

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

AMANDA MOURA GONÇALVES

AVALIAÇÃO DA INIBIÇÃO DA BOMBA DE EFLUXO MepA EM *Staphylococcus aureus* POR DERIVADOS TIAZÓLICOS À BASE DE EUGENOL

Juazeiro do Norte – CE
2025

AMANDA MOURA GONÇALVES

AVALIAÇÃO DA INIBIÇÃO DA BOMBA DE EFLUXO MepA EM *Staphylococcus aureus* POR DERIVADOS TIAZÓLICOS À BASE DE EUGENOL

Trabalho de Conclusão de Curso – Artigo científico, apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientador: Me. Ray Silva de Almeida.

Juazeiro do Norte – CE
2025

AMANDA MOURA GONÇALVES

AVALIAÇÃO DA INIBIÇÃO DA BOMBA DE EFLUXO MepA EM *Staphylococcus aureus* POR DERIVADOS TIAZÓLICOS À BASE DE EUGENOL

Trabalho de Conclusão de Curso – Artigo científico, apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientador: Me. Ray Silva de Almeida.

Data de aprovação: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof(a): Me. Ray Silva de Almeida
Orientador

Prof(a): Dra. Ana Carolina Ferreira Araújo
Examinadora 1

Prof(a): Dra. Priscilla Ramos Freitas Alexandre
Examinadora 2

AVALIAÇÃO DA INIBIÇÃO DA BOMBA DE EFLUXO MepA EM *Staphylococcus aureus* POR DERIVADOS TIAZÓLICOS À BASE DE EUGENOL

Amanda Moura Gonçalves¹ ; Ray Silva de Almeida²

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial inibitório de derivados tiazólicos à base de eugenol frente à bomba de efluxo MepA em *Staphylococcus aureus*. Foi utilizada cepa bacteriana portadora da bomba MepA, submetidas à determinação da concentração inibitória mínima (CIM) dos compostos LF12 e LF26, além do controle positivo CCCP. Também foram realizados testes de modificação da ação antibiótica de resistência bacteriana por meio da redução da CIM do brometo de etídio e da ciprofloxacina, utilizando análise estatística por ANOVA. Os resultados mostraram que ambos os compostos apresentaram baixa atividade antimicrobiana direta ($CIM \geq 1024 \mu\text{g/mL}$), porém o derivado LF12 reduziu significativamente a CIM do brometo de etídio, indicando possível ação inibitória sobre a bomba de efluxo MepA. Em contrapartida, o composto LF26 não modificou essa bomba, mas potencializou a ação do antibiótico ciprofloxacina, sugerindo outro mecanismo de interferência na resistência bacteriana. Dessa forma, conclui-se que os derivados tiazólicos à base de eugenol possuem potencial modificador de resistência, reforçando sua importância como candidatos a adjuvantes terapêuticos no combate a infecções por cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus*.

Palavras chave: *Staphylococcus aureus*. Eugenol. Bombas de efluxo. Resistência bacteriana. Derivados tiazólicos.

1 INTRODUÇÃO

Staphylococcus aureus é um microrganismo de grande relevância médica, reconhecido há muitos anos como um dos principais causadores de infecções em humanos. Pertencente à família Micrococcaceae e ao gênero *Staphylococcus*, que inclui mais de 30 espécies, muitas delas vivem naturalmente na pele e nas mucosas (Martínez; Partida; Elena, 2025). Embora as infecções cutâneas locais, na maioria das vezes, se resolvam espontaneamente, ocasionalmente elas podem servir como porta de entrada para esse patógeno alcançar os tecidos profundos e a corrente sanguínea, sendo, na realidade, a fonte mais frequentemente identificada de bacteremia por *Staphylococcus aureus* (Kwiecinski; Horswill, 2020).

Resistência intrínseca não depende da quantidade de antibiótico utilizada e está presente independentemente da exposição prévia ao fármaco e já a resistência adquirida ocorre quando uma espécie bacteriana, originalmente sensível a determinado antibiótico, passa a apresentar resistência devido a alterações genéticas, seja por mutações ou pela incorporação de genes de resistência através de plasmídeos, transposons ou integrons (Pérez; Robles, 2013).

