

BIOCOMPOSTOS COMO ALTERNATIVA PROMISSORA NO COMBATE A BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES

CAMILA DOS SANTOS CARDOZO¹; ROSANA BASSO KRAUS²; PEDRO RASSIER DOS SANTOS³; CRISTINA STUDZINSKI SVENSON⁴; MARISA CASTRO JARA⁵ PATRÍCIA DA SILVA NASCENTE⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – camilasc_pel@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – rosana_basso_kraus@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – rassier1907@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – csvenson80@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – jaramarisa@hotmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – pattsn@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A incorporação dos antibióticos na prática clínica foi uma das intervenções mais significativas para o controle de doenças infecciosas, salvando milhões de vidas e promovendo uma verdadeira revolução na medicina. No entanto, nas últimas décadas se observa uma aceleração no surgimento e disseminação da resistência bacteriana frente a estes mesmos antibióticos o que se torna um ponto de preocupação em relação à saúde pública mundial (JUAN-IGNACIO ALÓS, 2015).

De acordo com Lazovsky et al. (2017) a rápida aceleração no surgimento e disseminação da resistência antimicrobiana (RAM) na última década está diretamente associada ao uso excessivo e inadequado desses agentes terapêuticos.

Estima-se que 50% de todos os antimicrobianos (ATM) prescritos sejam desnecessários ou aplicados de forma inadequada (LAZOVSKI et al., 2017). Entre as principais causas dessa situação estão a prescrição de antibióticos para infecções que não os requerem, a pressão de pacientes ou familiares devido à compreensão limitada sobre a real necessidade dos ATM's, a ausência de testes diagnósticos adequados e o crescente uso de ATM's para fins não terapêuticos na criação intensiva de animais destinados ao consumo humano (LAZOVSKI et al., 2017) (CANTÓN et al., 2013).

Diante do avanço preocupante da resistência bacteriana, a busca por alternativas aos antimicrobianos tradicionais se torna uma prioridade no âmbito científico. Nesse contexto surgem os Biocompostos como uma estratégia promissora para mitigar a RAM. Com isso o objetivo desse estudo foi verificar a suscetibilidade das bactérias multirresistentes frente a nanofibras de diferentes concentrações de óleo da biomassa larval da mosca soldado negro (*Hermetia Illucens*)

2. METODOLOGIA

As amostras bacterianas em estudo se dividiram em dois grupos, o primeiro grupo continha bactérias clínicas de origem hospitalar, sendo estas: *Acinetobacter baumannii* (n = 2), *Staphylococcus coagulase negativa* (n = 2), *Staphylococcus aureus* (n = 2), *Escherichia coli* (n = 1) e *Klebsiella pneumoniae* (n = 2).

Já o segundo grupo continha as bactérias ATCC, das espécies, (*Staphylococcus aureus*, *Listeria sp.*, *Escherichia Coli* e *Salmonella sp.*). A análise antimicrobiana foi desenvolvida de acordo com o Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais (CLSI, 2012) com adaptações para os novos compostos. As bactérias analisadas foram previamente inoculadas nos meios de cultivo Ágar Brain Heart

Infusion Broth (BHI) e Ágar MacConkey e em seguida, as placas foram incubadas a 37 °C durante 24h em aerobiose. Após esse período, preparou-se o inóculo dos micro-organismos cultivados em tubo de água estéril seguindo a escala de MacFarland de 0,5 ($1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹).

Os Biocompostos utilizados foram obtidos do laboratório de inovação e soluções em química (Innovaschem) da Universidade Federal de Pelotas. Onde os mesmos foram desenvolvidos através de eletrofiação para obtenção de fibras ultrafinas com zeína adicionadas de óleo da biomassa larval da “mosca soldado negro” (*Hermetia illucens*). Posteriormente, estes foram divididos em quatro tipos de acordo com as suas concentrações de óleo, 15%, 30% e 45% p/p, e a solubilização das amostras levou em conta a preservação das características antimicrobianas do composto.

Após a preparação do inóculo bacteriano e da solução com o composto a ser estudado, utilizou-se o método de Microdiluição em Caldo, conforme o protocolo do CLSI (2012), para avaliar a suscetibilidade dos isolados bacterianos frente à nanofibras nas diferentes concentrações. Após o período de incubação das placas, o método colorimétrico utilizando cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC) a 0,015% foi empregado para caracterizar a atividade bactericida ou bacteriostática dos compostos. Para isso, foram aplicados 40 µL da solução de TTC em cada poço, aguardando-se de uma a três horas para a leitura colorimétrica dos resultados.

