

## Suscetibilidade da bactéria *Staphylococcus aureus* a compostos orgânicos sintéticos

ANDRADE, A.C.dos S.P.<sup>1</sup>; JORGE, C. C.<sup>1</sup>; ALEIXO, A.A.<sup>1</sup>; SANTOS, M.<sup>1</sup>; CAMARGOS, V. N.<sup>1</sup>; HERRERA, K.M.S.<sup>1</sup>; MAGALHÃES, J. T.<sup>1</sup>; ALVES, R.J.<sup>2</sup>; BRETAS, A. C. O. <sup>2</sup>; ANDRADE, S. F. <sup>2</sup>; FERREIRA, J. M. S. <sup>1</sup>

### RESUMO

Atualmente, a bactéria *Staphylococcus aureus* tem se tornado resistente aos principais antibióticos disponíveis, sendo necessária a descoberta de novos medicamentos. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade bacteriostática, através do método de diluição em caldo, e bactericida de vinte e dois compostos glicídicos sintetizados frente à *Staphylococcus aureus*. Os resultados obtidos demonstraram que dois compostos, denominados CABN (derivado de beta-naftol) e PROP (derivado de benzamidina), apresentam atividade bacteriostática na concentração de 100 µmol/L, sendo que o composto 18 apresentou também atividade bactericida na concentração de 200 µmol/L. Dessa forma, os resultados obtidos são prospectivos na elaboração de novos fármacos com a obtenção de dois compostos sintéticos glicídicos e aromáticos com potencial função antibacteriana.

**Palavras-chave:** *Staphylococcus aureus*, antimicrobiano, compostos sintéticos.

### INTRODUÇÃO

O Ministério da Saúde, em conjunto com outros órgãos oficiais internacionais, define infecção hospitalar como aquela adquirida após a admissão do paciente e cuja manifestação ocorreu durante a internação ou após a alta, podendo ser relacionada com a internação ou a procedimentos

hospitalares.<sup>1,2</sup> Essas infecções são denominadas infecções nosocomiais e aquelas adquiridas fora das dependências hospitalares, chamadas infecções adquiridas na comunidade.<sup>3</sup>

No Brasil e no mundo, a infecção hospitalar é considerada um problema grave, crescendo tanto em incidência quanto em complexidade, gerando diversas implicações sociais e econômicas.<sup>2</sup> Dentre estas bactérias com importância em infecções nosocomiais adquiridas na comunidade, destaca-se a *Staphylococcus aureus*, que é responsável por infecções que variam de infecções superficiais da pele à doenças invasivas, como a sepse, osteomielite e endocardite.<sup>4,5</sup> Esta bactéria coloniza as narinas de cerca de 28% da população e as infecções podem ser causadas por essa estirpe colonizadora. *S. aureus* apresenta um repertório extenso de fatores de virulência que permitem colonizar e causar danos ao hospedeiro, bem como provocar respostas imunitárias e causar uma variedade de doenças em múltiplos compartimentos do corpo do ser humano.<sup>6</sup>

O *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina ou SARM (também conhecida pela sigla inglesa de MRSA — Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) é uma bactéria resistente a certos antibióticos chamados beta-lactâmicos. Estes antibióticos incluem a meticilina e outros antibióticos mais comuns, tais como oxacilina, penicilina, e amoxicilina. Na comunidade, a maioria das infecções por *S. aureus* são infecções de pele, porém infecções por MRSA podem ser mais graves ou potencialmente fatais, ocorrendo com mais frequência entre os pacientes em serviços de saúde.<sup>7</sup>

Com o esgotamento das opções terapêuticas e redução da eficácia das drogas existentes, a busca por novos compostos com propriedades antimicrobianas tem proporcionado um grande avanço nas pesquisas envolvendo novos compostos sintetizados.<sup>8,9</sup> Assim, torna-se imperativa a busca de ferramentas ou tecnologias que avaliem novas substâncias que sejam efetivas contra as bactérias. Um enfoque importante nestas pesquisas é a triagem de compostos químicos por testes biológicos. Assim, as estruturas químicas com melhor atividade serão selecionadas para