A bomba de efluxo MepA é uma proteína presente em bactérias como *Staphylococcus aureus*, codificada pelo gene *mepA*. Ela faz parte da família MATE, composta por bombas de

efluxo que eliminam diversos fármacos e toxinas da célula. Seu funcionamento depende do gradiente de prótons, utilizando uma troca de íons sódio como fonte de energia para transportar os substratos (Martin, 2023).

No contexto da descoberta de novos candidatos a fármacos, a natureza se destaca como uma fonte valiosa para a medicina, uma vez que diversas espécies vegetais produzem substâncias naturais com atividade biológica. Entre esses compostos, o eugenol se destaca por ser uma substância natural (Nakao, 2024).

A síntese de compostos tiazólicos pode ser realizada por meio de diversas metodologias, destacando-se entre elas a reação de Hantzsch como um método clássico. Essa técnica possibilita a produção de derivados tiazólicos com variações estruturais que aumentam seu potencial terapêutico. No processo de desenvolvimento de novos medicamentos, a química computacional e a modelagem molecular têm assumido um papel fundamental, favorecendo a otimização das interações entre moléculas biológicas e a descoberta de novos alvos terapêuticos (Kalashnikov *et al.*, 2024). Além disso, a nanotecnologia e a engenharia molecular vêm sendo integradas ao design de compostos heterocíclicos inovadores, contribuindo para maior seletividade e segurança nos tratamentos de várias doenças. Assim, o avanço constante nas técnicas de síntese e o uso de tecnologias emergentes reforçam a relevância dos compostos heterocíclicos na medicina contemporânea (Chagh *et al.*, 2022).

A resistência bacteriana representa um dos principais desafios da saúde pública global, especialmente no combate ao *Staphylococcus aureus*, um patógeno oportunista frequentemente associado a infecções hospitalares e comunitárias.

Entre os mecanismos utilizados por essa bactéria para resistir aos antimicrobianos, destacou-se a ação de bombas de efluxo, como a MepA, que atuam na expulsão ativa dos fármacos, reduzindo sua concentração intracelular e, conseqüentemente, sua eficácia. A investigação de estratégias capazes de inibir essas bombas, juntamente com a avaliação da permeabilidade da membrana bacteriana, constituiu uma abordagem promissora para potencializar a ação de antimicrobianos.

Nesse contexto, a utilização de derivados tiazólicos representa uma alternativa inovadora no enfrentamento de cepas resistentes. Este estudo justificou-se pela necessidade urgente de identificar novas estratégias terapêuticas e adjuvantes farmacológicos que contribuíssem para o controle eficaz de infecções causadas por bactérias multirresistentes.

Avaliou-se os efeitos da inibição da bomba de efluxo MepA e da alteração da permeabilidade da membrana na susceptibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* por derivados tiazólicos à base de eugenol.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 METODOLOGIA

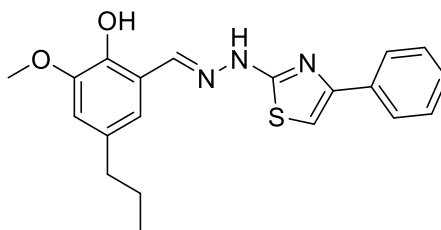
2.1.1 Microrganismo

Para a realização dos testes foram utilizadas cepas bacterianas portadoras de bomba de efluxo *Staphylococcus aureus* K2068, portadora da bomba MepA. A bactéria foi doada pelo Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular – LMBM, da Universidade Regional do Cariri. Para a realização dos testes as cepas foram cultivadas em meio de cultura *Brain Heart Infusion* (BHI), 24 horas antes do teste e incubadas a uma temperatura de 37 °C.

