

VII SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA – XXV
Semana
de Iniciação Científica da URCA
e VIII Semana de Extensão da URCA

12 a 16 de dezembro de 2022

Tema: “DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA, INDEPENDÊNCIA E SOBERANIA NACIONAL”



ESTUDO PROSPECTIVO COM BIOMASSA DAS CIANOBACTÉRIAS
***Cylindrospermopsis raciborskii* e *Microcystis aeruginosa* NA**
ELABORAÇÃO DE NANOSANITIZANTE

Mariana Pereira da Silva¹, Natália Kelly Gomes de Carvalho², Johnatan Wellisson da Silva Mendes³ José Jonas Ferreira Viturino⁴ Cicera Janaine Camilo⁵ Débora Odilia Duarte Leite⁶ Carla de Fátima Alves Nonato⁷ José Galberto Martins da Costa⁸

Resumo: O uso generalizado de antibióticos tem sido considerado um dos principais fatores da propagação de patógenos multirresistentes. O desenvolvimento de nanopolímeros de fontes naturais surgem como uma alternativa a essa problemática. As cianobactérias são promissoras, devido às vantagens de aplicação biotecnológica e síntese de vários de metabólitos secundários. Nesse sentido, esse projeto busca avaliar a ação antimicrobiana e toxicológica de produtos naturais poliméricos de PLGA de *Cylindrospermopsis raciborskii* e *Microcystis aeruginosa*, e elaborar um bioproduto sanitizante. Os extratos orgânicos das cianobactérias serão submetidos a cromatografia líquida de alta eficiência e Ressonância Magnética Nuclear de ¹³C e ¹H para isolamento e identificação de metabólitos secundários. Os nanopolímeros serão preparados em diferentes concentrações dos produtos naturais obtidos, seguidos da avaliação do potencial antimicrobiano e toxicidade frente *Artemia salina*, com posterior elaboração do bioproduto sanitizante. Espera-se que o bioproduto obtido possa gerar impactos econômicos, e que seja viável para produção em larga escala.

Palavras-chave: Cianobactérias. Nanopolímeros de PLGA. Atividade antimicrobiana. Bioprodutos.

1. Introdução

A incidência de infecções causadas por microrganismos patógenos resistentes a múltiplos antibióticos tem avançado em escala mundial nos últimos anos (BASSETTI et al., 2022). Como alternativa a essa problemática, a elaboração de nanopolímeros de fontes naturais podem oferecer propriedades favoráveis no desenvolvimento de bioprodutos capazes de combater esse fenômeno, como fácil disponibilidade e maior compatibilidade, proteção do ativo no combate a fatores externos, liberação controlada, solubilidade em soluções

¹ Universidade Regional do Cariri, email: mariana.pereira@urca.br

² Universidade Estadual do Ceará, email: nataliakellygc@gmail.com

³ Universidade Regional do Cariri, email: johnatansmendes@outlook.com

⁴ Universidade Regional do Cariri, email: jonas.ferreira@urca.br

⁵ Universidade Federal Rural do Pernambuco, email: Janainecamilo@hotmail.com

⁶ Universidade Regional do Cariri, email: biodeboraleite@yahoo.com.br

⁷ Universidade Regional do Cariri, email: carlaalvesbio@hotmail.com

⁸ Universidade Regional do Cariri, email: galberto.martins@gmail.com

VII SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA – XXV

Semana

de Iniciação Científica da URCA e VIII Semana de Extensão da URCA

12 a 16 de dezembro de 2022

Tema: “DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA, INDEPENDÊNCIA E SOBERANIA NACIONAL”



aquosas, além de permitir um maior espectro de ação de bioprodutos (ACHARYA e PAL, 2020)

Entre as fontes naturais, as cianobactérias, popularmente conhecidas como algas-azuis, possuem algumas vantagens de aplicação biotecnológica como a; i) exigência de crescimento de baixo custo, ii) curto tempo de geração e, iii) facilidade de manipulação genética (YADAV et al., 2017). Como estratégia evolutiva para lidar com os estresses bióticos e abióticos, as cianobactérias sintetizam uma diversidade de metabólitos secundários, além disso, esses compostos desempenham inúmeras bioatividades, incluindo; antimicrobiana, anticancerígena e antioxidante.

Portanto, esse projeto tem o objetivo de avaliar a ação antimicrobiana de produtos naturais poliméricos de poli (ácido lático-co-ácido glicólico) – PLGA das cianobactérias *Cylindrospermopsis raciborskii* e *Microcystis aeruginosa*, no controle das bactérias multirresistentes *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e fungos patógenos *Candida albicans*, *C. tropicalis* e *C. Krusei*, bem como verificar a toxicidade frente *Artemia salina*, com possível elaboração de um novo bioproduto sanitizante.

Assim, o desenvolvimento desse projeto busca contribuir de forma sustentável com a produção de uma novo agente desinfetante que possa atender demandas industriais no contexto da resistência antimicrobiana.

2. Objetivo

Obter produtos naturais poliméricos de PLGA das cianobactérias *Cylindrospermopsis raciborskii* e *Microcystis aeruginosa* e avaliar a ação antimicrobiana frente a patógenos multirresistentes com vistas na elaboração de um nano bioproduto sanitizante.

3. Metodologia

3.1 Coleta e preparo das amostras

Os extratos orgânicos das cianobactérias *Cylindrospermopsis raciborskii* e espécies formadoras de floração *Microcystis aeruginosa*, serão obtidas da Coleção de Culturas de Algas do laboratório SELAQUA da Universidade Federal do Ceará e liofilizadas antes das extrações.

