

NANOTECNOLOGIA NO CONTROLE DE *Acinetobacter baumannii* MULTIRRESISTENTE

RODRIGO YUDI ISHIKAME¹; SUZANE OLACHEA ALLEND²; LUCIANO
APARECIDO PANAGIO²; DAIANE DRAWANZ HARTWIG²; AMILTON CLAIR
PINTO SEIXAS NETO³

¹Universidade Federal de Pelotas 1 – rodrigo_y_i@hotmail.com 1

² Universidade Federal de Pelotas 2– suzane_olachea@yahoo.com.br 2

² Universidade Estadual de Londrina 2– lapanagio@uel.br 2

²Universidade Federal de Pelotas 2 – daianehartwig@gmail.com 2

³Universidade Federal de Pelotas 3 – amiltonseixas@gmail.com 3

1. INTRODUÇÃO

As infecções relacionadas a assistência à saúde (IRAS) têm sido relatadas em hospitais de todo o mundo, com elevada taxa de mortalidade, e vêm gerando um problema de saúde pública, uma vez que *A. baumannii* apresenta resistência a vários antibacterianos, aumentando o número de cepas multirresistentes (MDR) (CORREA et al., 2017; ASPAS et al., 2018; JASPER et al., 2016). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 700 mil pessoas morrem todos os anos por causa de bactérias resistentes. Estima-se que no ano de 2050, 10 milhões de pessoas poderão vir a óbito (WHO, 2017).

Atualmente os carbapenêmicos são os antibacterianos de escolha para o tratamento dessas infecções, entretanto devido a disseminação de cepas resistentes a essa classe de antibacterianos, o uso de polimixinas foi incentivado como droga de última escolha para o tratamento de infecções de bactérias gram-negativo MDR, como *A. baumannii* (FALAGAS; RAFAILIDIS; MATTHAIIOU, 2010; MENEGUCCI et al., 2016; RODRÍGUEZ; NASTRO; FAMIGLIETTI, 2018). Dessa forma, é extremamente necessário que novas medidas de tratamento sejam desenvolvidas para o controle de bactérias MDR, como *A. baumannii* (DALMASIO, 2018).

Neste sentido as nanopartículas de prata biogênica (Bio-AgNP) têm despertado o interesse por possuir uma síntese sustentável, econômica e simples, produzidas a partir de extratos vegetais, fungos, algas ou leveduras (DURÁN et al., 2019). As Bio-AgNPs surgem com uma alternativa no desenvolvimento de novos antibacterianos ou de novas estratégias de tratamento, em razão da sua significativa e comprovada propriedade antimicrobiana, podendo ser utilizada sozinha ou em combinação (FIGUEIREDO et al., 2019; SIDDIQI; HUSEN; RAO, 2018; SINGH et al., 2015).

O objetivo deste estudo foi determinar a curva de crescimento (tempo de morte) de isolados e ATCC® 19606™ de *A. baumannii* MDR frente a polimixina B e Bio-AgNP isoladamente e em combinação.

2. METODOLOGIA

As concentrações mínimas inibitórias (CMI) e mínimas bactericidas (CMB) foram determinadas previamente, e estão disponíveis na patente depositada com nº de processo BR1020200215221. O ensaio de tempo de morte foi realizado para avaliar o efeito da polimixina B e Bio-AgNP na curva de crescimento de isolados e ATCC® 19606™ de *A. Baumannii* MDR de acordo com a metodologia de DANIEL-JAMBUN et al., 2019. As bactérias foram cultivadas, e um inóculo

correspondente a escala 0,5 de McFarland foi preparado em caldo Mueller Hinton na proporção de 1:100. A Bio-AgNP e a polimixina B foram avaliadas isoladamente e em combinação, e foram utilizadas em concentrações quatro vezes superiores a CMI. Uma curva padrão de cada isolado e ATCC® 19606™ foi preparada em caldo MH. As placas de 96 poços foram incubadas a 37°C e as amostras foram obtidas em diferentes tempos (0h, 10min, 20min, 30min, 1h, 2h, 4h, 6h, 8h e 24h). Alíquotas de 100µL foram coletadas da cultura bacteriana e diluídas em 900µL de solução salina 0,9%, onde foram transferidos 10 µL para uma placa com ágar MacConkey (Kasvi®) e incubados a 37°C por 24h. Após as colônias foram contadas e expressas em unidades formadoras de colônias (UFC/mL), e uma curva de tempo de morte foi construída. As curvas de tempo de morte foram construídas plotando o log₁₀ UFC/mL versus o tempo ao longo de 24h. A atividade bactericida foi definida como uma redução de 99,9% ($\geq 3 \log_{10}$) do número total de UFC/mL quando comparada ao inóculo original. O controle de esterilidade de Bio-AgNP, polimixina B em caldo MH foi avaliado.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A curva de tempo de morte dos isolados e ATCC® 19606™ de *A. baumannii* são mostrados na Figura 1.

