

## Prospecção antibacteriana de compostos sintéticos contra *Staphylococcus Aureus* e *Klebsiella Pneumoniae*

MIRANDA, V.C<sup>1</sup>; ASSIS, I.B<sup>1</sup>; PEREIRA, F.P<sup>1</sup>; ALEIXO, A.A<sup>1</sup>; CARVALHO, R.S<sup>1</sup>; CAMARGOS, V.N<sup>1</sup>; HERRERA, K.M.S<sup>1</sup>; MAGALHÃES, J.T<sup>1</sup>; CARVALHO, F.S<sup>1</sup>; BRETAS, A.C.O<sup>2</sup>; LAVORATO, S.N<sup>2</sup>; ALVES, R.J<sup>2</sup>; FERREIRA, J.M.S<sup>1</sup>

### RESUMO

As bactérias *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*, são responsáveis por doenças que acometem a saúde humana. Estas, prevalentes em ambiente hospitalar, têm adquirido resistência a várias classes de antibióticos existentes. Portanto, este trabalho tem como objetivo avaliar potenciais antimicrobianos frente a *S. aureus* (ATCC 29.215) e *K. pneumoniae* (ATCC 4352). Para tal, foi feita a técnica de microdiluição em caldo para determinar a concentração inibitória mínima (MIC) e o índice de citotoxicidade (IC50). O MIC para *S. aureus* foi 4, 6 e 2 µmol e 2, 6 e 4 µmol para *K. pneumoniae*. O IC50 para CAMMC, CAOOM e CAMOM foram 1,48, 4,4 e 1,03 µmol para *S. aureus* e 1,37; 1,7 e 2,18 µmol para *K. pneumoniae*. Tendo em vista que valores inferiores a 6 µmol para o MIC e 5 µmol para o IC50 apresentam alta relevância como antimicrobianos, todos os compostos foram eficientes contra as bactérias testadas.

**Palavras-chave:** compostos sintéticos; antimicrobiano; *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*.

### INTRODUÇÃO

Atualmente, há significativa preocupação em relação à resistência de microrganismos frente aos agentes antimicrobianos que existem no mercado, os quais geram complicações nocivas à saúde e tornam o controle de sua disseminação uma prioridade para instituições hospitalares. O termo bactéria multiresistente é usado para determinar os organismos

resistentes a um número significativo de antimicrobianos. Sendo a resistência em bactérias originadas de diversas formas, como por exemplo, o uso inadequado de antibióticos. Portanto, a resistência de *S. aureus* e *K. pneumoniae* tem se tornado um problema de saúde pública e alvo de atenção em todos os campos da saúde<sup>1,2</sup>.

A *Staphylococcus aureus* é um microorganismo Gram positivo, membro da família Micrococcaceae.<sup>3</sup> A ampla gama de infecções humanas causadas por este agente é uma causa importante de infecções relacionadas à assistência a saúde, uma vez que acometem a pele, sistema respiratório, ósseo, distúrbios da articulação e endovascular. Na década de 60 tornou-se resistente aos antibióticos β-lactâmicos em geral e também à metilina (MRSA), devido à presença do gene mecA. A introdução de novas classes de antimicrobianos comumente é seguida pelo surgimento de resistência da *S. aureus*, cujo impacto é mundial<sup>4</sup>.

Outro patógeno de importância nosocomial é a *Klebsiella pneumoniae*, um bacilo Gram negativo, membro da família Enterobacteriaceae. Sua colonização em seres humanos provavelmente ocorre por contato com as diversas fontes ambientais e pode ser encontrada na orofaringe, pele e trato gastrointestinal. Já no organismo de pessoas imunocomprometidas, esta bactéria encontra um ambiente propício para seu crescimento, levando a quadros de infecção<sup>5</sup>.

A *Klebsiella pneumoniae* KPC (produtora da enzima carbapenemase), é uma bactéria que é resistente a até 95% dos antimicrobianos existentes no mercado farmacêutico. Segundo dados do Ministério da Saúde, no Distrito Federal foram feitas 187 notificações de infecção no ano de 2010<sup>6</sup>.

Diante disso, as infecções causadas por *S. aureus* e *K. pneumoniae* multiresistentes, além de representarem um sério problema de saúde pública, tornam-se um grande desafio terapêutico, havendo assim, a necessidade da aproximação entre a indústria farmacêutica e os grupos de pesquisa. Em paralelo às medidas de controle, é preciso trabalhar na produção de novos medicamentos, descobrir fármacos substitutos de ação

<sup>1</sup> Universidade Federal de São João Del Rei – Departamento de Microbiologia- CEP 35.501-296 - Divinópolis – Minas Gerais, Brasil- E-mail: vivi-miranda\_cm@hotmail.com

<sup>2</sup> Universidade Federal de Minas Gerais – Departamento de Química Farmacêutica Medicinal- CEP 31270-901 – Belo Horizonte – Minas Gerais, Brasil.

rápida, a fim de limitar a disseminação bacteriana, reduzindo os índices de morbidade e mortalidade ligados a diferentes doenças infecciosas. Nesse sentido, as moléculas sintéticas, de extratos ou frações de plantas medicinais quimicamente caracterizadas, tornam-se importantes alvos neste combate<sup>7</sup>.

