

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia COVID no ensino, pesquisa e extensão"



POTENCIALIZAÇÃO DE ANTIBIÓTICOS PELO BETA-CARIOFILENO CONTRA CEPAS BACTERIANAS MULTIRRESISTENTES

Cícera Laura Roque Paulo¹, Eduardo Lourenço Santos², Ana Carolina Justino de Araújo², Priscilla Ramos Freitas², Ray Silva de Almeida², José Bezerra de Araújo Neto², Saulo Relison Tintino², Henrique Douglas Melo Coutinho³

Resumo: A resistência bacteriana é uma problemática crescente e preocupante a nível global. Assim, a combinação da antibioticoterapia a terapias alternativas, como o uso de produtos naturais, apresenta-se como uma alternativa promissora. Objetivou-se avaliar a atividade antibacteriana do beta-cariofileno e seu potencial modificador da ação de antibióticos contra cepas bacterianas multirresistentes. Na avaliação da atividade antibacteriana do beta-cariofileno foi utilizado o método de microdiluição em caldo utilizando as cepas *Staphylococcus aureus* 10, *Pseudomonas aeruginosa* 24 e *Escherichia coli* 06. Para analisar o potencial modificador da ação antibiótica utilizou-se o produto em concentração sub-inibitória (CIM/8) associado à norfloxacin, eritromicina e gentamicina. Contra *P. aeruginosa* e *E. coli* a CIM do beta-cariofileno foi de 1.024 µg/mL e contra *S. aureus* de 32 µg/mL. O beta-cariofileno potencializou a gentamicina contra *S. aureus*, a eritromicina contra *P. aeruginosa* e a norfloxacin contra todas as cepas. Conclui-se que o beta-cariofileno mostra efeitos antibacterianos intrínsecos e associados mais significativos contra *S. aureus* 10.

Palavras-chave: Sesquiterpeno. Resistência Bacteriana. Sinergismo.

1. Introdução

A resistência dos micro-organismos aos antibióticos tem se tornado um problema de saúde pública cada vez mais preocupante. Cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, estão comumente associadas a infecções em âmbito hospitalar e comunitário, sendo responsáveis por elevados índices de mortalidade (GOPALAKRISHNAN; SURESHKUMAR, 2010).

A utilização de produtos naturais de origem vegetal na reversão da resistência bacteriana tem mostrado resultados significativos (ARAÚJO et al., 2020). O beta-cariofileno é um sesquiterpeno, substância que pode ser encontrada em vários óleos essenciais, sendo portador de diversas atividades

¹ Universidade Regional do Cariri – URCA, e-mail: lauraroquealencar@gmail.com

² Universidade Regional do Cariri – URCA

³ Universidade Regional do Cariri – URCA, e-mail: hdmcoutinho@gmail.com

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia COVID no ensino, pesquisa e extensão"



biológicas comprovadas cientificamente, como, por exemplo: anti-inflamatória, antialérgica, antifúngica, anticarcinogênica (ALCÂNTARA et al., 2010).

2. Objetivo

Avaliar a atividade antibacteriana do beta-cariofileno e seu potencial modificador da ação de antibióticos contra cepas bacterianas multirresistentes.

3. Metodologia

Para esse estudo, 10 mg do beta-cariofileno e dos antibióticos (norfloxacina, eritromicina e gentamicina) foram diluídos em 1 mL de DMSO e 8,765 mL de água destilada para ter a concentração de 1.024 µg/mL. Foram utilizadas as linhagens bacterianas *Pseudomonas aeruginosa* 24, *Staphylococcus aureus* 10 e *Escherichia coli* 06. Nas 24 h que antecedem os testes, as cepas bacterianas foram semeadas em placas de Petri contendo *Heart Infusion Agar* (HIA) e mantidas em estufa a 37 °C para crescimento. Após esse período, um pequeno arrasto bacteriano foi diluído em tubos de ensaio contendo solução salina estéril, em triplicata. A turbidez da solução foi comparada com a escala de McFarland 0,5 (COUTINHO et al., 2008).

Para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), foi preparado o meio de distribuição em *ependorfs* utilizando 100 µL do inóculo em 900 µL do meio de cultura líquido BHI. O conteúdo dos *ependorfs* foi transferido para placas de microdiluição. A próxima etapa seguiu com realização da microdiluição das substâncias, com concentração de 1.024 µg/mL, sendo 100 µL nesse meio até penúltima cavidade. Os testes foram realizados em triplicata. As placas foram incubadas a 35 ± 2 °C, durante 24 h. Após esse período, as placas foram reveladas com corante específico, a resazurina. Considera-se positivo para os poços que não apresentaram crescimento microbiano, ou seja, permaneceram com a coloração azul e negativa os que obtiveram coloração rosa (SALVAT et al, 2001).

