupos orgânicos, demonstrando a presença de matéria orgânica atuando como *coating* do nanocompósito (gráfico 4). Picos em 3417 cm-1 correspondem alongamento de vibrações (OH) pertencente a álcoois. Picos em 1637 cm-1 correspondendo a alongamento de vibrações C=C de alcanos. Picos em 1386 cm-1 com alongamento de vibrações S=O de sulfatos. Picos em 1110 cm-1 com alongamento de vibrações C-N pertencente a aminas e picos em 625 cm-1 de halocompostos (INSTANANO, s.d.).

Essas moléculas podem atuar como doadores de elétrons durante o processo de síntese, acelerando o processo de formação das nanopartículas.

Gráfico 4 – Espectro FT-IR do sobrenadante livre de células e das AgCl-NP. Observa-se picos em diferentes números de ondas, indicando a presença de múltiplos grupamentos orgânicos



Fonte: o próprio autor (2025)

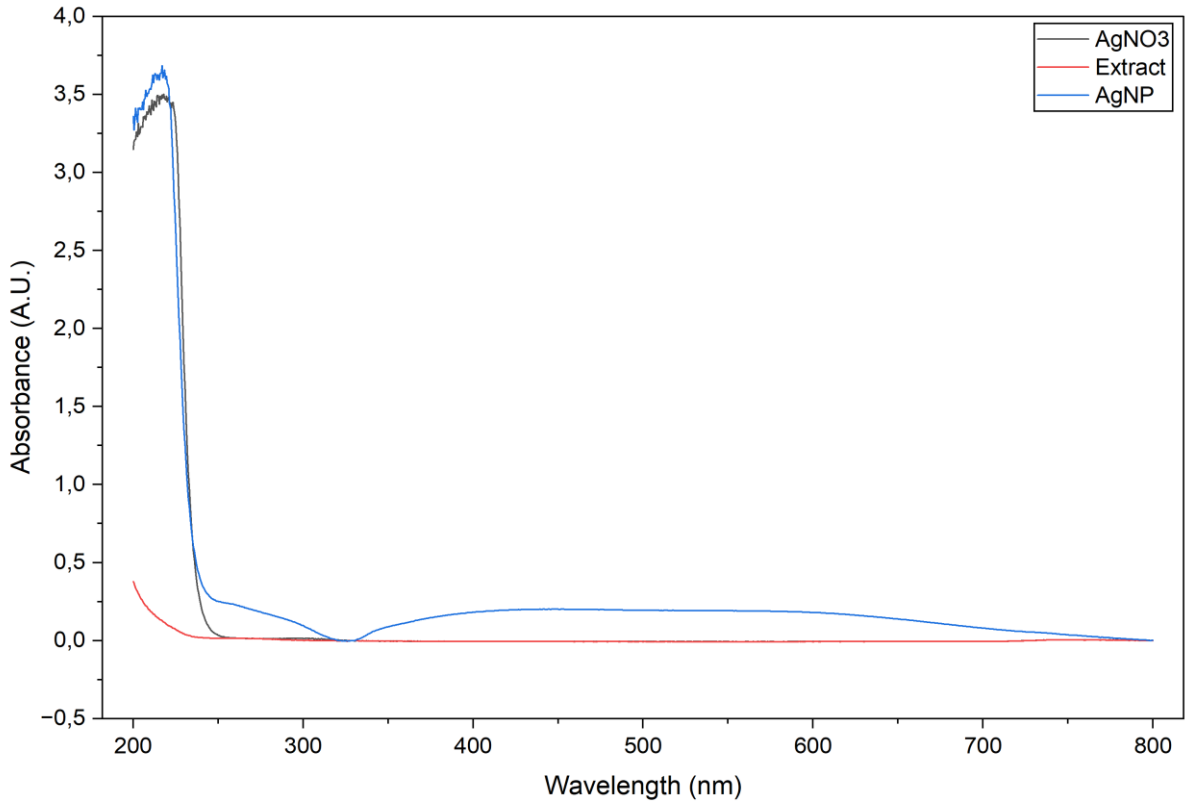
O intervalo observado da suspensão é de 247 a 312 nm, variando de 0,225 U.A. 0,381 U.A. (gráfico 4), comprimentos que podem ser resultados da presença de AgCl e Ag_3PO_4 (Tugelbay et al. (2025) e da transição eletrônica da camada de valência para a camada de condução. Também há um intervalo entre 325 a 800 nm, variando de 0 a λmax de 0,193 (gráfico 5). Entretanto baixa intensidade no que seria a região de ressonância plasmônica do Ag^0 pode ser explicada pela velocidade da síntese, a baixa concentração de redutor e, sobretudo, a natureza eletrônica de AgCl que, diferentemente de Ag^0, não exibe RPS.

O forte pico próximo aos 200 nm é resultado da transição $\pi \rightarrow \pi^*$ dos íons NO_3^- em solução (GVOZDIĆ, V. *et al*., 2009). Esse fenômeno ocorre pela excitação dos orbitais π pela luz ultravioleta, sendo, inclusive, uma técnica para quantificação de NO_3^- em suspensões.

Através dos dados obtidos pelo UV-Vis, foi realizado um gráfico de Tauc para determinação da energia de transição direta de banda proibida (E_g), tendo sido E_g de 5.27 eV (gráfico 6). A formação de AgCl é corroborada tanto pela λmax, que se

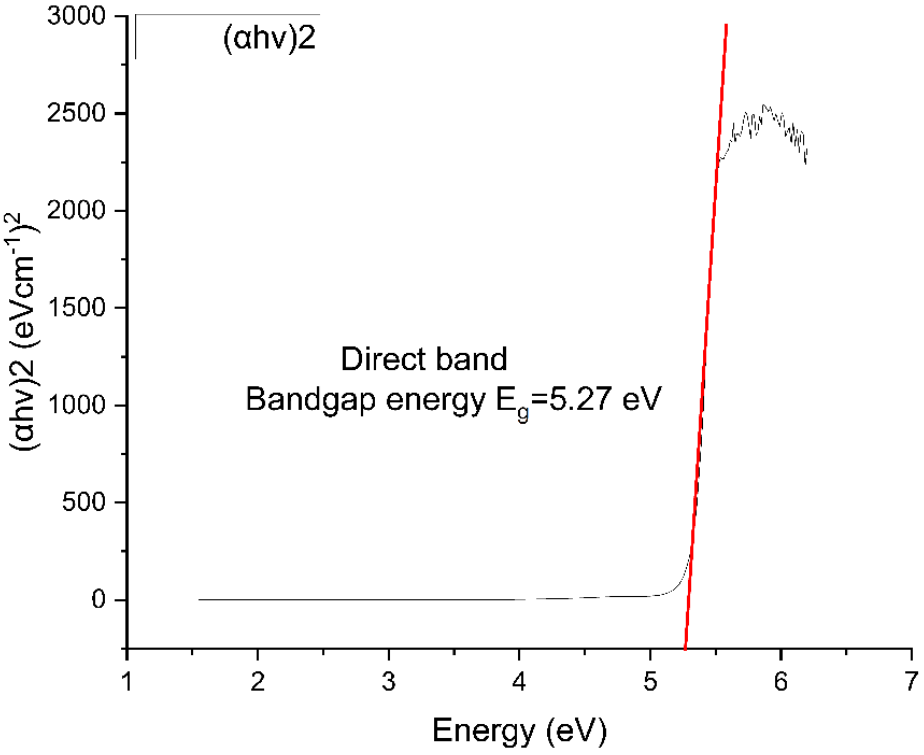
encontra dentro da faixa de 250-290 nm para AgCl-NP (BAJRAMI *et al*., 2024) quanto pela energia de banda direta, sendo um valor próximo de valores obtidos por Kunz (1982) e Glaus e Calzaferri (2002) de 5.6 eV e 5.17 eV, respectivamente. A E_g é considerada a energia necessária para essa transição eletrônica de bandas.

Gráfico 5 – Espectro UV-Vis evidenciando o pico da ressonância plasmônica das AgCl-NP.



Fonte: o próprio autor (2025)

Gráfico 6 – Gráfico de banda de energia proibida direta das AgCl-NP. O gráfico evidência a transição eletrônica da camada de valência para a camada de condução. Esse band-gap é demonstrado pela linha vermelha.



Fonte: o próprio autor (2025)

Após a caracterização física, foi realizada as caracterizações biológicas, iniciando-se pela determinação da atividade antibacteriana do nanocompósito. O nanocompósito obtido foi bactericida para todas as bactérias testadas, com valor CBM de 1,03 µg/mL para a maioria dos isolados testados (tabela 7). Valores aproximados dos obtidos por Allend *et al.* (2022) e Mishra *et al*. (2024), com valores de 0,460-1,95 µg/mL para AgNP. Concentrações baixíssimas de CIM e CBM podem ser resultados do efeito de ação oligodinâmica exercida pela prata, efeito este que mesmo em concentrações baixíssimas, a prata ainda exerce sua atividade antibacteriana (SALLEH et al., 2020). Entretanto, esses valores se diferem dos obtidos por Tugelbay *et al*. (2025) que observaram valores de 15 a até 250 vezes. A diferença de valores pode ser fruto da natureza trifásica do nanocompósito desenvolvido, que podem estar atuando em sinergismo.

O AgCl e Ag3PO4 são conhecidos por ser compostos antibacterianos

fotocalíticos que liberam Ag^+ pela indução de luz (Hong *et al*., 2016).

Tabela 7 – Atividade antibacteriana do nanocompósito de prata.

