



Scientific Electronic Archives

Issue ID: Vol.19 (3), May/June 2026, p. 1-5
DOI: <http://dx.doi.org/10.36560/19320262188>
+ Corresponding author: raimundoluizbio@gmail.com

Atividade antibacteriana e modificação da ação antibiótica do citral frente a cepas de *Acinetobacter baumannii*

Antibacterial activity and modulation of antibiotic action of citral against *Acinetobacter baumannii* strains

Gabriela Felix Leite¹, Raimundo Luiz Silva Pereira¹*, Isaac Moura Araújo², Cicera Laura Roque Paulo², Dárcio Luiz de Sousa Júnior¹, Marina Micaelle Rodrigues Siqueira¹

¹ Centro Universitário Maurício de Nassau

² Universidade Regional do Cariri

Resumo. A resistência antimicrobiana constitui um dos principais desafios de saúde pública contemporâneos, impulsionando a busca por novas estratégias terapêuticas, incluindo o uso de compostos naturais como agentes antimicrobianos ou moduladores da atividade antibiótica. O citral, um monoterpeno presente em *Cymbopogon citratus*, tem demonstrado potencial antimicrobiano frente a diferentes patógenos bacterianos. Diante disso, este estudo teve como objetivo avaliar a atividade antibacteriana intrínseca do citral e sua capacidade de modificar a ação de antibióticos frente a *Acinetobacter baumannii*. A concentração inibitória mínima (CIM) do citral foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, utilizando resazurina como indicador de viabilidade bacteriana. A atividade moduladora foi avaliada por meio da associação do citral, em concentração subinibitória, com os antibióticos ciprofloxacina, gentamicina e oxacilina. Os ensaios foram realizados em triplicata e analisados estatisticamente por ANOVA one-way, seguida do teste de Tukey. Os resultados demonstraram que o citral apresentou atividade antibacteriana direta moderada, com valores de CIM variando entre 512 e 1024 µg/mL. No entanto, as associações entre o citral e os antibióticos testados não promoveram alterações significativas nas CIMs, sendo classificadas como efeito indiferente. Esses achados sugerem que, embora o citral exerça ação antimicrobiana direta, sua capacidade de potencializar antibióticos frente a *A. baumannii* é limitada nas condições experimentais avaliadas, possivelmente em função dos complexos mecanismos de resistência e da baixa permeabilidade da membrana externa desse patógeno. Conclui-se que o citral apresenta potencial como agente antimicrobiano natural, porém novos estudos são necessários para explorar diferentes combinações terapêuticas e estratégias que ampliem sua eficácia frente a bactérias multirresistentes.

Palavras-chaves resistência antimicrobiana, citral, *Acinetobacter baumannii*, modulação antibiótica, monoterpenos.

Abstract. Antimicrobial resistance represents one of the major public health challenges of the contemporary era, driving the search for new therapeutic strategies, including the use of natural compounds as antimicrobial agents or antibiotic activity modulators. Citral, a monoterpene present in *Cymbopogon citratus*, has demonstrated antimicrobial potential against different bacterial pathogens. Therefore, this study aimed to evaluate the intrinsic antibacterial activity of citral and its ability to modulate the action of antibiotics against *Acinetobacter baumannii*. The minimum inhibitory concentration (MIC) of citral was determined by the broth microdilution method, using resazurin as a bacterial viability indicator. The modulatory activity was assessed by combining citral at a sub-inhibitory concentration with the antibiotics ciprofloxacin, gentamicin, and oxacillin. All assays were performed in triplicate and statistically analyzed using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test. The results demonstrated that citral exhibited moderate intrinsic antibacterial activity, with MIC values ranging from 512 to 1024 µg/mL. However, the combinations of citral with the tested antibiotics did not produce significant changes in MIC values and were therefore classified as showing an indifferent effect. These findings suggest that although citral exerts direct antimicrobial activity, its ability to potentiate antibiotic efficacy against *A. baumannii* is limited under the experimental conditions evaluated, likely due to the complex resistance mechanisms and low permeability of the outer membrane characteristic of this pathogen. In conclusion, citral shows potential as a natural

antimicrobial agent; however, further studies are required to investigate alternative therapeutic combinations and strategies to enhance its effectiveness against multidrug-resistant bacteria.