2.1.2 Preparação das soluções e antibióticos

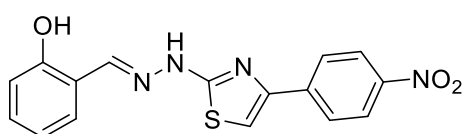
Os derivados tiazólicos baseados no eugenol foram cedidos pela professora Dra. Danielle Ferreira do Instituto de Química – UNIFAL-MG. O antibiótico ciprofloxacina e as substâncias *Carbonyl Cyanide m-ChloroPhenyl-hydrazone* - CCCP e brometo de etídio foram obtidos através do fabricante Sigma Aldrich. Em relação ao preparo destas substâncias, cada uma foi pesada 10 mg e diluída em 500 µL de solvente dimetilsufóxido (DMSO), com exceção do brometo de etídio que foi diluído totalmente em água destilada estéril. Após essa diluição prévia em DMSO, cada composto, antibiótico e substância foi adicionado a 9,265 mL de água destilada estéril, resultando em uma concentração inicial de 1.024 µg/mL para cada composto, antibiótico e substância.

LF 12



(*E*)-2-methoxy-6-((2-(4-phenylthiazol-2-yl)hydrazineylidene)methyl)-4-propylphenol
 Chemical Formula: C₂₀H₂₁N₃O₂S

LF 26



(*E*)-2-((2-(4-(4-nitrophenyl)thiazol-2-yl)hydrazineylidene)methyl)phenol
 Chemical Formula: C₁₆H₁₂N₄O₃S

2.1.3 Determinação da concentração inibitória mínima (cim)

Nesta etapa, avaliamos a concentração inibitória mínima dos derivados tiazólicos baseados no eugenol (LF12 e 26), como também do CCCP. Cada inóculo foi preparado com 10% de *Brain Heart Infusion* (BHI) na proporção de 1:9. Em seguida, 100 µL do inóculo foram colocados em eppendorfs contendo 900 µL de meio BHI a 10%, homogeneizado e transferido 100 µL para placa de 96 poços. Após isso, foram adicionados 100 µL da substância ou composto e microdiluídos, obtendo-se concentrações variando de 512 a 8 µg/mL, seguido de incubação a 37 °C por 24 h. Controles positivos (meio + inóculo) foram incluídos nos últimos poços da placa (Nccls, 2003). Após a incubação, 20 µL de resazurina sódica foram adicionados a cada poço, seguido por um período adicional de incubação de 1 h à temperatura ambiente. Uma mudança na cor da solução, devido à redução da resazurina, foi utilizada como indicador de crescimento bacteriano. A CIM foi definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano. Todas as experiências foram realizadas em triplicado para todas as cepas bacterianas (Mann *et al.*, 1998; Palomino *et al.*, 2002; Coutinho *et al.*, 2008).

2.1.4 Análise de inibição da bomba de efluxo por redução da CIM de brometo de etídio

Neste teste, a CIM do brometo de etídio foi determinada na presença ou ausência de concentrações subinibitórias dos compostos LF12 e 26, e também CCCP. Resumidamente, os inóculos bacterianos foram preparados em meio BHI 10% e os tratamentos foram adicionados em concentrações equivalentes à sua CIM \div 8. Os poços de uma placa de 96 poços foram preenchidos com 100 μ L das soluções de cada tratamento e, em seguida, foi adicionado brometo de etídio aos poços em concentrações variando de 512 a 0,5 μ g/mL. Uma redução na CIM do brometo de etídio foi interpretada como inibição da bomba de efluxo (Tintino *et al.*, 2017). Os controles experimentais e os valores de MIC para os compostos foram determinados conforme descrito acima. Todos os testes foram realizados em triplicatas.

2.1.5 Análise da potencialização da atividade antibiótica pela inibição da bomba de efluxo

Considerando que as cepas de *S. aureus* K2068 carrega genes que codificavam proteínas de efluxo associadas à resistência ao antibiótico ciprofloxacina. Este protocolo foi utilizado para avaliar a capacidade dos compostos LF12 e 26 em modular a resistência bacteriana em associação com esse antibiótico contra a bomba correspondente. Os inóculos bacterianos foram preparados em meio BHI 10% e os tratamentos foram adicionados em concentrações equivalentes à sua CIM \div 8. Os poços de uma placa de 96 poços foram preenchidos com 100 μ L das soluções de cada tratamento e, em seguida, cada antibiótico foi adicionado aos poços em concentrações variando de 512 a 0,5 μ g/mL. Uma redução na CIM do antibiótico foi interpretada como inibição da bomba de efluxo (Tintino *et al.*, 2017). Os controles experimentais e os valores de MIC para os compostos foram determinados conforme descrito acima. Todos os testes foram realizados em triplicado.