Cepa	CIM (µg/mL)	CBM (µg/mL)	Razão CBM:CIM	Classificação
A. baumannii ATCC 19606	1.03	1.03	1	Bactericida
A. baumannii Ab183	1.03	1.03	1	Bactericida
A. baumannii Ab289	1.03	2.06	2	Bactericida
A. baumannii Ab565	1.03	2.06	2	Bactericida
A. baumannii Ab576	1.03	1.03	1	Bactericida
A. baumannii Ab791	1.03	1.03	1	Bactericida
A. baumannii Ab846	1.03	1.03	1	Bactericida
A. baumannii Ab860	1.03	1.03	1	Bactericida

Fonte: o próprio autor (2025)

Em modelo de *E. coli*, as AgNP exercem efeito principalmente pela produção de H_2O_2, depleção de níveis de glutationa e desativação da glutationa peroxidase, levando a estresse oxidativo. Estresse esse que ocasiona oxidação de DNA, levando a fragmento do mesmo, induzindo uma morte semelhante a apoptose (KIM, S.; LEE, D. G., 2021). O silenciamento de genes específicos em modelo de *E. coli*, como os de biossíntese de RNA, síntese de lipopolissacarídeo e proteína de reparo de DNA. ocasionam sensibilidade tanto a $AgNO_3$ quanto a AgNP, entretanto, o silenciamento de genes de subunidade ribossomal larga, biossíntese de peptideoglicano, biossíntese de aminoacil-tRNA e de biossíntese de DNA ocasiona sensibilidade apenas a $AgNO_3$, levando os autores a sugerirem que as AgNP atuam mais seletivamente que $AgNO_3$ (WAN et al., 2016).

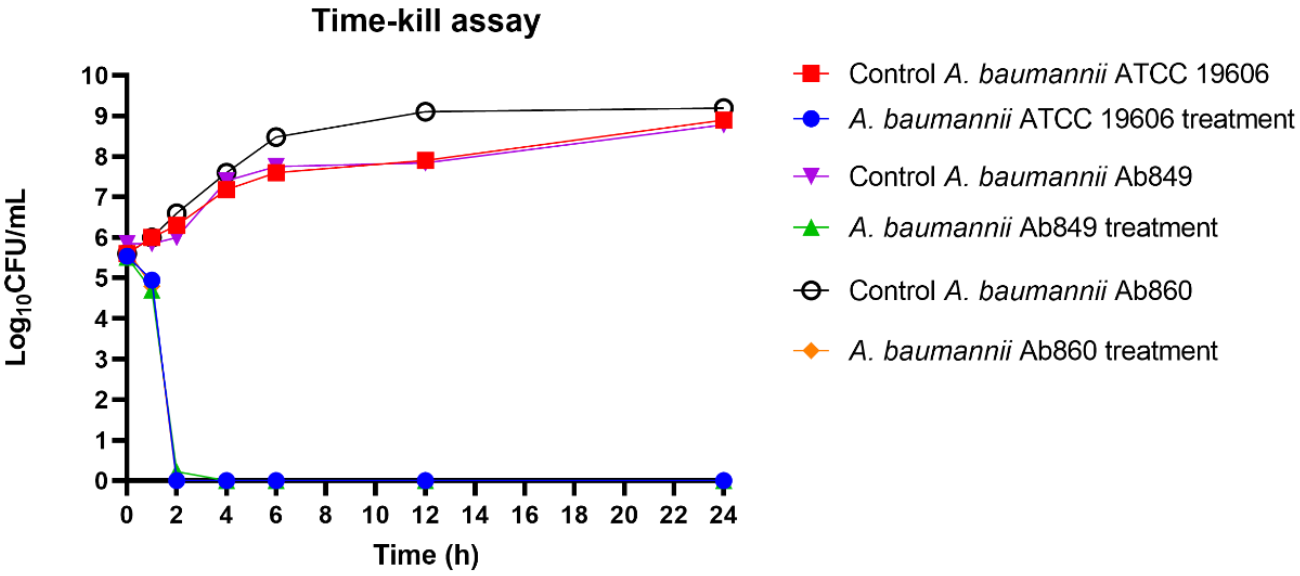
Nesse trabalho, valores semelhantes de CIM e CBM entre a cepa sensível *A. baumannii* ATCC 19606 e os isolados multirresistentes e pan-resistente foram determinados, evidenciando que a ação do nanocompósito ocorre independente do fenótipo de resistência e seus mecanismos de ação. Tugelbay *et al*. (2020) evidenciam

a atividade antibacteriana de nanopartículas de AgCl/Ag_3PO_4-NP isoladas e em conjunto, o que também sugere que tanto AgCl quanto Ag_3PO_4 atuam como doador de Ag^+, exercendo sua atividade antibacteriana (TUGELBAY et al. (2025).

Esses dados, somados aos resultados do resistoma bacteriano (dados não publicados), reforça o uso desse nanocompósito no combate à *A. baumannii* multirresistente.

Através da contagem de unidades formadoras de colônia (UFC) no ensaio de *time-kill*, foi possível observar a redução de UFC a partir do tempo 1 h (gráfico 6), com taxa de redução de >95% até o tempo de 2h, com redução de 99,9% a partir de 4 h (tabela 8).

Gráfico 7 – Cinética de ação antibacteriana do nanocompósito de prata. É possível observar a diminuição de UFC a partir de 1 h de tratamento e redução total a partir das 4 horas de tratamento.



Fonte: o próprio autor (2025)

Tabela 8 – Área sob a curva dos tratamentos, do controle e suas respectivas taxas de redução. A AUC foi utilizada para reforçar os dados da cinética de ação, corroborando com a atividade antibacteriana do nanocompósito de prata. Diferença entre AUC do tratamento e AUC do controle indica que o controle foi eficiente na redução, como evidenciado pela taxa de redução do crescimento.

Cepa	AUC do tratamento	AUC do controle	Taxa de redução
A. baumannii ATCC 19606	7,720	187,5	95.88%
A. baumannii Ab846	7,785	186,8	95.83%
A. baumannii Ab860	7,650	204,9	96.27%

Fonte: o próprio autor (2025)

A cinética de ação do nanocompósito é similar à cinética de outras AgNP. Isso é possível de se observar no trabalho de Deonas *et al*. (2024), que observaram que 2 h de exposição foi capaz de reduzir 100% do inóculo inicial de *E. coli* ATCC 25922, e no trabalho de Allend *et al.* (2022), com redução de 100% entre 1 e 2 h. Esse dado, comparado à literatura, pode indicar que o nanocompósito exibe a mesma cinética de ação a nanopartículas compostas de núcleo Ag^0.

A taxa de hemólise de eritrócitos humanos foi obtida (gráfico 8). Contra eritrócitos humanos, as concentrações hemolíticas (>2%), foram 25,84 (3,72%), 51,68 (19,53%) e 103 µg/mL (55,18%). Valores relativamente semelhantes foram observados por Choi *et al*. (2011) para AgNP com diferentes estabilizante ou estabilizante termicamente removido. Entretanto, esses valores foram menores que aqueles obtidos por Chen *et al*., que observou que, em 2 horas, nanopartículas de 15 a 100 nm, ocasionaram até 20% de hemólise em concentração de 5 µg/mL. A maior taxa hemolítica é perceptível em nanopartículas de 15 nm, entretanto, como observado por esses resultados, o nanocompósito de 26,47±10,9nm não foi tóxico nas mesmas concentrações testadas.

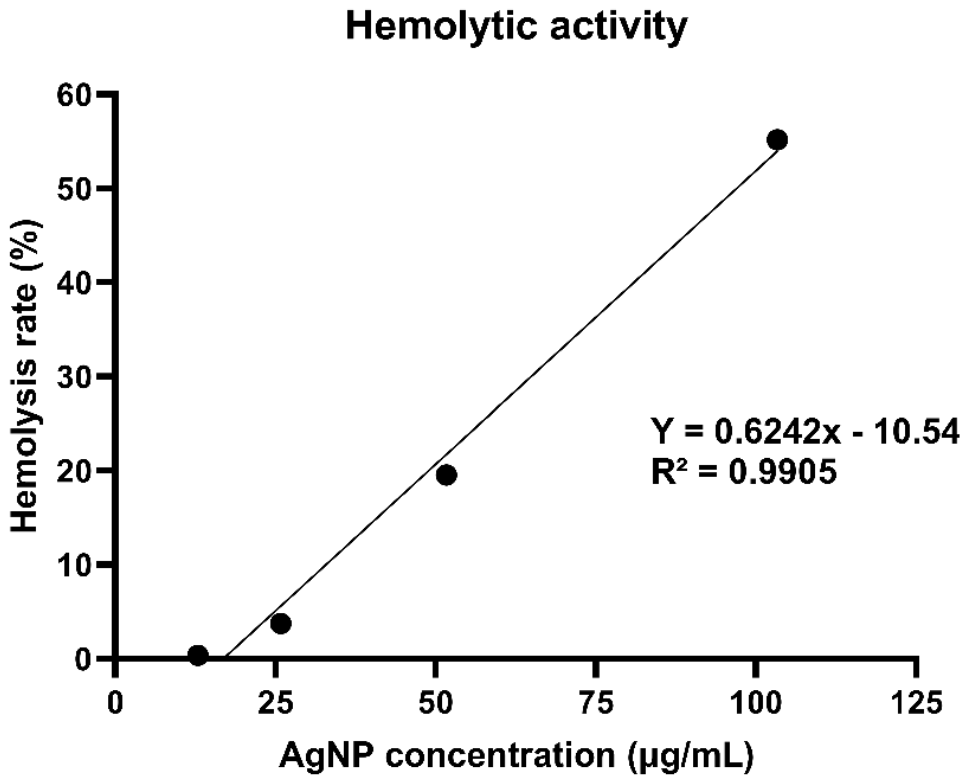
Índices de seletividade acima de 10 podem ser considerados altamente seletivos e uma janela favoravelmente terapêuticas (D'OLIVEIRA et al., 2025).