Assim, este trabalho tem como objetivo avaliar a atividade antibacteriana *in vitro* de três compostos sintéticos (CAMMC, CAOOM, e CAMOM), frente à *Staphylococcus aureus* ATCC 29.215 e *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os compostos glicídicos sintéticos, CAMMC, CAOOM e CAMOM, foram cedidos pelo Prof. Ricardo José Alves, oriundos da quimioteca do Laboratório de Química Farmacêutica Medicinal da Faculdade de Farmácia da UFMG.

A concentração inibitória mínima (MIC) foi determinada pelo método de microdiluição em caldo de acordo com o Clinical and Laboratory Standards Institute<sup>8</sup>. Utilizou-se nos ensaios a *Staphylococcus aureus* ATCC 29.215 e *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352. As cepas bacterianas foram cedidas pelo Laboratório de Microrganismos de Referência da Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ / Brasil.

Os compostos foram diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) 10%, resultando nas concentrações de 7; 6; 4; 2 e 1  $\mu\text{mol}$  para CAMMC e CAMOM, e as diluições para o CAOOM foram nas concentrações de 8; 6; 4; 2 e 1  $\mu\text{mol}$  para a realização dos ensaios antimicrobianos. Penicilina/ Estreptomicina 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Sigma-Aldrich, EUA), DMSO 10%, caldo Mueller Hinton puro (CMH - Himedia, Índia) e CMH contendo os microorganismos, foram utilizados como controles positivo, negativo, de esterilidade do meio e de crescimento microbiano, respectivamente. A Concentração Inibitória Mínima (MIC) foi avaliada com base na menor concentração de amostra

capaz de inibir mais de 80% do crescimento microbiano. Os ensaios foram realizados em triplicata.

O índice de citotoxicidade (IC<sub>50</sub>), concentração capaz de inibir 50% do crescimento bacteriano, foi determinado pelo software Prisma<sup>®</sup> 5, através de curvas que representam a correlação entre a porcentagem de inibição e a concentração dos compostos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade dos três compostos sintéticos utilizados neste estudo podem ser observadas na tabela 1. Comparando-se o IC<sub>50</sub> e o MIC entre os compostos testados, pode ser observado que todos os compostos apresentaram resultados promissores, uma vez que todos foram inferiores a 6 mmol.

O CAMMC obteve maior eficácia contra a *K. pneumoniae* com MIC de 2mmol, e o CAMOM foi o mais eficaz contra a *S. aureus*, com a mesma concentração.

O CAOOM, apesar de não possuir a melhor atividade entre os compostos testados, apresentou um MIC relativamente baixo, não inviabilizando o seu potencial antimicrobiano.

Adicionalmente à busca por novos fármacos, estratégias para melhorar as atuais diretrizes de prevenção e transmissão de microrganismos resistentes a antimicrobianos devem ser priorizadas por todos os estabelecimentos de saúde. Diante dessa postura, médicos e enfermeiros devem tomar certos cuidados quanto à higienização das mãos, assim como os visitantes, que devem utilizar luvas e máscaras para uma prevenção mais efetiva. Torna-se necessário também a implantação de um rigoroso e discriminado sistema de prescrição e venda de antibióticos.

Tabela 1: Concentração Inibitória Mínima (MIC) e IC50 dos compostos sintéticos (CAMMC, CAOOM e CAMOM)

Composto	Bactérias			
	<i>S. aureus</i> MIC (µmol)	IC50	<i>K. pneumoniae</i> MIC (µmol)	IC50
CAMMC	4	1,48	2	1,37
CAOOM	6	4,4	6	1,7
CAMOM	2	1,03	4	2,18

## CONCLUSÕES

Considerando as atividades dos compostos sintéticos CAMMC, CAOOM, e CAMOM frente à *S. aureus* e *K. pneumoniae*, sugere-se que estas substâncias tenham potencial como drogas antibacterianas, tornando-se uma alternativa aos antimicrobianos atualmente utilizados. Entretanto, a atividade antimicrobiana desses compostos age por mecanismos ainda não esclarecidos, sendo necessários mais estudos nessa área.

## REFERÊNCIAS

- 1) KUEHNERT, M. J. et al. Prevalence of Staphylococcus aureus nasal colonization in the United States, 2001–2002. **Journal of Infectious Diseases**, v. 193, p. 172-179, 2006.
- 2) DIENSTMANN, R. et al. Avaliação fenotípica da enzima Klebsiella pneumoniae carbapenemase (KPC) em Enterobacteriaceae de ambiente hospitalar. **J Bras Patol Med Lab**, v. 46, p. 23-7, 2010.
- 3) SIEVERT, D.; BOULTON, M. Staphylococcus aureus resistente a vancomicina-EUA-2002. **MMWR**, v. 26, p. 565, 2002.
- 4) LUJÁN ROCA, D.A. Staphylococcus aureus resistente a meticilina asociado a la comunidad: aspectos epidemiológicos y moleculares. **Anales de la Facultad de Medicina**, v. 74, p.57-62, 2013.
- 5) TZOUVELEKIS, L. et al. Carbapenemases in Klebsiella pneumoniae and other Enterobacteriaceae: an evolving crisis of global dimensions. **Clinical microbiology reviews**, v.25, p. 682-707, 2012.
- 6) Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da saúde. **Revista Clipping**. De 12 de novembro de 2010.
- 7) ANTUNES, R. M. P. et al. Atividade antimicrobiana "in vitro" e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. **Rev Bras Farmacogn**, v. 16, p. 517-524, 2006.

- 8) CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. Approved Standard-Sixth Edition. CLSI document M7-A6 **Wayne, Pa**, 2003.