2.1.6 Análise estatística

Os dados foram expressos como média geométrica \pm erro padrão da média e foram analisados por análise de variância (ANOVA), seguida de pós-teste de Bonferroni utilizando o software GraphPad Prism versão 9.2.0. Foi considerada significância estatística quando $p < 0,05$.

3. Resultados e Discussão

3.1 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DIRETA

Tabela 1: Resultado da avaliação da concentração inibitória mínima dos derivados tiazólicos baseados no eugenol e da substância CCCP.

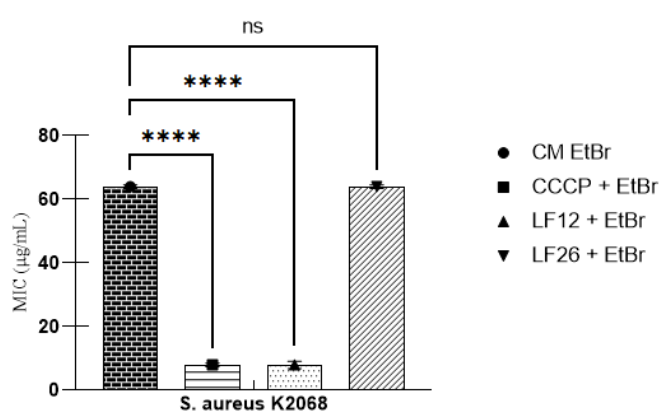
Substâncias	<i>S. aureus</i> - K2069
LF12	$\geq 1024 \mu\text{g/mL}$
LF26	$\geq 1024 \mu\text{g/mL}$
CCCP	64 $\mu\text{g/mL}$

As substâncias LF12 e LF26 foram avaliadas quanto à sua atividade antimicrobiana frente à cepa *Staphylococcus aureus* K2069. Ambas apresentaram valores de concentração inibitória mínima (CIM) $\geq 1024 \mu\text{g/mL}$, indicando ausência de atividade inibitória significativa nas concentrações testadas. Em contraste, o controle positivo CCCP (carbonil cianeto-m-clorofenil hidrazona) apresentou uma CIM de 64 $\mu\text{g/mL}$, demonstrando maior potencial de inibição bacteriana sob as mesmas condições experimentais.

Esses resultados sugerem que LF12 e LF26 possuem baixa eficácia antimicrobiana contra *S. aureus* K2069, enquanto o CCCP confirma sua ação como agente inibidor efetivo, servindo como referência positiva para os ensaios.

3.2 ANÁLISE DE INIBIÇÃO DA BOMBA DE EFLUXO POR REDUÇÃO DA CIM DE BROMETO DE ETÍDIO

Figura 1: Avaliação da inibição da bomba de efluxo MepA pelos derivados tiazólicos baseados em eugenol e CCCP associados com brometo de etídio frente a cepa de *Staphylococcus aureus* K2068. N = 3. ****p < 0,0001 indica diferenças significativas entre os grupos. A significância estatística foi determinada por ANOVA unidirecional e teste de post-hoc de Bonferroni.