Segundo American Society for Testing and Masterials (ASTM, 2013) valores acima de 10% são considerados hemolíticos. Utilizando essa premissa, as concentações consideradas hemolíticas foram aquelas superiores a 25 µg/mL, valor 25 vezes maior que a CIM.

O CC_{50} e o IS obtidos foram de 96,99 µg/mL 94,16, respectivamente (gráfico 6). Autores argumentam que compostos com IS > 10 são altamente seletivos e

possuem uma segurança *in* vitro relativa (Belete, B. B.; Ozkan, J.; Kalaiselvan, P.; Willcox, M., 2025). Entretanto, aqui foi analisada a atividade lítica do nanocompósito, sendo necessário análises complementares para avaliar o efeito do nanocompósito sobre a viabilidade celular de células humanas para confirmar, com segurança, a toxicidade.

Gráfico 8 – Curva de hemólise das AgCl-NP contra eritrócitos humanos.



Fonte – O próprio autor (2025)

6 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, foi possível sintetizar nanopartículas de prata associada a cloreto e fosfato de prata (Ag/AgCl/Ag3PO4-NPs) quase esféricas, com tamanho inferior a 100 nm e características físico-químicas semelhantes com as descritas na literatura. Em relação à atividade antimicrobiana, esse nanocompósito demonstrou excelente eficácia e rápida cinética de ação contra isolados multirresistentes e pan-resistentes de *A. baumannii*, destacando-se como potencial agente terapêutico no controle desse patógeno. Além disso, os dados revelam baixa toxicidade hemolítica, permitindo classificá-lo como composto seguro mesmo em concentrações superiores às bacteriostáticas e bactericidas. Em conjunto, esses achados reforçam o papel promissor da nanotecnologia no enfrentamento de bactérias multirresistentes e no desenvolvimento de antimicrobianos altamente ativos e com reduzida toxicidade.

REFERÊNCIAS

ABD EL-RAHMAN, O. A. et al. The RND Efflux Pump Gene Expression in the Biofilm Formation of *Acinetobacter baumannii*. **Antibiotics**, v. 12, n. 2, 1 fev. 2023.

ABDI, S. N. et al. *Acinetobacter baumannii* Efflux Pumps and Antibiotic Resistance. **Infection and Drug Resistance**, v. 13, p. 423, 2020.

ABUDALO et al., Synthesis of silver nanoparticles using a modified Tollens' method in conjunction with phytochemicals and assessment of their antimicrobial activity**. PeerJ**, 2019.

ALLEND, S. O. et al. Biogenic silver nanoparticle (Bio-AgNP) has an antibacterial effect against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* with synergism and additivity when combined with polymyxin B. **Journal of Applied Microbiology**, v. 132, n. 2, p. 1036–1047, 28 fev. 2022c.

ARBATSKY, N. P. et al. The K95 capsular polysaccharide produced by *Acinetobacter baumannii* isolate MAR18-2212 includes a rarely encountered 3-acetamido-3,6-dideoxy-D-glucose (D-Qui3NAc) sugar. **Carbohydrate Research**, v. 553, 1 jul. 2025.

ARROYO et al. The pmrCAB operon mediates polymyxin resistance in Acinetobacter baumannii ATCC 17978 and clinical isolates through phosphoethanolamine modification of lipid A. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 55, 2011

ASIF, M.; ALVI, I. A.; REHMAN, S. U. Insight into *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. **Infection and Drug Resistance**, v. Volume 11, p. 1249–1260, ago. 2018.

ASIF, M.; ALVI, I. A.; UR REHMAN, S. Insight into acinetobacter baumannii: Pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. **Infection and Drug Resistance**, v. 11, p. 1249–1260, 2018.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. Standard Test Method for Analysis of Hemolytic Properties of Nanoparticles. West Conshohocken, PA, USA. 2012.

AZIZ, N. M. A. et al. A comparative study of the biosynthesis of CuNPs by *Niallia circulans* G9 and *Paenibacillus* sp. S4c strains: characterization and application as antimicrobial agents. **Microbial Cell Factories**, v. 23, n. 1, p. 156, 28 maio 2024.

BAJRAMI, D. et al. A scalable route to quaternary ammonium-functionalized AgCl

colloidal antimicrobials inhibiting food pathogenic bacteria and biofilms. **Heliyon**, v. 10, n. 3, p. e25260, fev. 2024.

BALLARINI et al. Low-organics method to synthesize silver nanoparticles in an aqueous medium. **Studies in Surface Science and Catalysis**, v. 175, 2010.

BARATI, H. et al. Anti-OmpA antibodies as potential inhibitors of *Acinetobacter baumannii* biofilm formation, adherence to, and proliferation in A549 human alveolar epithelial cells. **Microbial Pathogenesis**, v. 186, p. 106473, jan. 2024.

BARTHOLOMEW, T. L. et al. 2-Hydroxylation of *Acinetobacter baumannii* Lipid A Contributes to Virulence. **Infection and Immunity**, v. 87, n. 4, p. e00066-19, 1 abr. 2019.

BHATTARCHARJEE, S. DLS and zeta potential – What they are and what they are not?. **Journal of Controlled Release**, v. 235, 2016.

BAUMANN, P. Isolation of *Acinetobacter* from Soil and Water. **Journal of Bacteriology**, v. 96, n. 1, p. 39–42, jul. 1968.

BAUMANN, P.; DOUDOROFF, M.; STANIER, R. Y. A Study of the *Moraxella* Group II. Oxidative-negative Species (Genus *Acinetobacter*). **Journal of Bacteriology**, v. 95, n. 5, p. 1520–1541, maio 1968.

BAYDA et al. The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical–Physical Applications to Nanomedicine. **Molecules**, 25, 2019.

BEIJERINCK, M. W. Pigmenten als oxydatieproducten door bacterien gevormd. **Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen te Amsterdam**, p. 1066–1077, 1911.

BELETE, B. B.; OZKAN, J.; KALAISELVAN, P.; WILLCOX, M. Clinical Potential of Essential Oils: Cytotoxicity, Selectivity Index, and Efficacy for Combating Gram-Positive ESKAPE Pathogens. **Molecules**, v. 30, 2025.

BENTANCOR, L. V. et al. Identification of Ata, a Multifunctional Trimeric Autotransporter of *Acinetobacter baumannii*. **Journal of Bacteriology**, v. 194, n. 15, p. 3950, ago. 2012.

BLAIR, K. M. et al. *Acinetobacter Baumannii* Secreted Protease CpaA Inhibits Factor XII-Mediated Bradykinin Generation and Neutrophil Activation. **Circulation Research**, v. 137, n. 1, p. e1–e15, 20 jun. 2025.

BLASCHKE, U.; SKIEBE, E.; WILHARM, G. Novel Genes Required for Surface-Associated Motility in *Acinetobacter baumannii*. **Current Microbiology**, v. 78, n. 4, p. 1509–1528, 5 abr. 2021.

BOUVET, P. J. M.; GRIMONT, P. A. D. Taxonomy of the Genus Acinetobacter with the Recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. nov., *Acinetobacter haemolyticus* sp. nov., *Acinetobacter johnsonii* sp. nov., and *Acinetobacter junii* sp. nov. and Emended Descriptions of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lwoffii*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 36, n. 2, p. 228–240, 1 abr. 1986.

BRISOU, J. [Essay on the system of the genus *Achromobacter*]. **Annales de l'Institut Pasteur**, v. 84, n. 4, p. 812–4, abr. 1953.

BRISOU, J.; PREVOT, A. R. [Studies on bacterial taxonomy. X. The revision of species under *Acromobacter* group]. **Annales de l'Institut Pasteur**, v. 86, n. 6, p. 722–8, jun. 1954.

BROSSARD, K. A.; CAMPAGNARI, A. A. The *Acinetobacter baumannii* Biofilm-Associated Protein Plays a Role in Adherence to Human Epithelial Cells. **Infection and Immunity**, v. 80, n. 1, p. 228–233, jan. 2012.

CAMARENA, L. et al. Molecular Mechanisms of Ethanol-Induced Pathogenesis Revealed by RNA-Sequencing. **PLOS Pathogens**, v. 6, n. 4, p. e1000834, 2010.

CANO-CASTAÑO, B. et al. Loss of Lipooligosaccharide Synthesis in *Acinetobacter baumannii* Produces Changes in Outer Membrane Vesicle Protein Content. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 17, p. 9272, 27 ago. 2024.

CAPDEVILA, D. A. et al. Bacterial Metallostasis: Metal Sensing, Metalloproteome Remodeling, and Metal Trafficking. **Chemical Reviews**, v. 124, n. 24, p. 13574–13659, 25 dez. 2024.

CAPDEVILA, D. A.; EDMONDS, K. A.; GIEDROC, D. P. Metallochaperones and metalloregulation in bacteria. **Essays in Biochemistry**, v. 61, n. 2, p. 177–200, 9 maio 2017.

CASADEVALL, A.; PIROFSKI, L.-A. Virulence factors and their mechanisms of action: the view from a damage-response framework. Journal of Water and Health, v. 7, 2009.

CATEL-FERREIRA, M. et al. Structure–function relationships of CarO, the carbapenem resistance-associated outer membrane protein of Acinetobacter baumannii. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 66, n. 9, p. 2053–2056, set. 2011.