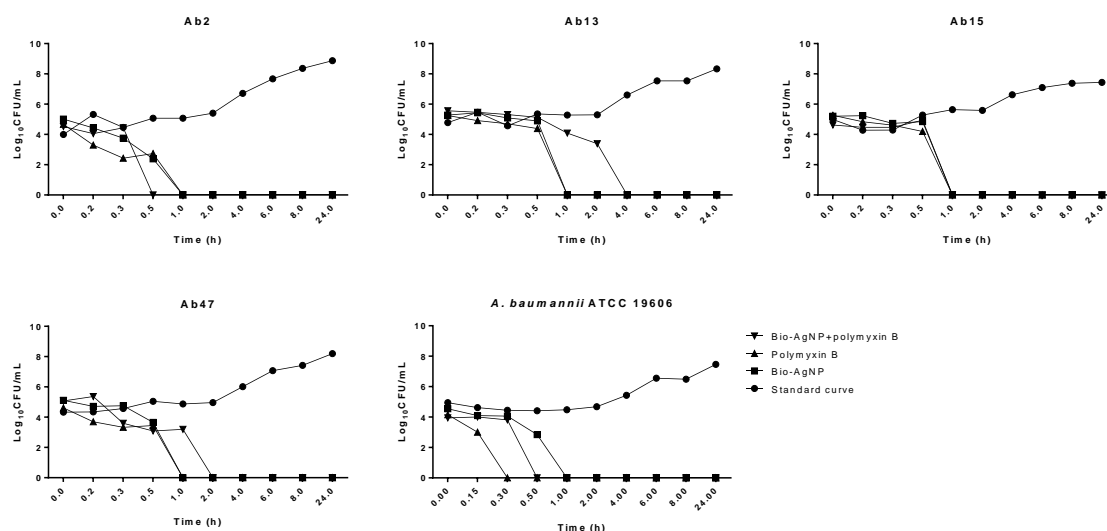


Figura 1. Curvas de tempo de morte dos isolados e ATCC® 19606™ de *A. baumannii* (Ab). Polimixina B e Bio-AgNP: tratamento isolado ou combinado em uma concentração de 4X aCMI. A curva padrão ($p < 0,05$) representa o crescimento do respectivo *A. baumannii* não tratado.

A atividade bactericida foi destacada em todos os tratamentos avaliados com uma redução de 99,9% ($\geq 3 \log_{10}$) do número total de UFC/mL no inóculo original usando 4X a CMI, e apresentada com uma diferença estatística contra *A. baumannii* não tratado (padrão curva, $p < 0,05$). Considerando o tempo de morte celular, polimixina B ou Bio-AgNP, quando usadas sozinhas inibiram todos os isolados de *A. baumannii* resistentes aos carbapenêmicos e ATCC® 19606™ dentro de 1 h. Quando usados em combinação, a polimixina B e Bio-AgNP reduziram a carga bacteriana para níveis indetectáveis dentro de 0,5h a 4h de tratamento de acordo com cada isolado. Para Ab2 e ATCC® 19606™, a combinação reduziu a carga bacteriana em 0,5h, tempo necessário para matar as

células bacterianas, no qual foi mais rápido do que a polimixina B ou Bio-AgNP sozinho (1 h) ($p < 0,05$). No entanto, os isolados Ab13 e Ab47 tiveram um aumento do tempo de morte de 3h e 1h, respectivamente, quando polimixina B e Bio-AgNP foram usados em combinação em comparação com eles sozinhos ($p < 0,05$). A curva de tempo de morte para *A. baumannii* obtida neste estudo, mostrou que a polimixina B e Bio-AgNP isoladamente foram bactericidas após 1h de tratamento com uma concentração de 4X a CMI.

Assim como, outros estudos que encontraram uma redução de células bacterianas viáveis após 1h de exposição à polimixina B sozinha e até 5h de exposição para Bio-AgNP (DOYMAZ; KARAASLAN, 2019; NEETHU *et al.*, 2018). Entretanto, nenhum estudo avaliando combinações de polimixina B e Bio-AgNP foram encontradas na literatura até o momento. Contudo, alguns autores relataram uma curva de tempo de morte entre 2h e 24h de tratamento usando polimixina B e AgNP combinados contra *A. baumannii* (JASIM *et al.*, 2017; NASER, 2018).