Para verificar a modulação da ação antibiótica, a CIM dos antibióticos foi avaliada na presença e na ausência do beta-cariofileno em microplacas estéreis. (COUTINHO et al., 2008). Os resultados foram expressos em média aritmética ± desvio padrão, avaliados estatisticamente através da análise de variância (ANOVA) seguido pelo test *post-hoc* Bonferroni utilizando o software *GraphPad Prism*, as diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

4. Resultados

Os valores da atividade antibacteriana por ação direta do beta-cariofileno estão apresentados na Tabela 1:

Tabela 1 – Valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do beta-cariofileno

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia COVID no ensino, pesquisa e extensão"

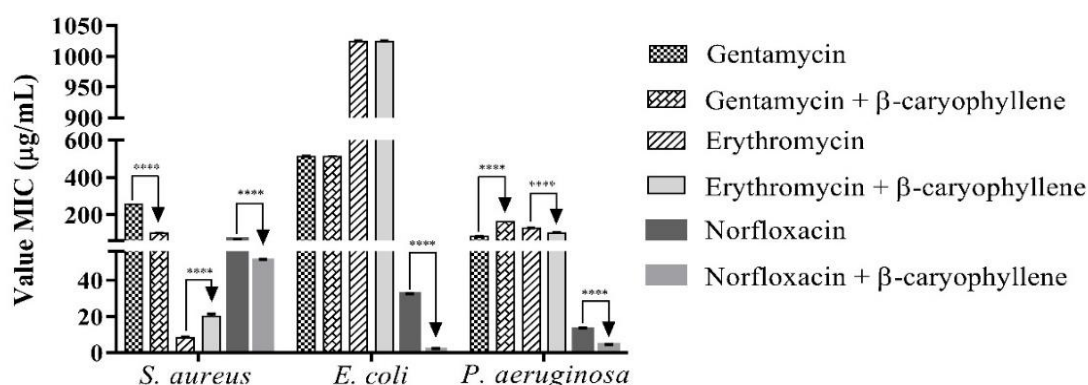


Cepas Bacterianas	CIM (µg/mL)
<i>Escherichia coli</i> 06	≥1024
<i>Staphylococcus aureus</i> 10	32
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 24	≥1024

Araújo et al. (2020) ao analisar a atividade antibacteriana do limoneno, que também é um terpeno, indicou que esse produto também possui CIM de 1.024 µg/mL contra *E. coli* 06 e *P. aeruginosa* 24, corroborando os resultados do presente estudo. O resultado com *S. aureus* 10 pode ser explicado pela estrutura de sua parede celular, mais simples que a parede celular de Gram-negativos (LOGUERCIO et al., 2005).

Como mostrado na Figura 1, contra *S. aureus* 10 o beta-cariofileno potencializou o efeito da gentamicina e da norfloxacin, contra *E. coli* 06 houve sinergismo somente com a norfloxacin, e contra *P. aeruginosa* 24 houve redução da CIM da eritromicina e da norfloxacin. Efeitos antagônicos foram observados na associação com a eritromicina contra *S. aureus* e com a gentamicina contra *P. aeruginosa*.

Figura 1 – Atividade modificadora de antibióticos do beta-cariofileno associado à gentamicina, eritromicina e norfloxacin. ****p < 0,0001.



Segundo o estudo de Freitas et al. (2020), a análise da atividade moduladora do alfa-pineno demonstrou que este terpeno potencializou a atividade da norfloxacin contra *P. aeruginosa* 24, *E. coli* 06 e *S. aureus* 10, assim como o beta-cariofileno na presente pesquisa. Ademais, este composto

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia COVID no ensino, pesquisa e extensão"



modulou a ação da gentamicina apenas contra *S. aureus* 10, corroborando nossos resultados.

Segundo Araújo et al. (2020), a associação de norfloxacin com o limoneno não afetou a CIM do antibiótico contra *E. coli*, mas potencializou e antagonizou o efeito do antibiótico contra *S. aureus* e *P. aeruginosa*, respectivamente. Finalmente, ao analisar a associação de limoneno com gentamicina contra *P. aeruginosa*, foi possível observar uma pequena redução na CIM do antibiótico, mas as diferenças não foram estatisticamente significativas.

5. Conclusão

Pode-se concluir que o beta-cariofileno possui eficácia na atividade antibacteriana apenas contra *S. aureus* 10. Além disso, é capaz de potencializar seletivamente a ação dos antibióticos contra as cepas testadas, sendo mais significativo contra a cepa Gram-positiva.

6. Agradecimentos

Ao Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular (LMBM) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

7. Referências

ALCÂNTARA, J. M. et al. Composição química e atividade biológica dos óleos essenciais das folhas e caules de *Rhodostemonodaphne parvifolia* Madriñán(Lauraceae). **Revista Acta Amazonica**, v. 40, n. 3, p. 567-572, 2010.

ARAÚJO, A. C. J. et al. GC-MS-FID characterization and antibacterial activity of the *Mikania cordifolia* essential. **Food and chemical toxicology**, vol 136, 2020.

COUTINHO, H. D. M et al. Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine. **Chemotherapy**, v. 54, n. 4, p. 328-330, 2008.

FREITAS, P. R., et al., GC-MS-FID and potentiation of the antibiotic activity of the essential oil of *Baccharis reticulata* (ruiz & pav.) pers. and α -pinene. **Industrial Crops & Products**, vol, 145, 2020.

GOPALAKRISHNAN, R.; SURESHKUMAR, D. Mudanças nas tendências de susceptibilidade a antimicrobianos e infecções adquiridas em hospitais por um período de 8 anos em um hospital terciário em relação à introdução de um programa de controle de infecções. **J Assoc Physicians Índia**, v. 58, n. Suppl, p. 25-31, 2010.

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA
XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

*Tema: "Os impactos e desafios da pandemia COVID no ensino,
pesquisa e extensão"*



LOGUERCIO, A. P. et al. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência rural**, v. 35, n. 2, p. 371-376, 2005.