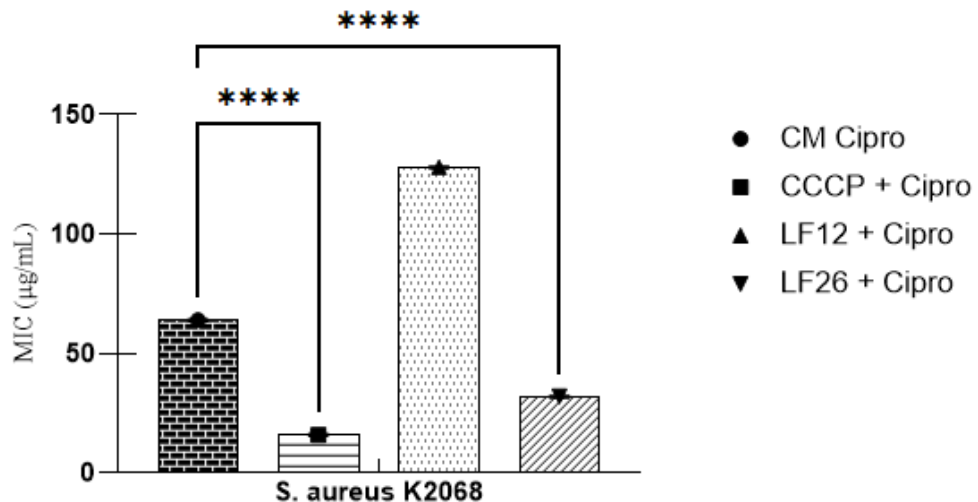
Na cepa *Staphylococcus aureus* K2068, foi possível observar que o brometo de etídio (EtBr) apresentou uma concentração inibitória mínima (MIC) alta no controle, em torno de 70 µg/mL, indicando que a bactéria possui um nível elevado de resistência a esse agente. Quando o EtBr foi combinado com o composto CCCP, conhecido por inibir bombas de efluxo, a MIC caiu de forma expressiva para aproximadamente 10 µg/mL, mostrando uma diferença altamente significativa em relação ao controle (**** p < 0,0001). Essa redução demonstra que as bombas de efluxo estão envolvidas na resistência do microrganismo, uma vez que, ao serem inibidas, o EtBr volta a ser eficaz.

De forma semelhante, o composto LF12 também reduziu significativamente a MIC do EtBr, apresentando resultados comparáveis aos do CCCP. Isso sugere que o LF12 pode agir como um possível inibidor de bombas de efluxo, aumentando a sensibilidade da bactéria ao EtBr. Em contrapartida, o composto LF26 não provocou alterações significativas (ns) e manteve a MIC em níveis elevados, indicando que ele não interfere nesse mecanismo de resistência.

Assim, os resultados apontam o LF12 como um candidato promissor para estudos futuros sobre moduladores de resistência bacteriana

3.3 ANÁLISE DA POTENCIALIZAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBIÓTICA PELA INIBIÇÃO DA BOMBA DE EFLUXO

Figura 2: Avaliação da inibição da bomba de efluxo *mepA* pelos derivados tiazólicos baseados em eugenol e CCCP associados com ciprofloxacina, frente a cepa de *Staphylococcus aureus* K2068. N = 3. ****p < 0,0001 indica diferenças significativas entre os grupos. A significância estatística foi determinada por ANOVA unidirecional e teste de post-hoc de Bonferroni.



O gráfico mostra os valores de MIC do antibiótico ciprofloxacina (Cipro) contra a cepa *S. aureus* K2068, tanto sozinho quanto em combinação com diferentes compostos moduladores. Observa-se que o tratamento apenas com ciprofloxacina (CM Cipro) apresenta um valor de MIC elevado, indicando baixa sensibilidade da bactéria ao antibiótico. Quando o ciprofloxacina é combinado com o composto CCCP, há uma redução drástica no MIC, sugerindo que esse composto potencializa fortemente a ação do antibiótico.

As combinações com LF12 e LF26, mostram redução significativas no MIC em comparação com o ciprofloxacina isolado, apenas para o composto LF26, embora o efeito potencializador varie entre os compostos. O LF12 apresenta o maior valor de MIC entre as combinações, maior até mesmo que o controle de modulação, enquanto o LF26 mostra uma diminuição mais expressiva, mas ainda superior à obtida com CCCP. As diferenças são

estatisticamente significativas, reforçando que o composto LF26 testado aumenta a eficácia do ciprofloxacino contra *S. aureus* K2068, possivelmente atuando sobre mecanismos de resistência bacteriana que não seja a bomba de efluxo.