CATEL-FERREIRA, M. et al. The outer membrane porin OmpW of *Acinetobacter baumannii* is involved in iron uptake and colistin binding. **FEBS Letters**, v. 590, n. 2, p. 224–231, 11 jan. 2016.

CHEN, C.-L. et al. d-mannose-sensitive pilus of Acinetobacter baumannii is linked to

biofilm formation and adherence onto respiratory tract epithelial cells. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 55, n. 1, p. 69–79, fev. 2022.

CHING, C. et al. Lon Protease Has Multifaceted Biological Functions in Acinetobacter baumannii. **Journal of Bacteriology**, v. 201, n. 2, p. e00536-18, 1 jan. 2018.

CHIRIAC, A. M. et al. Citrate-reduced silver nanoparticles: Synthesis temperature dependent properties. **Applied Surface Science**, v. 709, p. 163759, nov. 2025a.

CHIRIAC, A. M. et al. Citrate-reduced silver nanoparticles: Synthesis temperature dependent properties. **Applied Surface Science**, v. 709, p. 163759, 15 nov. 2025b.

CHOI, C. H. et al. Outer membrane protein 38 of Acinetobacter baumannii localizes to the mitochondria and induces apoptosis of epithelial cells. **Cellular Microbiology**, v. 7, n. 8, p. 1127–1138, ago. 2005.

CHOI, C. H. et al. Acinetobacter baumannii outer membrane protein A targets the nucleus and induces cytotoxicity. **Cellular Microbiology**, v. 10, n. 2, p. 309–319, 1 fev. 2008a.

CHOI, C. H. et al. Nuclear translocation and DNAse I-like enzymatic activity of Acinetobacter baumannii outer membrane protein A. **FEMS Microbiology Letters**, v. 288, n. 1, p. 62–67, 1 nov. 2008b.

CHOI, J. et al. Physicochemical Characterization and In Vitro Hemolysis Evaluation of Silver Nanoparticles. Toxicological Sciences, v. 123, 2011

CHOPRA, S.; RAMKISSOON, K.; ANDERSON, D. C. A systematic quantitative proteomic examination of multidrug resistance in Acinetobacter baumannii. **Journal of Proteomics**, v. 84, p. 17–39, 12 jun. 2013.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. M07-A9 Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard. 2012

CONFER, A. W.; AYALEW, S. The OmpA family of proteins: Roles in bacterial pathogenesis and immunity. **Veterinary Microbiology**, v. 163, n. 3–4, p. 207–222, maio 2013.

COSTA, T. R. D. et al. Secretion systems in Gram-negative bacteria: structural and mechanistic insights. **Nature Reviews Microbiology**, v. 13, n. 6, p. 343–359, 15 jun. 2015.

D'OLIVEIRA et al. Selective Copper(II) Complexes against Mycobacterium tuberculosis. **ACS Omega**, v. 11, 2025.

DANAEI et al. Impact of Particle Size and Polydispersity Index on the Clinical

Applications of Lipidic Nanocarrier Systems. **Pharmaceutics**, v. 10, 2018.

DARBY, E. M. et al. RND pumps across the genus Acinetobacter: AdeIJK is the universal efflux pump. **Microbial Genomics**, v. 9, n. 3, p. mgen000964, 2023.

DE BREIJ, A. et al. CsuA/BABCDE-dependent pili are not involved in the adherence of Acinetobacter baumannii ATCC19606T to human airway epithelial cells and their inflammatory response. **Research in Microbiology**, v. 160, n. 3, p. 213–218, abr. 2009.

DE GREGORIO, E. et al. Biofilm-associated proteins: news from Acinetobacter. **BMC Genomics**, v. 16, n. 1, p. 933, 14 dez. 2015.

DE MATOS, R. A.; COURROL, L. C. Biocompatible silver nanoparticles prepared with amino acids and a green method. **Amino Acids**, v. 49, n. 2, p. 379–388, 1 fev. 2017.

DEONAS, A. N. et al. Green Synthesis of Silver Nanoparticle from Anadenanthera colubrina Extract and Its Antimicrobial Action against ESKAPEE Group Bacteria. **Antibiotics (Basel, Switzerland)**, v. 13, n. 8, 1 ago. 2024a.

DEONAS, A. N. et al. Green Synthesis of Silver Nanoparticle from Anadenanthera colubrina Extract and Its Antimicrobial Action against ESKAPEE Group Bacteria. **Antibiotics**, v. 13, n. 8, p. 777, 1 ago. 2024b.

DHAKA, A. et al. A review on biological synthesis of silver nanoparticles and their potential applications. **Results in Chemistry**, v. 6, p. 101108, 1 dez. 2023.

DONG, F. et al. Reduction of silver ions to form silver nanoparticles by redox-active organic molecules: coupled impact of the redox state and environmental factors. **Environmental Science: Nano**, v. 8, n. 1, p. 269–281, 28 jan. 2021.

EIJKELKAMP, B. A. et al. Comparative analysis of surface-exposed virulence factors of Acinetobacter baumannii. **BMC Genomics**, v. 15, n. 1, p. 1020, 25 dez. 2014a.

EIJKELKAMP, B. A. et al. Comparative analysis of surface-exposed virulence factors of Acinetobacter baumannii. **BMC Genomics**, v. 15, n. 1, p. 1020, 25 dez. 2014b.

ELHOSSEINY, N. M. et al. The secretome of Acinetobacter baumannii ATCC 17978 type II secretion system reveals a novel plasmid encoded phospholipase that could be implicated in lung colonization. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 306, n. 8, p. 633–641, dez. 2016a.

ELHOSSEINY, N. M. et al. The secretome of Acinetobacter baumannii ATCC 17978 type II secretion system reveals a novel plasmid encoded phospholipase that could be implicated in lung colonization. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 306, n. 8, p. 633–641, 1 dez. 2016b.

ELHOSSEINY, N. M.; ATTIA, A. S. Acinetobacter: an emerging pathogen with a versatile secretome. **Emerging Microbes & Infections**, v. 7, n. 1, p. 33, 1 dez. 2018.

ELHOSSEINY, N. M.; ELHEZAWY, N. B.; ATTIA, A. S. Comparative proteomics analyses of Acinetobacter baumannii strains ATCC 17978 and AB5075 reveal the differential role of type II secretion system secretomes in lung colonization and ciprofloxacin resistance. **Microbial Pathogenesis**, v. 128, p. 20–27, mar. 2019.

EREN, E. et al. Substrate Specificity within a Family of Outer Membrane Carboxylate Channels. **PLoS Biology**, v. 10, n. 1, p. e1001242, 17 jan. 2012.

FARSHADZADEH, Z. et al. Relationship between antibiotic resistance and biofilm-forming capacity with RND efflux pumps expression in clinical Acinetobacter baumannii isolates. **Archives of Microbiology**, v. 207, n. 7, 1 jul. 2025.

FERREIRA et al. Atomic absorption spectrometry e A multi element technique. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 100, 2018.

FIESTER, S. E. et al. Iron-Regulated phospholipase C Activity contributes to the cytolytic activity and virulence of acinetobacter baumannii. **PLoS ONE**, v. 11, n. 11, 1 nov. 2016.

GADDY, J. A. et al. Role of Acinetobactin-Mediated Iron Acquisition Functions in the Interaction of Acinetobacter baumannii Strain ATCC 19606 ^{T} with Human Lung Epithelial Cells, Galleria mellonella Caterpillars, and Mice. **Infection and Immunity**, v. 80, n. 3, p. 1015–1024, mar. 2012.

GADDY, J. A.; ACTIS, L. A. Regulation of *Acinetobacter Baumannii* Biofilm Formation. **Future Microbiology**, v. 4, n. 3, p. 273–278, 30 abr. 2009.

GADDY, J. A.; TOMARAS, A. P.; ACTIS, L. A. The *Acinetobacter baumannii* 19606 OmpA Protein Plays a Role in Biofilm Formation on Abiotic Surfaces and in the Interaction of This Pathogen with Eukaryotic Cells. **Infection and Immunity**, v. 77, n. 8, p. 3150–3160, ago. 2009.

GARCÍA, R.; BÁEZ, A. P., 2011. Atomic Absorption Spectrometry (AAS). In: FARRUKH, M. A (org.). *Atomic Absorption Spectroscopy*. 1. ed. Croatia: InTech, 2011.

GEORGE et al. Dynamic and electrophoretic light scattering measurements on microtubules at low concentrations. **PLoS One**, 2024.

GERNER-SMIDT, P.; TJERNBERG, I.; URSING, J. Reliability of phenotypic tests for identification of Acinetobacter species. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 29, n. 2, p. 277–282, fev. 1991.

GIGUÈRE, D. Surface polysaccharides from Acinetobacter baumannii : Structures and

syntheses. **Carbohydrate Research**, v. 418, p. 29–43, dez. 2015.

GIL-MARQUÉS, M. L. et al. Effect of Hypoxia on the Pathogenesis of Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa In Vitro and in Murine Experimental Models of Infection. **Infection and Immunity**, v. 86, n. 10, out. 2018.

GIL-MARQUÉS, M. L.; PACHÓN, J.; SMANI, Y. iTRAQ-Based Quantitative Proteomic Analysis of Acinetobacter baumannii under Hypoxia and Normoxia Reveals the Role of OmpW as a Virulence Factor. **Microbiology Spectrum**, v. 10, n. 2, p. e02328-21, 27 abr. 2022a.