Keywords: antimicrobial resistance, citral, *Acinetobacter baumannii*, antibiotic modulation, monoterpenes.

Introdução

A resistência antimicrobiana (RAM) figura entre os maiores desafios sanitários da atualidade. Estimativas da Organização Mundial da Saúde indicam que, na ausência de intervenções eficazes, infecções causadas por microrganismos resistentes poderão provocar até 10 milhões de mortes anuais em 2050, superando o câncer e o diabetes como principais causas de óbito. Além de aumentar significativamente a mortalidade, a RAM eleva o tempo de internação, dobra ou até triplica os custos hospitalares e compromete a segurança de procedimentos complexos, como transplantes, quimioterapia e cirurgias de grande porte (Bremmer, 2016).

Os mecanismos que sustentam a resistência antimicrobiana incluem a produção de enzimas inativadoras, como as β -lactamases, alterações nos alvos moleculares, redução da permeabilidade da membrana e a ação de bombas de efluxo, que frequentemente operam de forma simultânea. A disseminação desses determinantes genéticos é intensificada pela mobilidade global e pelo uso indiscriminado de antibióticos na medicina humana, na pecuária e na agricultura. Nesse contexto, compostos naturais de amplo espectro, especialmente os monoterpenos, têm se destacado como alternativas promissoras, uma vez que atuam em múltiplos alvos celulares e apresentam menor propensão ao desenvolvimento de resistência cruzada (Kyriakidis, 2021; Sudarikov, 2025).

O citral, uma mistura dos isômeros geranial e neral presentes em *Cymbopogon citratus*, destaca-se como um monoterpeno de reconhecida ação antimicrobiana. Estudos *in vitro* demonstram que esse composto é capaz de desestabilizar a bicamada lipídica, comprometer a síntese de ATP e induzir estresse oxidativo em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Além disso, pesquisas recentes apontam sua baixa toxicidade em doses terapêuticas e seu potencial sinérgico com antibióticos convencionais, favorecendo a redução das concentrações mínimas inibitórias. Ensaio com formulações tópicas também evidenciam boa viabilidade tecnológica e estabilidade do citral em matrizes lipídicas e poliméricas (Mukarram, 2021; Selvaraj, 2020).

Diversos patógenos, entre eles *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*, respondem ao citral com redução significativa do crescimento, da viabilidade e da formação de biofilmes. Em cepas produtoras de carbapenemase, a combinação de citral com β -lactâmicos pode recuperar, ao menos parcialmente, a eficácia reduzida desses fármacos, consolidando o composto como um potencial agente adjuvante no enfrentamento da resistência antimicrobiana

adjuvante terapêutico em cenários de resistência antimicrobiana (Bremmer, 2016; Bassetti, 2008).

Diante do aumento das infecções causadas por bactérias patogênicas, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito intrínseco do citral, bem como sua ação em associação com antibióticos, frente a *Acinetobacter baumannii*.

Metodologia

Microrganismos

A cepa bacteriana utilizada foi a de *Acinetobacter baumannii*. Mantida em ágar de infusão de coração (HIA, Difco Laboratories Ltda., Detroit-MI, EUA). Antes da realização dos ensaios, a cepa foi cultivada por 24 h a 37 ° C. Foi adquirida da coleção de micro-organismos do Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular- LMBM da Universidade Regional do Cariri-URCA.

Drogas e reagentes

Para avaliação da atividade potencializadora de antibióticos do Citral foram utilizados os antibióticos: gentamicina, Ciprofloxacino e Oxacilina. Sendo que a gentamicina e Oxacilina, foram dissolvidos em água destilada estéril na concentração de 1024 $\mu\text{g} / \text{mL}$ e o norfloxacino previamente diluído em 0,5 mL de dimetilsulfóxido (DMSO), com subsequente diluição em 9265 mL de água.

A concentração de DMSO na solução final será de 5%, valor inferior aos limites máximos estabelecidos pelo Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais CLSI. O reagente resazurina sódica (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), foi pesado 0,02mg para 50mL de água destilada estéril onde o mesmo é um indicador bacteriano colorimétrico de crescimento por oxirredução, a ser utilizado para a leitura dos ensaios.

Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada pelo método de microdiluição em caldo. Para sua confecção, foi utilizada uma placa de microdiluição estéril de 96 poços, e um meio de distribuição foi preparado em microtubos contendo uma solução de 1 mL composta por 900 μL de BHI 10% e 100 μL da suspensão bacteriana.