<sup>1</sup> Universidade Federal de São João Del Rei – Departamento de Microbiologia – CEP 35.501-296 – Divinópolis, Minas Gerais.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Minas Gerais- Laboratório de Química Farmacêutica Medicinal – CEP 31270-901 - Belo Horizonte, Minas Gerais. E-mail: ana.andrade2008@hotmail.com

a realização de testes mais específicos. Este estudo teve como objetivo fazer uma triagem de vinte e dois compostos para avaliar a atividade antimicrobiana dos compostos glicídicos e aromáticos, frente à bactéria *S. aureus*, prevalente em infecções nosocomiais.<sup>10; 11</sup>

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados testes com vinte e dois compostos sintéticos glicídicos e aromáticos, cedidos pelo Prof. Ricardo José Alves, originários de uma quimioteca do Laboratório de Química Farmacêutica Medicinal da Faculdade de Farmácia/UFMG. Esses compostos foram testados através do método de microdiluição em caldo para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) frente à *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Além disso, foi determinada a concentração bactericida mínima (CBM) de cada composto.

Os testes foram realizados em dois momentos, um imediatamente após diluição dos compostos e outro após 24h de armazenamento em refrigerador a -20°C para avaliar a estabilidade dos compostos.

Primeiramente, foi preparado o inóculo da bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, sendo reativada em Caldo Nutriente por 24h. Posteriormente, foi semeada em estria composta em placa de Petri contendo Ágar Nutriente e incubada por 24h a 37°C, para isolamento de colônias. Em seguida, foram realizadas diluições seriadas dos compostos em DMSO 20% em concentrações que variaram de 8000 µmol/L a 62,5 µmol/L. Foram retiradas entre 2 a 3 colônias isoladas, transferindo-as para um solução salina 0,85%. A turbidez da solução bacteriana obtida foi ajustada com uma solução padrão de MacFarland 0,5, o que representa aproximadamente 10<sup>8</sup> UFC/ml. Posteriormente, foram retirados 50 µL da solução salina (equivalente a escala de Mc Farland de 0,5) e 10 mL de caldo Mueller-Hinton foram adicionados, o que equivale a uma concentração de 5 x 10<sup>5</sup> UFC/ mL. Em placas de 96 poços foram utilizados controles positivos (estreptomicina 75 µg/ml, inóculo e caldo MH), controles negativos (DMSO

20%, inóculo e caldo MH), controles de crescimento (inóculo e caldo MH); controle de esterilidade do caldo (MH); branco da amostra (composto e caldo MH) e amostra (composto, inóculo e caldo MH). As placas foram incubadas a 37°C por 24h e a CIM foi avaliada com base na menor concentração do composto capaz de inibir o crescimento microbiano (detectada pela falta de turbidez, através de leitura da placa em espectrofotômetro com comprimento de onda de 490 nm). Para a determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM), alíquotas de 25µL de cada concentração do composto inoculado que obtiveram CIM foram retiradas após a incubação e semeadas em placas contendo Ágar MH. As placas foram incubadas a 37°C por 24h e a CBM foi avaliada como a concentração do composto mínima que resultou num crescimento de até 0,1% do inóculo inicial. Os experimentos foram realizados em triplicata e repetidos duas vezes para cada concentração do composto.

A CIM de cada composto frente à *Staphylococcus aureus* foi determinada estatisticamente através de análise de variância dos valores de absorbância obtidos por espectrofotômetro, apresentados em triplicatas, e posterior teste de Tukey (p<0,05) para analisar a diferença entre as médias dos valores obtidos entre o branco da amostra, amostra, controle positivo e controle negativo, através do programa Prisma 5.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre os compostos testados, os denominados CABN (derivado de beta-naftol) e PROP (derivado de benzamidina) apresentaram atividades antimicrobianas frente à *S. aureus* na concentração de 100 µmol/L, sendo que a CIM encontra-se entre as concentrações de 50 e 100 µmol/L, conforme representado na Tabela 1.

Os intervalos apresentados na Tabela 1 apresentam a CIM de cada composto frente à *S. aureus*. Como a diluição dos compostos é seriada, a concentração testada capaz de inibir totalmente o crescimento bacteriano não necessariamente é a concentração mínima inibitória. Dessa forma,

foi utilizado um intervalo que continha as concentrações mais próximas testadas, uma capaz de inibir totalmente o crescimento, e outra, na sequência da diluição, incapaz de inibir o crescimento total.