3.4 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que os derivados tiazólicos à base de eugenol (LF12 e LF26) apresentaram baixa atividade antimicrobiana direta contra *Staphylococcus aureus* K2069, uma vez que ambos exibiram valores de concentração inibitória mínima (CIM) $\geq 1024 \mu\text{g/mL}$. Este achado está em concordância com estudos prévios, como o de Yuen *et al.* (2023), que apontam que compostos fenólicos e seus derivados, quando não modificados estruturalmente para aumentar a lipofilicidade ou a reatividade com membranas bacterianas, podem exibir atividade antimicrobiana limitada em cepas resistentes. Contudo, a ausência de atividade antimicrobiana direta não invalida seu potencial modulador, uma vez que muitos inibidores de bombas de efluxo (EPIs) não possuem ação bactericida isoladamente, mas potencializam a eficácia de antibióticos ou de agentes tóxicos quando utilizados em combinação (Coutinho *et al.*, 2008; Tintino *et al.*, 2017).

No teste de inibição da bomba de efluxo MepA, observou-se que o composto LF12 reduziu significativamente a CIM do brometo de etídio, em magnitude comparável ao inibidor controle positivo CCCP. Essa redução demonstra que o LF12 possui atividade moduladora efetiva sobre o sistema de efluxo, aumentando a retenção intracelular do corante. De acordo com o artigo, derivados tiazólicos contendo núcleos aromáticos e grupos doadores de elétrons apresentam potencial para interagir com resíduos hidrofóbicos presentes nos canais de transporte das bombas de efluxo, bloqueando a extrusão de compostos e promovendo aumento da sensibilidade bacteriana a antimicrobianos. Essa interação pode ocorrer por meio de ligações de hidrogênio e interações π - π com aminoácidos aromáticos da proteína MepA, o que compromete o transporte ativo de substratos como o brometo de etídio (Folquitto *et al.*, 2025).

Por outro lado, o composto LF26 não apresentou modulação significativa da CIM do brometo de etídio, o que indica ausência de efeito inibitório direto sobre o sistema MepA. Essa diferença de comportamento entre os compostos pode estar relacionada às variações estruturais entre os derivados, que influenciam a capacidade de atravessar a membrana bacteriana e de se acoplar aos sítios ativos da bomba de efluxo. Pequenas modificações nos grupos substituintes de compostos tiazólicos podem alterar drasticamente sua conformação e, conseqüentemente, sua afinidade por alvos moleculares específicos. Dessa forma, a ausência de modulação por

LF26 pode decorrer de uma menor afinidade pelo sítio de ligação da MepA ou de um fraco acúmulo intracelular (Kalashnikov *et al.*, 2024).

A análise de potencialização da atividade antibiótica revelou que a combinação de ciprofloxacino com LF26 promoveu uma redução significativa na CIM do antibiótico frente à cepa *S. aureus* K2068, embora o composto não tenha atuado diretamente na bomba MepA. Este achado sugere que o LF26 possa interferir em outros mecanismos de resistência, como alterações na permeabilidade da membrana celular ou inibição de outras bombas de efluxo, como NorA ou MsrA. Já o LF12, apesar de ter se mostrado ativo contra a bomba MepA no ensaio com brometo de etídio, não apresentou potencialização significativa da ciprofloxacina, o que indica que a modulação observada pode ser dependente do substrato transportado pela bomba ou de interações químicas específicas com o antibiótico.

A atividade observada para o controle positivo CCCP em ambos os ensaios confirma a validade experimental, visto que esse composto é um desacoplador de fosforilação oxidativa, promovendo colapso do gradiente de prótons essencial para o funcionamento das bombas MATE (Martin, 2023). A forte redução da CIM de EtBr e ciprofloxacino na presença de CCCP reforça que os mecanismos de efluxo são determinantes na resistência apresentada pela cepa de *S. aureus* K2068, e que sua inibição é uma estratégia promissora para restaurar a eficácia antimicrobiana.

Assim, os resultados deste estudo corroboram as evidências apresentadas por Folquitto *et al.* (2025), que destacaram o potencial dos derivados tiazólicos como inibidores seletivos de bombas de efluxo em *Staphylococcus aureus*, especialmente quando associados a antibióticos convencionais. Embora os compostos LF12 e LF26 apresentem perfis distintos de atividade, ambos contribuem para o avanço no entendimento das interações entre derivados tiazólicos e proteínas de resistência bacteriana. Esses achados reforçam a relevância do desenvolvimento racional de moduladores baseados em estruturas naturais, como o eugenol, visando à superação da resistência antimicrobiana em patógenos clínicos

4. CONCLUSÃO

Tais resultados reforçam o papel promissor dos derivados tiazólicos como candidatos a moduladores de resistência bacteriana e ressaltam o potencial terapêutico de compostos baseados em eugenol na busca por alternativas eficazes contra infecções causadas por cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus*.