GIL-MARQUÉS, M. L.; PACHÓN, J.; SMANI, Y. iTRAQ-Based Quantitative Proteomic Analysis of Acinetobacter baumannii under Hypoxia and Normoxia Reveals the Role of OmpW as a Virulence Factor. **Microbiology Spectrum**, v. 10, n. 2, 27 abr. 2022b.

GLAUS, S.; CALZAFERRI, G. The band structures of the silver halides AgF, AgCl, and AgBr: A comparative study. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 2, n. 4, p. 398–401, 1 abr. 2003.

GOH, H. M. S. et al. Molecular Analysis of the Acinetobacter baumannii Biofilm-Associated Protein. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 21, p. 6535–6543, nov. 2013.

GOULET, P. J. G.; LENNOX, R. B., 2010. New Insights into Brust−Schiffrin Metal Nanoparticle Synthesis. **Journal of the American Chemical Society**, v. 132, n. 28, 2010

GRIBUN, A. et al. Molecular and Structural Characterization of the HMP-AB Gene Encoding a Pore-Forming Protein from a Clinical Isolate of Acinetobacter baumannii. **Current Microbiology**, v. 47, n. 5, out. 2003.

GVOZDIĆ et al. ssociation of Nitrate Ion with Metal Cations in Aqueous Solution: a UV-Vis Spectrometric and Factor-Analytical Study**. Croatia Chemica Acta**, v. 82, 2009

HAN, L. et al. An Outer Membrane Protein YiaD Contributes to Adaptive Resistance of Meropenem in Acinetobacter baumannii. **Microbiology Spectrum**, v. 10, n. 2, 27 abr. 2022a.

HAN, L. et al. An Outer Membrane Protein YiaD Contributes to Adaptive Resistance of Meropenem in Acinetobacter baumannii. **Microbiology Spectrum**, v. 10, n. 2, 27 abr. 2022b.

HARDING, C. M. et al. Medically Relevant Acinetobacter Species Require a Type II Secretion System and Specific Membrane-Associated Chaperones for the Export of Multiple Substrates and Full Virulence. **PLOS Pathogens**, v. 12, n. 1, p. e1005391, 14

jan. 2016.

HARDING, C. M. et al. Pathogenic Acinetobacter species have a functional type I secretion system and contact-dependent inhibition systems. **Journal of Biological Chemistry**, v. 292, n. 22, p. 9075–9087, jun. 2017.

HASAN, T.; CHOI, C. H.; OH, M. H. Genes Involved in the Biosynthesis and Transport of Acinetobactin in *Acinetobacter baumannii*. **Genomics & Informatics**, v. 13, n. 1, p. 2, 2015.

HASSAN, K. A. et al. Short-chain diamines are the physiological substrates of PACE family efflux pumps. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 116, n. 36, p. 18015–18020, 3 set. 2019.

HOLT, J. G. et al. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994.

HOLT, K. B.; BARD, A. J. Interaction of Silver(I) Ions with the Respiratory Chain of *Escherichia coli* : An Electrochemical and Scanning Electrochemical Microscopy Study of the Antimicrobial Mechanism of Micromolar Ag^{+}. **Biochemistry**, v. 44, n. 39, p. 13214–13223, 1 out. 2005.

HONG, H. et al. The Outer Membrane Protein OmpW Forms an Eight-stranded β-Barrel with a Hydrophobic Channel. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 11, p. 7568–7577, 17 mar. 2006.

HONG, X. et al. Chloride ion-driven transformation from Ag3PO4 to AgCl on the hydroxyapatite support and its dual antibacterial effect against Escherichia coli under visible light irradiation. **Environ Sci Pollut** Res, v. 23, 2016

HOWARD, A. et al. Acinetobacter baumannii. **Virulence**, v. 3, n. 3, p. 243–250, 27 maio 2012.

HU, W. S.; LI, P.-C.; CHENG, C.-Y. Correlation between Ceftriaxone Resistance of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium and Expression of Outer Membrane Proteins OmpW and Ail/OmpX-Like Protein, Which Are Regulated by BaeR of a Two-Component System. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 9, p. 3955–3958, set. 2005.

HUA, M. et al. The novel outer membrane protein from OprD/Occ family is associated with hypervirulence of carbapenem resistant Acinetobacter baumannii ST2/KL22. **Virulence**, v. 12, n. 1, p. 1–11, 31 dez. 2021.

HUANG, L. et al. Bacterial Multidrug Efflux Pumps at the Frontline of Antimicrobial Resistance: An Overview. **Antibiotics**, v. 11, n. 4, p. 520, 1 abr. 2022.

HULLA, J. E.; SAHU, S. C.; HAYES, A. W. Nanotechnology: History and future. **Human & Experimental Toxicoloy**, 2015

ISHIKAWA, M. et al. Discovery of a novel periplasmic protein that forms a complex with a trimeric autotransporter adhesin and peptidoglycan. **Molecular Microbiology**, v. 101, n. 3, p. 394–410, 1 ago. 2016.

INSTANANO. FTIR Functional Group Database Table with Search. [s.d.]. Disponível em: <https://instanano.com/all/characterization/ftir/ftir-functional-group-search/>. Acesso em 16 jan. 2026.

JACOBS, A. C. et al. Inactivation of phospholipase D diminishes Acinetobacter baumannii pathogenesis. **Infection and Immunity**, v. 78, n. 5, p. 1952–1962, maio 2010.

JAIMES et al. PmrA Mutations in Drug-Resistant Acinetobacter baumannii Affect Sensor Kinase-Response Regulator Interaction and Phosphotransfer. **Microorganisms**, v. 13, 2025

JEONG, G.-J. et al. Motility of Acinetobacter baumannii: regulatory systems and controlling strategies. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 108, n. 1, p. 3, 30 dez. 2024.

JIN, J. S. et al. Acinetobacter baumannii Secretes Cytotoxic Outer Membrane Protein A via Outer Membrane Vesicles. **PLoS ONE**, v. 6, n. 2, p. e17027, 28 fev. 2011.

JOHNSON, T. L. et al. Acinetobacter baumannii Is Dependent on the Type II Secretion System and Its Substrate LipA for Lipid Utilization and *In Vivo* Fitness. **Journal of Bacteriology**, v. 198, n. 4, p. 711–719, 15 fev. 2016.

JUNI, E. Genetics and Physiology of Acinetobacter. **Annual Review of Microbiology**, v. 32, n. 1, p. 349–371, out. 1978.

JYOTHISRI, K.; DEEPAK, V.; RAJESWARI, M. R. Purification and characterization of a major 40 kDa outer membrane protein of *Acinetobacter baumannii*. **FEBS Letters**, v. 443, n. 1, p. 57–60, 22 jan. 1999.

KASIMOVA, A. A. et al. Structure of K102 Capsular Polysaccharide from Acinetobacter baumannii KZ-1102 and Its Cleavage by Phage Cato Depolymerase. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 26, n. 10, 1 maio 2025.

KIKUCHI-UEDA, T. et al. Acinetobacter baumannii los regulate the expression of inflammatory cytokine genes and proteins in human mast cells. **Pathogens**, v. 10, n. 3, p. 1–12, 1 mar. 2021.

KIM, S.; LEE, D. G. Silver nanoparticles-induced H2O2 triggers apoptosis-like death

and is associated with dinF in Escherichia coli. **Free Radical Research**, v. 55, n. 2, p. 107–118, 2021.

KYRIAKIDIS et al. *Acinetobacter baumannii* antibiotic resistance mechanism. Pathogens, v. 10, 2021.

KNAUF, G. A. et al. Acinetobactin-Mediated Inhibition of Commensal Bacteria by Acinetobacter baumannii. **mSphere**, v. 7, n. 1, 23 fev. 2022.

KRASOWSKA, A.; SIGLER, K. How microorganisms use hydrophobicity and what does this mean for human needs? **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 4, 19 ago. 2014.

KUMAR, A. ; DIXIT, C. K. Methods for characterization of nanoparticles. In: NIMESH, S.; CHANDRA, R.; GUPTA, N. (org.). Advances in Nanomedicine for the Delivery of Therapeutic Nucleic Acids. Woodhead Publishing, 2017.

KUMAR, M. D. et al. Elucidating the Biofilm Composition of Acinetobacter baumannii: Uncovering Mechanisms of Host Immune Evasion. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 152, p. 107565, 1 mar. 2025.

KUMAR, P. et al. Antibacterial activity of structurally diverse natural prenylated isobavachalcone derivatives. **Royal Society of Chemistry**, 14, 2024

KUMAR, S. V. et al. High conversion synthesis of <10 nm starch-stabilized silver nanoparticles using microwave technology. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–10, 1 dez. 2018.

KUMAWAT, M. et al. Role of bacterial efflux pump proteins in antibiotic resistance across microbial species. **Microbial Pathogenesis**, v. 181, p. 106182, 1 ago. 2023.

KUNZ, A. B. Electronic structure of AgF, AgCl, and AgBr. **Physical Review B**, v. 26, n. 4, p. 2070–2075, 15 ago. 1982.

LEMOIGNE, M.; GIRARD, H.; JACOBELLI, G. [Soil bacteria easily utilizing 2-3, butanediol]. **Annales de l'Institut Pasteur**, v. 82, n. 4, p. 389–98, abr. 1952.

LEUS, I. V. et al. Inactivation of AdeABC and AdeIJK efflux pumps elicits specific nonoverlapping transcriptional and phenotypic responses in Acinetobacter baumannii. **Molecular Microbiology**, v. 114, n. 6, p. 1049–1065, 1 dez. 2020.