Os compostos CABN e PROP obtiveram os mesmos resultados quando comparados ao primeiro experimento, realizado imediatamente após a diluição dos compostos, com o segundo, realizados após 24h, inferindo a estabilidade dos compostos após diluição em DMSO 20% e armazenamento a -20°C por 24h.

A partir dos resultados de CIM obtidos, foram testadas as CBM dos compostos, obtendo resultado positivo para o composto PROP (200 µmol/L), sendo que a CBM obtida encontra-se entre as concentrações de 50 e 100 µmol/L, conforme representado na Tabela 1.

Os intervalos apresentados na Tabela 1 representam as concentrações mais próximas testadas, uma capaz de destruir até 0,1% das bactérias presentes no inóculo, e outra, na sequência da diluição, incapaz de destruir.

Tabela 1. MIC e CBM dos compostos CABN e PROP frente à *Staphylococcus aureus*

Bactéria (ATCC)	CIM(µmol/L)		CBM(µmol/L)	
	Compostos		Compostos	
	CABN	PROP	CABN	PROP
<i>S. aureus (29213)</i>	50 à 100	50 à 100	-	100 à 200

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos são prospectivos na elaboração de novos fármacos com a obtenção de dois compostos sintéticos glicídicos e aromáticos com potencial função antibacteriana frente à *S. aureus*. Com o esgotamento das opções de terapêutica e a crescente redução da eficácia das drogas existentes, a comunidade científica tem como um dos objetivos buscar novas substâncias que possam ser utilizadas no combate às bactérias prevalentes em infecções nosocomiais, além de poder apresentar mecanismos de ação diferentes daqueles já existentes.

## REFERÊNCIAS

- VILLAS BÔAS, P. J. F.; RUIZ, T. Ocorrência de infecção hospitalar em idosos internados em hospital universitário. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, p. 372-378, 2004. ISSN 0034-8910.
- POVEDA, V. D. B.; GALVÃO, C. M.; HAYASHIDA, M. Análise dos fatores de risco relacionados à incidência de infecção do sítio cirúrgico em gastrocirurgias. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 37, p. 81-89, 2003. ISSN 0080-6234.
- JARVIS, W. R.; SINKOWITZ-COCHRAN, R. L. Emerging healthcare-associated problem pathogens in the United States. **Postgrad Med**, v. 109, n. 2 Suppl, p. 3-9, 2001. ISSN 1941-9260 (Electronic)0032-5481 (Linking).
- KRESPI, Y. P.; KIZHNER, V. Laser-assisted nasal decolonization of *Staphylococcus aureus*, including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Am J Otolaryngol**, v. 33, n. 5, p. 572-5, 2012. ISSN 1532-818X (Electronic)0196-0709 (Linking).
- KLEVENES, R. M. et al. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. **Jama**, v. 298, n. 15, p. 1763-71, 2007. ISSN 1538-3598 (Electronic)0098-7484 (Linking).
- VON EIFF, C. et al. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. Study Group. **N Engl J Med**, v. 344, n. 1, p. 11-6, 2001. ISSN 0028-4793 (Print)0028-4793 (Linking).
- GORWITZ, R. J. Understanding the Success of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains Causing Epidemic Disease in the Community. **Journal of Infectious Diseases**, v. 197, n. 2, p. 179-182, January 15, 2008 2008.
- TENOVER, F. C. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. **The American journal of medicine**, v. 119, n. 6, p. S3-S10, 2006. ISSN 0002-9343.
- MULVEY, M. R.; SIMOR, A. E. Antimicrobial resistance in hospitals: how concerned should we be? **Cmaj**, v. 180, n. 4, p. 408-15, 2009. ISSN 1488-2329 (Electronic)0820-3946 (Linking).
- PODVINEC, M. et al. Novel inhibitors of dengue virus methyltransferase: discovery by in vitro-driven virtual screening on a desktop computer grid. **J Med Chem**, v. 53, n. 4, p. 1483-95, 2010. ISSN 1520-4804 (Electronic)0022-2623 (Linking).
- STEUER, C. et al. Optimization of Assay Conditions for Dengue Virus Protease: Effect of Various Polyols and Nonionic Detergents. **Journal of Biomolecular Screening**, v. 14, n. 9, p. 1102-1108, October 1, 2009 2009.