Dessa forma, o estudo contribui para o avanço do conhecimento sobre o uso de compostos naturais e seus derivados sintéticos como adjuvantes antimicrobianos, incentivando novas investigações *in vitro* e *in silico* sobre o mecanismo de ação desses compostos, visando ao desenvolvimento de agentes mais seletivos, seguros e eficazes no combate à resistência bacteriana.

REFERÊNCIAS

CHANG, R. Y. K., *et al.*, Novel antimicrobial agents for combating antibiotic-resistant bacteria. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 187, n., p. 114378, 2022

COUTINHO, H.D.M. *et al.*, Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine. **Chemotherapy** 2008, 54, 328–330. doi: 10.1159 / 000151267

FOLQUITTO, L. R. dos S. *et al.* Synthesis and biological assessment of new thiazoles for mycobacterial infections and biofilm disruption. **ACS Omega**, Washington, DC, v. 10, n. 5, 2025. DOI: 10.1021/acsomega.5c06421.

CUSSOLIM, P. A *et al.*, Mecanismos de resistência de *Staphylococcus aureus* a antibióticos. **Revista Faculdades do Saber**, v. 6, n. 12, p. 831–843, 10 jan. 2021.

KALASHNIKOV, S. B. *et al.*, Synthesis of 5-methyl-4-polyfluoroaryl-1,3-thiazol-2-amines. **Mendeleev Communications**, v. 34, n. 2, p. 277–278, 3 abr. 2024.

KWIECINSKI JM, H. AR. **Staphylococcus aureus bloodstream infections: pathogenesis and regulatory mechanisms.** **Curr Opin Microbiol.** 2020 Feb; 53:51-60. doi: 10.1016/j.mib.2020.02.005. Epub 2020 Mar 12. PMID: 32172183; PMCID: PMC7244392.

MANN, C.M.; MARKHAM, J.L. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. **J. Appl. Microb.** 1998, 84, 538–544. doi:10.1046/j.1365-2672.1998.00379.x

MARTIN, A. L de A. R. Efeito in vitro e in silico de derivados cumarínicos na inibição da função da bomba de efluxo MepA e NorA em *Staphylococcus aureus*. **Repositorio.ufc.br**, 2023.

MARTÍNEZ, J. B.; PARTIDA, A. H.; ELENA, M. *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. **Revista Biomédica**, v. 17, n. 4, p. 287–305, 2025.

NAKAO, I. A. Síntese de chalconas e isoxazóis derivados do eugenol e avaliação do seu potencial antiviral e citotóxico. **Ufop.br**, 2024.

NCCLS. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that grow aerobically. 6ed. **Produção científica 64**Pennsylvania, PA, USA; 2003. https://clsi.org/media/1632/m07a10_sample.pdf (accessed 10 January 2020)

PALOMINO, J.C. *et al.*, microtiter assay plate: 15 simple and unexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrob. Agents Chemother.** 2002, 46, 2720–2722. doi: 10.1128 / AAC.46.8.2720-2722.2002

PÉREZ, C.H.J; ROBLES, C.A. Aspectos básicos dos mecanismos de resistência bacteriana. **Rev Med MD.** 2013;4,5 (3):186-191

TINTINO, S.R. *et al.*, Cholesterol and ergosterol affect the activity of *Staphylococcus aureus* antibiotic efflux pumps. **Microbial. Pathogenesis** 2017a, 104, 133–136. doi: 10.1016 / j. micpath.2017.01.019

YUEN, H. L. *et al.*, Development of a Novel Antibacterial Peptide, PAM-5, via Combination of Phage **Display Selection and Computer-Assisted Modification**. **Biomolecules** 2023, Vol. 13, Page 466, [s. 1.], v. 13, n. 3, p. 466, 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2218-273X/13/3/466/htm>.