LI, S. et al. A Novel Ag@AgCl Nanoparticle Synthesized by Arctic Marine Bacterium: Characterization, Activity and Mechanism. **International Journal of Molecular Sciences 2022, Vol. 23, Page 15558**, v. 23, n. 24, p. 15558, 8 dez. 2022.

LIMANSKY, A. S.; MUSSI, M. A.; VIALE, A. M. Loss of a 29-Kilodalton Outer Membrane Protein in *Acinetobacter baumannii* Is Associated with Imipenem

Resistance. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 12, p. 4776–4778, dez. 2002.

LIN, M. F.; LIN, Y. Y.; LAN, C. Y. Contribution of EmrAB efflux pumps to colistin resistance in Acinetobacter baumannii. **Journal of Microbiology**, v. 55, n. 2, p. 130–136, 1 fev. 2017.

LIN, M. F.; LIN, Y. Y.; LAN, C. Y. Characterization of biofilm production in different strains of Acinetobacter baumannii and the effects of chemical compounds on biofilm formation. **PeerJ**, v. 2020, n. 5, p. e9020, 2020a.

LIN, M. F.; LIN, Y. Y.; LAN, C. Y. Characterization of biofilm production in different strains of Acinetobacter baumannii and the effects of chemical compounds on biofilm formation. **PeerJ**, v. 2020, n. 5, p. e9020, 2020b.

LINZENMEIER, G. [Behavior of Diplococcus mucosus (B. antitratum) in experimental resistance tests]. Zentralblatt fur Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. 1. Abt. Medizinisch-hygienische Bakteriologie, Virusforschung und Parasitologie. Originale, v. 163, n. 5–6, p. 348–52, ago. 1955.

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, ago. 2014.

LIU, C. C. et al. Prevalence and mapping of a plasmid encoding a type IV secretion system in Acinetobacter baumannii. **Genomics**, v. 104, n. 3, p. 215–223, 2014.

LOEHFELM, T. W.; LUKE, N. R.; CAMPAGNARI, A. A. Identification and Characterization of an *Acinetobacter baumannii* Biofilm-Associated Protein. **Journal of Bacteriology**, v. 190, n. 3, p. 1036–1044, fev. 2008.

LÓPEZ, M. et al. Response to bile salts in clinical strains of Acinetobacter baumannii lacking the adeABC efflux pump: Virulence associated with quorum sensing. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, n. MAY, 9 maio 2017.

MAGNET, S.; COURVALIN, P.; LAMBERT, T. Resistance-Nodulation-Cell Division-Type Efflux Pump Involved in Aminoglycoside Resistance in Acinetobacter baumannii Strain BM4454. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 45, n. 12, p. 3375, 2001.

MAKADE, C. S. *et al*. Estimation of MBC: MIC Ratio of Herbal Extracts against Common Endodontic Pathogens. **Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences**, v. 16, 2024.

MALIK, M. A. et al. Fungal-mediated synthesis of silver nanoparticles: a novel strategy for plant disease management. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, 28 jun. 2024.

MARET, W. The Extracellular Metallometabolome: Metallophores, Metal Ionophores, and Other Chelating Agents as Natural Products. **Natural Product Communications**, v. 19, n. 8, 28 ago. 2024.

MARTÍ, S. et al. Prevalencia de los genes tetA y tetB como mecanismo de resistencia a tetraciclina y minociclina en aislamientos clínicos de Acinetobacter baumannii. **Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clinica**, v. 24, n. 2, p. 77–80, 2006.

MEYER, C. et al. Contribution of RND-Type Efflux Pumps in Reduced Susceptibility to Biocides in Acinetobacter baumannii. **Antibiotics**, v. 11, n. 11, 1 nov. 2022.

MIHARA, K. et al. Identification and transcriptional organization of a gene cluster involved in biosynthesis and transport of acinetobactin, a siderophore produced by Acinetobacter baumannii ATCC 19606T. **Microbiology**, v. 150, n. 8, p. 2587–2597, 1 ago. 2004.

MISHRA, M. et al. Novel silver nanoparticle-antibiotic combinations as promising antibacterial and anti-biofilm candidates against multiple-antibiotic resistant ESKAPE microorganisms. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 236, p. 113826, abr. 2024.

MODARRESI, F. et al. Effect of iron on expression of efflux pump (adeABC) and quorum sensing (luxI, luxR) genes in clinical isolates of Acinetobacter baumannii. **APMIS**, v. 123, n. 11, p. 959–968, 1 nov. 2015.

MOFFATT et al. Colistin Resistance in Acinetobacter baumannii Is Mediated by Complete Loss of Lipopolysaccharide Production. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 2010.

MOHD YUSOF, H. et al. Microbial Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles by Lactobacillus Plantarum TA4 and its Antibacterial and Antioxidant Activity. **Applied Sciences**, v. 10, n. 19, p. 6973, 5 out. 2020.

MONTINI, V. H. Avaliação in vitro do potencial inibitório de nanopartículas de prata bacteriogênicas sobre a produção de biofilme e atividade ureolítica de enterobacterales. 72p. Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas) - Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

MOON, K. H.; WEBER, B. S.; FELDMAN, M. F. Subinhibitory Concentrations of Trimethoprim and Sulfamethoxazole Prevent Biofilm Formation by Acinetobacter baumannii through Inhibition of Csu Pilus Expression. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 61, n. 9, set. 2017.

MORE, P. R. et al. Silver Nanoparticles: Bactericidal and Mechanistic Approach

against Drug Resistant Pathogens. **Microorganisms**, v. 11, n. 2, p. 369, 1 fev. 2023.

MOURDIKOUDIS, S.; PALLARES, R. M.; THANH, N. T. K. Characterization techniques for nanoparticles: comparison and complementarity upon studying nanoparticle properties. **Nanoscale**, v. 10, 2018.

MOYNIÉ, L. et al. Preacinetobactin not acinetobactin is essential for iron uptake by the BauA transporter of the pathogen Acinetobacter baumannii. **eLife**, v. 7, 18 dez. 2018.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. M26 Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents. 1999

NAGHAVI, M. et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. **The Lancet**, v. 404, n. 10459, p. 1199–1226, set. 2024.

NAIRN, B. L. et al. The Response of Acinetobacter baumannii to Zinc Starvation. **Cell Host & Microbe**, v. 19, n. 6, p. 826–836, jun. 2016.

NASSER, F. et al. Characterization of the diversity of type IV secretion system-encoding plasmids in Acinetobacter. **Emerging Microbes & Infections**, v. 13, n. 1, p. 2320929, 2024.

NATH, D.; SINGH, F.; DAS, R. X-ray diffraction analysis by Williamson-Hall, Halder-Wagner and size-strain plot methods of CdSe nanoparticles- a comparative study. **Materials Chemistry and Physics**, v. 239, 2020.

NAYAK et al. Silver nanoparticles fabricated using medicinal plant extracts show enhanced antimicrobial and selective cytotoxic propensities. **IET Nanotechnology**, v.13, 2018.

NITZAN, Y. et al. Isolation and Characterization of Heat-Modifiable Proteins From the Outer Membrane of Porphyromonas Asaccharolytica and Acinetobacter Baumannii. **Anaerobe**, v. 5, n. 1, p. 43–50, fev. 1999.

NIU, L. et al. Silver nanoparticles derived from Streptomyces sp. YJD18 with multifunctional biomedical applications. **Scientific Reports 2025 15:1**, v. 15, n. 1, p. 1–11, 25 maio 2025.

NUCCIO, S.-P.; BÄUMLER, A. J. Evolution of the Chaperone/Usher Assembly Pathway: Fimbrial Classification Goes Greek. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 71, n. 4, p. 551–575, dez. 2007.

NWUGO, C. C. et al. Deciphering the iron response in Acinetobacter baumannii: a proteomics approach. **Journal of proteomics**, v. 74, n. 1, p. 44, 1 jan. 2010.

O'DONOGHUE, E. J.; KRACHLER, A. M. Mechanisms of outer membrane vesicle

entry into host cells. **Cellular Microbiology**, v. 18, n. 11, p. 1508–1517, nov. 2016.
OH, K.-W. et al. Transcriptional Regulation of the Outer Membrane Protein A in Acinetobacter baumannii. **Microorganisms**, v. 8, n. 5, p. 706, 11 maio 2020.
OHIRA, T.; YAMAMOTO, O. Correlation between antibacterial activity and crystallite size on ceramics. **Chemical Engineering Science**, v. 68, 355-361, 2012
OKADA, U. et al. Crystal structure of tripartite-type ABC transporter MacB from Acinetobacter baumannii. **Nature Communications**, v. 8, n. 1, p. 1336, 1 dez. 2017.
OKE, M. T. et al. Analysis of Acinetobacter P-type type IV secretion system-encoding plasmid diversity uncovers extensive secretion system conservation and diverse antibiotic resistance determinants. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 68, n. 12, p. e0103824, 1 dez. 2024.