A placa de microdiluição foi preenchida no sentido numérico, adicionando-se 100 μL da solução de distribuição em cada cavidade, a seguir realizada a microdiluição serial com 100 μL da solução teste, com concentrações finais variando de 512 a 8 $\mu\text{g} / \text{mL}$, até a penúltima cavidade, uma vez que está se destinava ao controle do crescimento microbiano. As placas foram incubadas por 24 h a 35 ° C. Para a leitura das placas com bactérias, foi adicionado 20 μL de resazurina e, após 1 h em temperatura ambiente, onde foi realizada a leitura.

Atividade modificadora da ação antibiótica

A metodologia proposta foi usada para avaliar o potencial Citral para modificar a ação dos antibióticos. A solução foi diluída em uma concentração sub-inibitória. O meio foi preparado em microtubos contendo cada BHI 10% + 150 µL da suspensão bacteriana + substância, chegando a 1,5 mL de solução. Para o controle, a solução de 1,5 mL continha apenas 10% de BHI + 150 µL de suspensão microbiana. A placa de microdiluição foi preenchida em ordem alfabética, adicionando 100 µL da solução de distribuição em cada cavidade, em seguida, fazendo a microdiluição em série (proporção de 1: 1) com 100 µL do fármaco (antibiótico), até a penúltima cavidade, então as placas foram incubadas em 37 ° C por 24 h. As concentrações dos antibióticos variaram gradativamente de 1.024 a 1 µg / mL. A leitura foi realizada da mesma forma que o experimento da MIC.

Análise estatística

Os ensaios antibacterianos foram feitos em triplicata, e os resultados expressos em média geométrica para avaliação da atividade antibacteriana. A média geométrica será obtida a partir do resultado da raiz cúbica da multiplicação dos três termos: (valor 1 × valor 2 × valor 3). Posteriormente, o desvio padrão desses três valores foi calculado e transformado em escala logarítmica e, em seguida, o desvio padrão logarítmico calculado e multiplicado por 10 para obter um número natural. Uma análise estatística ANOVA one-way foi aplicada para a análise da atividade antimicrobiana modulatória dos nanotubos de titanato, tendo o teste de Tukey como um teste post hoc para ambas as análises, foi no software GraphPadPrism 6.0.

Resultados e discussões

Os resultados referentes à atividade antibacteriana direta do composto central frente à bactéria testada foram de 512 µL, 1024 µL e 1024 µL, correspondentes às três repetições experimentais. Esses valores indicam uma atividade antibacteriana direta moderada. O efeito antibacteriano do citral está associado às suas propriedades físico-químicas, especialmente ao caráter lipofílico e à presença do grupo aldeído, que favorecem sua interação com a membrana citoplasmática bacteriana. Esse composto é capaz de se inserir na bicamada fosfolipídica, promovendo desorganização estrutural, aumento da permeabilidade e extravasamento de íons, ATP e

metabólitos essenciais, resultando na perda da homeostase celular (Mukarram, 2021). Além disso, o citral pode induzir estresse oxidativo, com a formação de espécies reativas de oxigênio que danificam proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos, comprometendo funções metabólicas vitais da célula bacteriana (Selvaraj, 2020).

Paralelamente, estudos demonstram que o citral também interfere na integridade e na biossíntese da parede celular bacteriana. Em bactérias Gram-positivas, o enfraquecimento do peptidoglicano aumenta a suscetibilidade à lise celular, enquanto, nas Gram-negativas, apesar da presença da membrana externa rica em lipopolissacarídeos, o citral é capaz de promover alterações no envelope celular e na expressão de genes relacionados à manutenção estrutural (Selvaraj, 2020). Esses mecanismos explicam a atividade antibacteriana moderada observada nos valores experimentais de 512 e 1024 µL, indicando que, nas concentrações testadas, o citral foi capaz de inibir o crescimento bacteriano por meio de danos estruturais e metabólicos, sem promover completa erradicação celular. Quanto à modificação antibiótica, os resultados demonstram que todas as associações entre antibióticos e citral frente a *Acinetobacter baumannii* foram classificadas como efeito indiferente (IND), uma vez que as concentrações inibitórias mínimas (CIMs) permaneceram inalteradas tanto para a ciprofloxacina quanto para a gentamicina e a oxacilina, quando avaliadas nas condições experimentais estabelecidas testadas isoladamente ou em associação ao citral, indicando ausência de efeito modificador relevante nas condições experimentais avaliadas.