Os resultados observados foram confirmados por meio da inoculação das soluções dos poços em placas de ágar BHI, seguidos de análise microscópica após coloração de Gram.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das concentrações inibitórias mínimas (CIM) de cada nanofibra do óleo da biomassa larval da mosca soldado negro (*Hermetia illucens*) em diferentes diluições, frente a amostras de bactérias de origem humana e animal, obtidas através da técnica de microdiluição em caldo estão expressos na Tabela 1.

Tabela 1 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) das nanofibras de óleo da biomassa larval da mosca soldado negro (*Hermetia illucens*) frente a microrganismos multirresistentes isolados de humanos e ATCC's de origem animal

Bactéria	Nanofibra 45%	Nanofibra 30%	Nanofibra 15%
	[] Média testes (mg/mL)	[] Média testes (mg/mL)	[] Média testes (mg/mL)
<i>Acinetobacter baumannii</i> (AcB5)	5,17	6	5,5
<i>Acinetobacter baumannii</i> (AcB19)	5,5	6	5,5
<i>Staphylococcus</i> CN* (SCN5)	6	5	6
<i>Staphylococcus</i> CN* (SCN2)	6	4,67	6
<i>Staphylococcus aureus</i> (StA12)	4,67	5	4,5
<i>Staphylococcus aureus</i> (StA15)	5,5	5	5,5
<i>Escherichia coli</i> (EsC14)	3,83	3,5	5,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (KIP04)	5	3,83	4,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (KIP20)	3,83	3,83	4,5
<i>Staphylococcus aureus</i> (StA01)	5,5	5,5	5,5
<i>Listeria</i> sp. (LisT01)	4,02	6	6
<i>Escherichia coli</i> (EsC01)	4,17	5,5	5,5
<i>Salmonella</i> sp. (SalM01)	4,17	4,5	4,5

([]) Concentração. (CN*) Coagulase negativa

As microdiluições em caldo realizadas nas bactérias estudadas, utilizando as nanofibras em suas diferentes concentrações, demonstraram resultados variados em relação a concentração necessária para um efeito de inibição como apresentado na tabela acima, entretanto todas concentrações testadas expressaram uma atividade bacteriostática de 100% de eficácia em relação aos micro-organismos estudados.

Esta atividade antimicrobiana dos compostos de nanofibras de óleo da biomassa larval da mosca soldado negro (*Hermetia illucens*), se deve a sua composição de 40% de proteína, alto teor de aminoácidos essenciais, e uma concentração de lipídios acima de 28%. Bem como ao seu perfil de ácidos graxos que inclui altos níveis de ácido láurico, sendo o mesmo conhecido pelo seu efeito antimicrobiano.

Observou-se por fim, dos resultados obtidos que a nanofibra com 45% de óleo apresentou uma concentração média final necessária para o efeito bacteriostático de 4,9 mg/mL. Comparando-se com as concentrações para as nanofibras de 30% e 15%, que foram de 5,3 mg/mL e 5,0 mg/mL, respectivamente, pode-se observar que a nanofibra com maior teor de óleo da biomassa larval demonstrou um maior poder bacteriostático, necessitando de uma menor quantidade para atingir o mesmo

4. CONCLUSÕES

Os resultados deste trabalho evidenciam o potencial dos biocompostos como uma alternativa promissora frente a bactérias multirresistentes. A nanofibra de óleo da biomassa larval da mosca soldado negro (*Hermetia illucens*) mostrou-se eficaz no controle de diferentes bactérias multirresistentes, com a possibilidade de otimização das concentrações para maximizar seus efeitos. Esses achados são um passo importante no desenvolvimento de novos agentes terapêuticos, ressaltando a necessidade de estudos futuros para aprofundar a compreensão dos mecanismos de ação e a existência de citotoxicidade, para então se explorar possíveis aplicações clínicas deste material.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

JUAN-IGNACIO ALÓS. **Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global**. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, v. 33, n. 10, p. 692–699, 1 dez. 2015.

LAZOVSKI, J. et al. **Estrategia de control de la resistencia bacteriana a los antimicrobianos en Argentina**. PubMed, v. 41, p. e88–e88, 1 jan. 2017.

CANTÓN, R. et al. **Inappropriate use of antibiotics in hospitals: The complex relationship between antibiotic use and antimicrobial resistance**. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, v. 31, p. 3–11, 1 set. 2013.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2012). Método de referência de caldo. **Métodos para testes de suscetibilidade antimicrobiana de diluição de bactérias que crescem aerobicamente.** Padrão aprovado — Nona edição, Documento NCCLS M07-A9, CLSI, Wayne, PA.