PAKHARUKOVA, N. et al. Structural Insight into Archaic and Alternative Chaperone-Usher Pathways Reveals a Novel Mechanism of Pilus Biogenesis. **PLOS Pathogens**, v. 11, n. 11, p. e1005269, 20 nov. 2015.
PARK, J. S. et al. Mechanism of anchoring of OmpA protein to the cell wall peptidoglycan of the gram-negative bacterial outer membrane. **The FASEB Journal**, v. 26, n. 1, p. 219–228, 30 jan. 2012.
PASIECZNA-PATKOWSKA, S.; CICHY, M.; FLIEGER, J. Application of Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy in Characterization of Green Synthesized Nanoparticles. **Molecules**, v. 30, 2025
PATHOOR, N. N. et al. From resistance to treatment: the ongoing struggle with *Acinetobacter baumannii*. **Critical Reviews in Microbiology**, p. 1–22, 6 maio 2025.
PELLETIER et al. Unique structural modifications are present in the lipopolysaccharide from colistin-resistant strains of Acinetobacter baumannii. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 57, 2013.
PENWELL, W. F. et al. Discovery and Characterization of New Hydroxamate Siderophores, Baumannoferrin A and B, produced by *Acinetobacter baumannii*. **ChemBioChem**, v. 16, n. 13, p. 1896–1904, 7 set. 2015.
PENWELL, W. F.; ARIVETT, B. A.; ACTIS, L. A. The Acinetobacter baumannii entA Gene Located Outside the Acinetobactin Cluster Is Critical for Siderophore Production, Iron Acquisition and Virulence. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, p. e36493, 3 maio 2012.
PÉREZ, A. et al. The FhaB/FhaC two-partner secretion system is involved in adhesion of acinetobacter baumannii AbH12o-A2 strain. **Virulence**, v. 8, n. 6, p. 959–974, 5 jan.

2017.

PÉREZ-VARELA, M. et al. Mutations in the β-subunit of the RNA polymerase impair the surface-associated motility and virulence of Acinetobacter baumannii. **Infection and Immunity**, v. 85, n. 8, 1 ago. 2017.

PÉREZ-VARELA, M. et al. Functional Characterization of AbaQ, a Novel Efflux Pump Mediating Quinolone Resistance in Acinetobacter baumannii. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 62, n. 9, set. 2018.

PÉREZ-VARELA, M. et al. Roles of Efflux Pumps from Different Superfamilies in the Surface-Associated Motility and Virulence of Acinetobacter baumannii ATCC 17978. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 63, n. 3, p. e02190-18, 1 mar. 2019.

PIECHAUD, D.; PIECHAUD, M.; SECOND, L. [Proteolytic types of Moraxella lwoffi and Moraxella glucidolytica (Bacterium anitratum)]. **Annales de l'Institut Pasteur**, v. 90, n. 4, p. 517–22, abr. 1956.

PIECHAUD, M.; SECOND, L. [Studies of 26 strains of Moraxella lwoffi]. **Annales de l'Institut Pasteur**, v. 80, n. 1, p. 97–9, jan. 1951.

PLOKHOVSKA, S. et al. Silver nanoparticles coated with metabolites of Pseudomonas sp. N5.12 inhibit bacterial pathogens and fungal phytopathogens. **Scientific Reports**, v. 15, n. 1, p. 1–12, 1 dez. 2025.

POGUE, J. M. et al. Burden of illness in carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii infections in US hospitals between 2014 and 2019. **BMC Infectious Diseases**, v. 22, n. 1, p. 36, 6 dez. 2022.

PROSCHAK, A. et al. Structure and Biosynthesis of Fimsbactins A–F, Siderophores from *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter baylyi*. **ChemBioChem**, v. 14, n. 5, p. 633–638, 18 mar. 2013.

PRYSHCHEPA, O.; POMASTOWSKI, P.; BUSZEWSKI, B. Silver nanoparticles: Synthesis, investigation techniques, and properties. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 284, 2020.

QUAN, K. et al. Water in bacterial biofilms: pores and channels, storage and transport functions. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 48, n. 3, p. 283–302, 4 maio 2022.

RAFIEI, E. et al. The frequency of efflux pump genes expression in Acinetobacter baumannii isolates from pulmonary secretions. **AMB Express**, v. 12, n. 1, 1 dez. 2022.

REN, X.; PALMER, L. D. Acinetobacter Metabolism in Infection and Antimicrobial Resistance. **Infection and Immunity**, v. 91, n. 6, 15 jun. 2023.

ROCA, I. et al. CraA, a Major Facilitator Superfamily Efflux Pump Associated with

Chloramphenicol Resistance in Acinetobacter baumannii. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 9, p. 4013, 2009a.

ROCA, I. et al. CraA, a Major Facilitator Superfamily Efflux Pump Associated with Chloramphenicol Resistance in Acinetobacter baumannii. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 9, p. 4013, 2009b.

ROCA, I. et al. The Acinetobacter baumannii Oxymoron: Commensal Hospital Dweller Turned Pan-Drug-Resistant Menace. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, 2012.

ROLLAUER, S. E. et al. Outer membrane protein biogenesis in Gram-negative bacteria. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 370, n. 1679, p. 20150023, 5 out. 2015.

ROMERO, M. et al. Mushroom-shaped structures formed in Acinetobacter baumannii biofilms grown in a roller bioreactor are associated with quorum sensing–dependent Csu-pilus assembly. **Environmental Microbiology**, v. 24, n. 9, p. 4329, 1 set. 2022a.

ROMERO, M. et al. Mushroom-shaped structures formed in *Acinetobacter baumannii* biofilms grown in a roller bioreactor are associated with quorum sensing–dependent Csu-pilus assembly. **Environmental Microbiology**, v. 24, n. 9, p. 4329–4339, 30 set. 2022b.

ROSHINI, J. et al. Structural diversity among Acinetobacter baumannii K-antigens and its implication in the in silico serotyping. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1191542, 21 jun. 2023.

RUMBO, C. et al. The Acinetobacter baumannii Omp33-36 Porin Is a Virulence Factor That Induces Apoptosis and Modulates Autophagy in Human Cells. **Infection and Immunity**, v. 82, n. 11, p. 4666–4680, nov. 2014.

SALLEH et al. The Potential of Silver Nanoparticles for Antiviral and Antibacterial Applications: A Mechanism of Action. **Nanomaterials**, v. 10, 2020.

SATO, K.; NAKAE, T. Outer membrane permeability of *Acinetobacter calcoaceticus* and its implication in antibiotic resistance. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 28, n. 1, p. 35–45, 1991.

SAW, W. et al. Atomic insights of an up and down conformation of the *Acinetobacter baumannii* <scp> F $_1$ -ATPase </scp> subunit ε and deciphering the residues critical for <scp>ATP</scp> hydrolysis inhibition and <scp>ATP</scp> synthesis. **The FASEB Journal**, v. 37, n. 7, 15 jul. 2023.

SCOFFONE, V. C. et al. The Evolution of Antimicrobial Resistance in Acinetobacter baumannii and New Strategies to Fight It. **Antibiotics**, v. 14, 2025

SCHALK, I. J. Bacterial siderophores: diversity, uptake pathways and applications. **Nature Reviews Microbiology**, v. 23, n. 1, p. 24–40, 5 jan. 2025.

SCHAUB, I. G.; HAUBER, F. D. A Biochemical and Serological Study of a Group of Identical Unidentifiable Gram-negative Bacilli from Human Sources. **Journal of Bacteriology**, v. 56, n. 4, p. 379–385, out. 1948.

SCHAMINF, D.; REMITA, H. Nanotechnology: from the ancient time to nowadays. **Foundations of Chemistry,** v. 17, 2015

SCHMITT, B. L. et al. Increased ompW and ompA expression and higher virulence of Acinetobacter baumannii persister cells. **BMC Microbiology**, v. 23, n. 1, p. 157, 29 maio 2023a.

SCHMITT, B. L. et al. Increased ompW and ompA expression and higher virulence of Acinetobacter baumannii persister cells. **BMC Microbiology**, v. 23, n. 1, p. 157, 1 dez. 2023b.

SCOTT, P. T. et al. Acinetobacter baumannii infections among patients at military medical facilities treating injured U.S. service members, 2002-2004. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 292, n. 24, p. 2964–2966, 22 dez. 2004.

SCRIBANO, D. et al. Acinetobacter baumannii OmpA-like porins: functional characterization of bacterial physiology, antibiotic-resistance, and virulence. **Communications Biology**, v. 7, n. 1, p. 948, 6 ago. 2024.

SHANKAR, S.; RHIM, J. W. Amino acid mediated synthesis of silver nanoparticles and preparation of antimicrobial agar/silver nanoparticles composite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 130, p. 353–363, 5 out. 2015.

SHAPIRO, J. A.; WENCEWICZ, T. A. Structure–function studies of acinetobactin analogs. **Metallomics**, v. 9, n. 5, p. 463–470, 2017.

SHARAR, N. S. et al. Phage-encoded enzymes found in Acinetobacter baumannii convert pseudaminic acid to 8-epipseudaminic acid. **Communications Biology**, v. 8, n. 1, 1 dez. 2025.

SHARMA, A. et al. Fosfomycin resistance in Acinetobacter baumannii is mediated by efflux through a major facilitator superfamily (MFS) transporter—AbaF. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 72, n. 1, p. 68–74, 1 jan. 2017.

SHARMA, R.; LAKHANPAL, D. Acinetobacter baumannii: A comprehensive review of global epidemiology, clinical implications, host interactions, mechanisms of antimicrobial resistance and mitigation strategies. **Microbial Pathogenesis**, v. 204, 1 jul. 2025.

SHELDON, J. R.; SKAAR, E. P. Acinetobacter baumannii can use multiple siderophores for iron acquisition, but only acinetobactin is required for virulence. **PLOS Pathogens**, v. 16, n. 10, p. e1008995, 19 out. 2020.

SHI et al. Acinetobacter baumannii: an evolving and cunning opponent. **Frontiers in Microbiology**, v. 15, 2024

SIMPSON, B. W. et al. Acinetobacter baumannii Can Survive with an Outer Membrane Lacking Lipooligosaccharide Due to Structural Support from Elongasome Peptidoglycan Synthesis. **mBio**, v. 12, n. 6, p. e03099-21, 1 dez. 2021.