O primeiro fator que explica a ausência de efeito modulador do citral está relacionado à complexa barreira estrutural da membrana externa de bactérias Gram-negativas, como *Acinetobacter baumannii*, que apresenta uma bicamada lipídica altamente seletiva, rica em lipopolissacarídeos (LPS), dificultando a penetração de compostos hidrofóbicos (Carvalho, 2021; Kyriakidis, 2021).

Estudos têm indicado que esse terpeno exerce sua ação principalmente por meio da desorganização da membrana citoplasmática. Contudo, sua eficácia se mostra muito mais evidente em microrganismos Gram-positivos, cuja ausência de membrana externa facilita o acesso do composto às estruturas internas. Já nas bactérias Gram-negativas, essa barreira adicional reduz de maneira significativa sua biodisponibilidade intracelular, o que limita também o seu efeito de potencialização de antibióticos (Selvaraj, 2020).

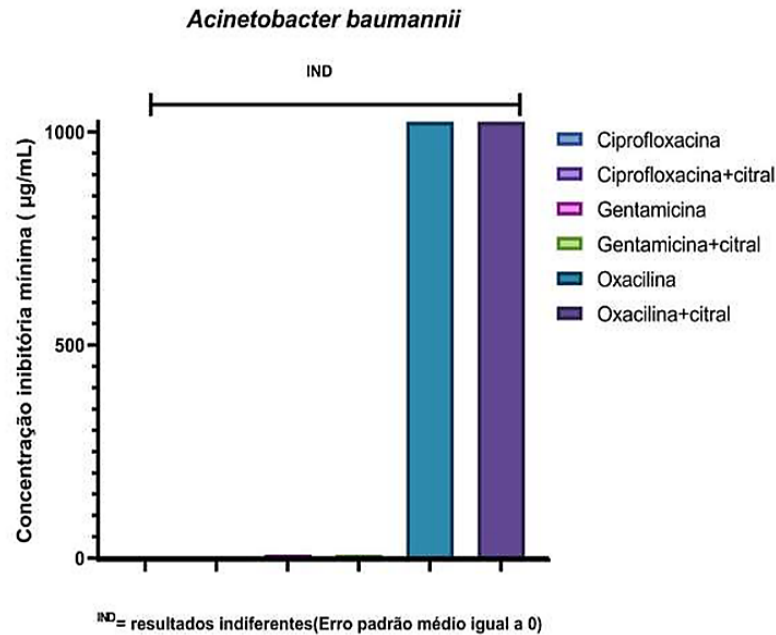


Figura 1: Gráfico da modificação antibiótica do Citral com os antibióticos

Além disso, esse patógeno apresenta um repertório altamente sofisticado de mecanismos enzimáticos voltados à inativação de antibióticos, destacando-se a produção de β -lactamases de amplo espectro, enzimas modificadoras de aminoglicosídeos e alterações estruturais nos alvos das fluoroquinolonas, como mutações na DNA girase e na topoisomerase IV. Esses mecanismos, muitas vezes operando de maneira simultânea, conferem à bactéria não apenas elevada capacidade de sobreviver à exposição a múltiplas classes de antimicrobianos, mas também favorecem a manutenção de fenótipos de resistência mesmo em condições de pressão seletiva reduzida. A presença combinada de tais fatores reduz drasticamente a eficácia terapêutica dos fármacos disponíveis e limita o impacto de agentes adjuvantes ou moduladores, contribuindo para taxas elevadas de falha clínica e persistência das infecções (Kyriakidis, 2021; Maslova, 2022; Bassetti, 2008; Michalopoulos, 2010).

Dessa forma, mesmo que o citral exerça algum grau de desorganização de membrana, ele não é capaz de reverter mutações nos sítios-alvo ou bloquear enzimas inativadoras, o que justifica o efeito farmacodinâmico indiferente observado experimentalmente. A complexidade da resistência em *Acinetobacter baumannii* frequentemente exige combinações específicas e previamente testadas quanto à sinergia, a fim de superar seus múltiplos mecanismos de defesa (Bremmer, 2016).