4. CONCLUSÕES

Os resultados apresentados neste trabalho demonstram que a atividade bactericida foi destacada em todos os tratamentos avaliados. A Bio-AgNP tanto sozinha quanto combinada a polimixina B possui capacidade de inibir o crescimento bacteriano, sendo, assim uma alternativa promissora para tratamentos de infecções causadas por *A. baumannii* resistente aos carbapenêmicos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASPAS, A. M. *et al.* Differential characteristics of *Acinetobacter baumannii* colonization and infection: Risk factors, clinical picture, and mortality. **Infection and Drug Resistance**, [s. l.], v. 11, p. 861–872, 2018. Available at: <https://doi.org/10.2147/IDR.S163944>
- CORREA, A. *et al.* Distinct Genetic Diversity of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* from Colombian Hospitals. **Microbial Drug Resistance**, [s. l.], v. 24, n. 1, p. 48–54, 2017. Available at: <https://doi.org/10.1089/mdr.2016.0190>
- DALMASIO, S. M. R. Epidemiological aspects of the dissemination of the species *Acinetobacter baumannii* for the control of health care related infections: a literature Master's dissertation, **Department of Microbiology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais**, Minas Gerais, MG, Brazil
- DANIEL-JAMBUN, D. *et al.* Bactericidal and cytotoxic activity of a diarylheptanoid (etlingerin) isolated from a ginger (*Etlingera pubescens*) endemic to Borneo. **Journal of Applied Microbiology**, [s. l.], v. 127, n. 1, p. 59–67, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1111/jam.14287>
- DOYMAZ, M. Z.; KARAASLAN, E. Comparison of antibacterial activities of polymyxin B and colistin against multidrug resistant Gram negative bacteria. **Infectious Diseases**, [s. l.], v. 51, n. 9, p. 676–682, 2019. Available at: <https://doi.org/10.1080/23744235.2019.1640386>
- DURÁN, N. *et al.* Quim. Nova, [s. l.], v. 42, n. 2, p. 206–213, 2019.
- FALAGAS, M. E.; RAFAILIDIS, P. I.; MATTHAIU, D. K. Resistance to

polymyxins: Mechanisms, frequency and treatment options. **Drug Resistance Updates**, [s. l.], v. 13, n. 4–5, p. 132–138, 2010. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.drug.2010.05.002>

FIGUEIREDO, E. P. *et al.* New approach for simvastatin as an antibacterial: Synergistic effect with bio-synthesized silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria. **International Journal of Nanomedicine**, [s. l.], v. 14, p. 7975–7985, 2019. Available at: <https://doi.org/10.2147/IJN.S211756>

JASIM, R. *et al.* A fresh shine on cystic fibrosis inhalation therapy: Antimicrobial synergy of polymyxin B in combination with silver nanoparticles. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. 447–457, 2017. Available at: <https://doi.org/10.1166/jbn.2017.2355>

JASPER, R. *et al.* Clinical and epidemiological significance of carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* infections. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, [s. l.], v. 60, n. 5, p. 3127–3131, 2016. Available at: <https://doi.org/10.1128/AAC.02656-15>

MENEGUCCI, T. C. *et al.* Strategies for the treatment of polymyxin B-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [s. l.], v. 47, n. 5, p. 380–385, 2016. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.02.007>

NASER, I. J. Synergistic Effect of Silver Nanoparticles and Polymyxin B on Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* Isolated from Burn Wound Infections Isam Jumaa Naser. [s. l.], v. 2018, n. 2, p. 79–86, 2018.

NEETHU, S. *et al.* Green synthesized silver nanoparticles by marine endophytic fungus *Penicillium polonicum* and its antibacterial efficacy against biofilm forming, multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. **Microbial Pathogenesis**, [s. l.], v. 116, p. 263–272, 2018. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.01.033>

RODRÍGUEZ, C. H.; NASTRO, M.; FAMIGLIETTI, A. Carbapenemases in *Acinetobacter baumannii*. Review of their dissemination in Latin America. **Revista Argentina de Microbiología**, [s. l.], v. 50, n. 3, p. 327–333, 2018. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.10.006>

SIDDIQI, K. S.; HUSEN, A.; RAO, R. A. K. A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties. **Journal of Nanobiotechnology**, [s. l.], v. 16, n. 1, 2018. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12951-018-0334-5>

SINGH, R. *et al.* Bacteriogenic silver nanoparticles: synthesis, mechanism, and applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s. l.], v. 99, n. 11, p. 4579–4593, 2015. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6622-1>

WHO. Organização Mundial da Saúde. **OMS publica lista de bactérias para as quais se necessitam novos antibióticos urgentemente**. 2017. Disponível em: https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5357:oms-publica-lista-de-bacterias-para-as-quais-se-necessitam-novos-antibioticos-urgentemente&Itemid=812 Acesso em: 16/02/2021