SINGH, J. K.; ADAMS, F. G.; BROWN, M. H. Diversity and Function of Capsular Polysaccharide in Acinetobacter baumannii. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. JAN, p. 3301, 2019a.

SINGH, J. K.; ADAMS, F. G.; BROWN, M. H. Diversity and function of capsular polysaccharide in Acinetobacter baumannii. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. JAN, p. 429550, 9 jan. 2019b.

SIROY, A. et al. Channel Formation by CarO, the Carbapenem Resistance-Associated Outer Membrane Protein of *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 12, p. 4876–4883, dez. 2005.

SKERNIŠKYTĖ, J. et al. The Mutation of Conservative Asp268 Residue in the Peptidoglycan-Associated Domain of the OmpA Protein Affects Multiple Acinetobacter baumannii Virulence Characteristics. **Molecules**, v. 24, n. 10, p. 1972, 22 maio 2019.

SMANI, Y.; DOMINGUEZ-HERRERA, J.; PACHON, J. Association of the Outer Membrane Protein Omp33 With Fitness and Virulence of Acinetobacter baumannii. **Journal of Infectious Diseases**, v. 208, n. 10, p. 1561–1570, 15 nov. 2013.

SMITH, M. G. et al. New insights into *Acinetobacter baumannii* pathogenesis revealed by high-density pyrosequencing and transposon mutagenesis. **Genes & Development**, v. 21, n. 5, p. 601–614, 1 mar. 2007.

SNEATH, P. H. A.; MCGOWAN, V.; SKERMAN, V. B. D. Approved Lists of Bacterial Names. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 30, n. 1, p. 225–420, 1 jan. 1980.

SRINIVASAN, V. B.; VAIDYANATHAN, V.; RAJAMOHAN, G. AbuO, a TolC-Like Outer Membrane Protein of Acinetobacter baumannii, Is Involved in Antimicrobial and Oxidative Stress Resistance. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 59, n. 2, p. 1236–1245, fev. 2015.

STAHL, J. et al. Acinetobacter baumannii virulence is mediated by the concerted action

of three phospholipases D. **PLoS ONE**, v. 10, n. 9, 17 set. 2015.

STETEFELD, J.; MCKENNA, S. A.; PATEL, T. R. Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences. **Biophysical Reviews**, v. 8, 2016.

SU, X. Z. et al. AbeM, an H+-coupled Acinetobacter baumannii multidrug efflux pump belonging to the MATE family of transporters. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 10, p. 4362–4364, out. 2005.

SUGAWARA, E.; NIKAIDO, H. OmpA Is the Principal Nonspecific Slow Porin of Acinetobacter baumannii. **Journal of Bacteriology**, v. 194, n. 15, p. 4089–4096, ago. 2012.

SYCZ, G. et al. Modern Acinetobacter baumannii clinical isolates replicate inside spacious vacuoles and egress from macrophages. **PLOS Pathogens**, v. 17, n. 8, p. e1009802, 9 ago. 2021.

SZCZEPANIAK, J.; WEBBY, M. N. The Tol Pal system integrates maintenance of the three layered cell envelope. **npj Antimicrobials and Resistance**, v. 2, n. 1, p. 46, 5 dez. 2024.

TAN, H.; CAO, L. *Acinetobacter baumannii* outer membrane protein A induces autophagy in bone marrow-derived dendritic cells involving the PI3K/mTOR pathway. **Immunity, Inflammation and Disease**, v. 11, n. 4, 12 abr. 2023.

TEN, K. E.; RAHMAN, S.; TAN, H. S. Transcriptomic insights into the virulence of *Acinetobacter baumannii* during infection—role of iron uptake and siderophore production genes. **FEBS Letters**, v. 599, n. 1, p. 120–139, 21 jan. 2025.

TERRY, N. Photosynthesis, Growth, and the Role of Chloride. **Plant Physiology**, v. 60, 1977.

TILLEY, D. et al. CpaA a novel protease from Acinetobacter baumannii clinical isolates deregulates blood coagulation. **FEMS Microbiology Letters**, v. 356, n. 1, p. 53–61, 1 jul. 2014.

TIWARI, V. et al. Comparative Proteomics of Inner Membrane Fraction from Carbapenem-Resistant Acinetobacter baumannii with a Reference Strain. **PLoS ONE**, v. 7, n. 6, p. e39451, 26 jun. 2012.

TOMARAS, A. P. et al. Attachment to and biofilm formation on abiotic surfaces by Acinetobacter baumannii: involvement of a novel chaperone-usher pili assembly system. **Microbiology**, v. 149, n. 12, p. 3473–3484, 1 dez. 2003.

TOMÁS, M. DEL M. et al. Cloning and Functional Analysis of the Gene Encoding the 33- to 36-Kilodalton Outer Membrane Protein Associated with Carbapenem

Resistance in *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 12, p. 5172–5175, dez. 2005.

TOWNER, K. The Genus Acinetobacter. In: **The Prokaryotes**. New York, NY: Springer New York, 2006. p. 746–758.

TUGELBAY, S. et al. Enhanced photocatalytic antibacterial Ag3PO4/AgCl nanocomposites for water purification from organic and microbial contaminants. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 13, 2025.

UPMANYU, K. et al. Exploring the evolutionary and pathogenic role of Acinetobacter baumannii biofilm-associated protein (Bap) through in silico structural modeling. **Archives of Microbiology**, v. 206, n. 6, p. 267, 18 jun. 2024.

UPPALAPATI, S. R.; SETT, A.; PATHANIA, R. The Outer Membrane Proteins OmpA, CarO, and OprD of Acinetobacter baumannii Confer a Two-Pronged Defense in Facilitating Its Success as a Potent Human Pathogen. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 6 out. 2020.

VANOTTERLOO, L. M. et al. Characterization of *Acinetobacter baumannii* core oligosaccharide synthesis reveals novel aspects of lipooligosaccharide assembly. **mBio**, v. 15, n. 3, 13 mar. 2024.

VILA, J.; MARTÍ, S.; SÁNCHEZ-CÉSPEDES, J. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in Acinetobacter baumannii. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 59, n. 6, p. 1210–1215, 1 jun. 2007.

WAN et al. Effects of silver nanoparticles in combination with antibiotics on the resistant bacteria Acinetobacter baumannii. **International Journal of Nanomedicine**, v. 11, 2016.

WILEY et al. Maneuvering the Surface Plasmon Resonance of Silver Nanostructures through Shape-Controlled Synthesis. **The Journal of Physical Chemistry** B, v. 110.

WIMALASEKARA, R. L.; WHITE, D.; KUMAR, A. Targeting Acinetobacter baumannii resistance-nodulation-division efflux pump transcriptional regulators to combat antimicrobial resistance. **npj Antimicrobials and Resistance 2025 3:1**, v. 3, n. 1, p. 1–9, 25 jan. 2025.

WU, X. et al. In vivo protein interaction network analysis reveals porin-localized antibiotic inactivation in Acinetobacter baumannii strain AB5075. **Nature Communications**, v. 7, n. 1, p. 13414, 11 nov. 2016a.

WU, X. et al. In vivo protein interaction network analysis reveals porin-localized antibiotic inactivation in Acinetobacter baumannii strain AB5075. **Nature**

Communications, v. 7, n. 1, p. 13414, 11 nov. 2016b.

XIE, L. et al. Contribution of RND superfamily multidrug efflux pumps AdeABC, AdeFGH, and AdeIJK to antimicrobial resistance and virulence factors in multidrug-resistant Acinetobacter baumannii AYE. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 69, n. 7, 23 maio 2025.

YAMAMOTO, S.; OKUJO, N.; SAKAKIBARA, Y. Isolation and structure elucidation of acinetobactin., a novel siderophore from Acinetobacter baumannii. **Archives of Microbiology**, v. 162, n. 4, p. 249–254, out. 1994.

YOON, E. J. et al. Contribution of the Ade Resistance-Nodulation-Cell Division-Type Efflux Pumps to Fitness and Pathogenesis of Acinetobacter baumannii. **mBio**, v. 7, n. 3, p. e00697-16, 2016.

YUN, S. H. et al. Proteomic analysis of outer membrane proteins from Acinetobacter baumannii DU202 in tetracycline stress condition. **Journal of Microbiology**, v. 46, n. 6, p. 720–727, 24 dez. 2008.

ZAHN, M. et al. Small-Molecule Transport by CarO, an Abundant Eight-Stranded β-Barrel Outer Membrane Protein from Acinetobacter baumannii. **Journal of Molecular Biology**, v. 427, n. 14, p. 2329–2339, jul. 2015.

ZAHN, M. et al. Structural Insights into Outer Membrane Permeability of Acinetobacter baumannii. **Structure**, v. 24, n. 2, p. 221–231, fev. 2016.

ZHANG, W. et al. Acinetobacter baumannii Outer Membrane Protein A Induces Pulmonary Epithelial Barrier Dysfunction and Bacterial Translocation Through The TLR2/IQGAP1 Axis. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 927955, 30 jun. 2022.

ZHAO, D. et al. Outer membrane protein a in Acinetobacter baumannii induces autophagy through mTOR signalling pathways in the lung of SD rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 135, p. 111034, mar. 2021.

ZHOU, X. et al. Chemical Synthesis and Antigenic Evaluation of Inner Core Oligosaccharides from *Acinetobacter baumannii* Lipopolysaccharide. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 61, n. 29, 18 jul. 2022.

ZHU, L.; CHEN, X.; HOU, P. Mutation of CarO participates in drug resistance in imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, v. 33, n. 8, 18 out. 2019.