Conclusão

Diante da crescente ameaça global representada pela resistência antimicrobiana, a busca por novas estratégias terapêuticas, incluindo o reposicionamento de compostos naturais como

agentes moduladores, configura-se como uma frente de pesquisa fundamental e urgente. Neste estudo, investigou-se o potencial do citral, um monoterpene de origem natural, frente a linhagens de *Acinetobacter baumannii*, patógeno prioritário devido à sua notória capacidade de desenvolver resistência a múltiplas classes de antimicrobianos. Os resultados demonstraram que, nas condições in vitro estabelecidas, o citral apresentou atividade antibacteriana intrínseca moderada, porém não potencializou a ação dos antibióticos ciprofloxacina, gentamicina e oxacilina, resultando em uma interação classificada como indiferente. A ausência de efeito modulador reforça a complexidade dos mecanismos de resistência empregados por *A. baumannii*, especialmente a presença de uma membrana externa de baixa permeabilidade e de sistemas de efluxo altamente eficientes, que podem impedir a adequada internalização e a ação sinérgica das combinações testadas. Embora o citral não tenha se mostrado um modificador da atividade dos antibióticos avaliados neste modelo específico, seu efeito antimicrobiano direto merece atenção e validação em estudos futuros, os quais devem explorar diferentes concentrações do monoterpene, outras classes de antibióticos, como polimixinas ou tetraciclina, associações com agentes permeabilizantes de membrana e sua eficácia frente a perfis de resistência distintos. Assim, apesar do resultado neutro na modulação antibiótica, a investigação de compostos naturais permanece um caminho promissor e necessário no enfrentamento da resistência antimicrobiana, exigindo abordagens contínuas, inovadoras e multidisciplinares.

Agradecimentos.

Os autores expressam seus sinceros agradecimentos ao Centro Universitário Maurício de Nassau e Universidade Regional do Cariri, pelo suporte institucional, infraestrutura disponibilizada e incentivo ao desenvolvimento científico.

Referencias

BASSETTI, Matteo *et al.* Drug treatment for multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *Future Microbiology*, v. 3, n. 6, p. 649–660, 2008. Acesso em: 1 dez. 2025.

BREMMER, D. N. *et al.* Correlation of checkerboard synergy testing with time-kill analysis and clinical outcomes of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* respiratory infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 60, n. 11, p. 6892–6895, 2016. Acesso em: 1 dez. 2025.

CARVALHEIRA, Ana *et al.* *Acinetobacter* spp. in food and drinking water – A review. *Food Microbiology*, v. 95, p. 103675, 2021. Acesso em: 5 dez. 2025.

KUTLU, Selda Sayin *et al.* Successful treatment of a patient with multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* meningitis with high-dose ampicillin/sulbactam. *Mikrobiyoloji Bulteni*, v. 42, n. 2, p. 353–358, 2008. Acesso em: 2 dez. 2025.

KYRIAKIDIS, I. *et al.* *Acinetobacter baumannii* antibiotic resistance mechanisms. *Pathogens*, v. 10, n. 3, p. 373, 2021. Acesso em: 3 dez. 2025.

MASLOVA, Olga *et al.* Plasmids as key players in *Acinetobacter* adaptation. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, n. 18, p. 10893, 2022. Acesso em: 3 dez. 2025.

MICHALOPOULOS, Argyris *et al.* Treatment of *Acinetobacter* infections. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, v. 11, n. 5, p. 779–788, 2010. Acesso em: 3 dez. 2025.

MUKARRAM, M. *et al.* Lemongrass essential oil components with antimicrobial and anticancer activities. *Antioxidants*, v. 11, n. 1, p. 20, 2021. Acesso em: 4 dez. 2025.

SELVARAJ, A. *et al.* Proteomic and systematic functional profiling unveils citral targeting antibiotic resistance, antioxidant defense, and biofilm-associated two-component systems of *Acinetobacter baumannii* to encumber biofilm and virulence traits. *mSystems*, v. 5, n. 6, e00986-20, 2020. Acesso em: 4 dez. 2025.

SUDARIKOV, Denis V. *et al.* Monoterpene thiols: synthesis and modifications for obtaining biologically active substances. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, n. 21, p. 15884, 2023. Acesso em: 4 dez. 2025.