3.2 Análises cromatográficas

Os procedimentos para preparação de frações orgânicas e isolamento das substâncias serão realizados, especialmente, por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM) e Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas (CL/EM). Os métodos e as técnicas a serem escolhidas e os parâmetros analíticos a serem adotados dependerão do andamento das pesquisas.

VII SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA – XXV

Semana

de Iniciação Científica da URCA e VIII Semana de Extensão da URCA

12 a 16 de dezembro de 2022

Tema: “DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA, INDEPENDÊNCIA E SOBERANIA NACIONAL”



3.3 Preparação dos nanopolímeros PLGA

Os nanopolímeros de PLGA serão obtidos pelo método de deposição interfacial de polímero pré-formado (FESSI et al. 1989), a partir da mistura de duas fases. A primeira fase será a preparação de uma mistura orgânica contendo o polímero de PLGA 50:50, fosfatidilcolina de soja, Span, e os extratos solubilizados em acetona (15 mL), serão introduzidos lentamente na fase aquosa constituída de Tampão Fosfato pH 7, sob agitação magnética por 10 min. Na sequência, o solvente orgânico deve ser eliminado em evaporador rotativo (FLORES et al., 2011). A caracterização das formulações serão avaliados; o tamanho médio, polidispersão e potencial zeta, pH, análises morfológicas e estabilidade.

3.4 Ensaios antibacterianos

Os testes antibacterianos serão avaliados pelo método de concentração inibitória mínima (CIM), frente as linhagens Gram-negativas; *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e Gram-positivo; *Staphylococcus aureus*. A concentração inibitória mínima (CIM) será definida como a menor concentração do extrato em inibir o crescimento de bactérias (COUTINHO et al., 2008)

3.5 Avaliação da atividade moduladora por contato direto

Para avaliar o efeito potencializador da resistência frente aos antibióticos da classe dos aminoglicosídeos e β -lactâmicos, serão utilizadas as linhagens bacterianas que obtiverem CIMs $\leq 512 \mu\text{g/mL}$ (COUTINHO et al., 2008).

3.6 Ensaios antifúngicos

Para a determinação da concentração fungicida mínima (CFM), serão analisadas as cepas; *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei*, fornecidas pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS)—FIOCRUZ. A atividade antifúngica será avaliada usando o método de microdiluição conforme descrito por Javadpour et al. (1996) com adaptações quanto aos controles e concentrações. Assim, será feita ainda a análise da modulação da resistência antifúngica, atividade combinada dos extratos e fluconazol que será determinada usando o extrato em uma concentração subinibitória baseada na Concentração da Matriz (CM/16) (MORAIS-BRAGA et al. 2016b).

3.7 Testes toxicológicos feitos *in vitro*

A toxicidade contra o microcrustáceo *Artemia salina* (Leach), ocorrerá em triplicata, em diferentes concentrações, acompanhadas de um controle positivo preparado com dicromato de potássio e controle negativo água marinha. Após o período de 24 horas, será feita a leitura de larvas sobreviventes para cálculo de IC₅₀. será realizado por regressão linear, sendo considerado significativo quando CL50 < 1000 $\mu\text{g/mL}$ (HIROTA et al., 2012).

VII SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA – XXV

Semana de Iniciação Científica da URCA e VIII Semana de Extensão da URCA

12 a 16 de dezembro de 2022

Tema: “DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA, INDEPENDÊNCIA E SOBERANIA NACIONAL”



3.8 Elaboraões do bioproduto sanitizante

O desenvolvimento do bioproduto sanitizante a base de produtos naturais encapsulados de cianobactérias visa reduzir e/ou eliminar a presença de patógenos multirresistentes em superfícies contaminadas, além de permitir menor custos econômicos e vantagens biodegradáveis. Assim, a metodologia que será desenvolvida buscará comparar os efeitos do nano sanitizante obtido com sanitizantes atualmente comercializados.

3.9 Análises estatísticas

As análises estatísticas serão realizadas em triplicata e os dados expressos como média ($n=3$) \pm desvio padrão (DP) usando a Análise de Variância (ANOVA) sucedida pelo teste de Tukey de comparaões múltiplas para dados com distribuição normal e desvios padrões significativamente semelhantes.

4. Resultados

Os avanços nas formulaões nanobiotecnológicas apresentam aspectos promissores no desenvolvimento seguro de bioprodutos provenientes de fontes naturais, como as cianobactérias. Assim, mediante os resultados que serão alcançados, espera-se que as nanoestruturas com diferentes concentraões de produtos naturais isolados e elucidados das cianobactérias apresentem potencial antimicrobiano e níveis seguros de toxicidade, capazes de elaborar um novo bioproduto sanitizante que seja eficiente para eliminação/control de patógenos multirresistentes em ambientes contaminados. É importante destacar que, a obtenção desse bioproduto terá grande impacto econômico e social, devido aos menores custos agregados, características sustentáveis, biodegradáveis e não-tóxicas, sendo viável sua produção em larga escala. Assim, espera-se que esta pesquisa possa contribuir de forma positiva e efetiva para eliminação/control da disseminação de patógenos multirresistentes, e que paralelamente a isso, proporcione benefícios sobre um desenvolvimento tecnológico sustentável com fins lucrativos para futuras produões.

5. Consideraões finais

Considerando os impactos da resistência bacteriana a saúde humana mundial e a urgência na busca e desenvolvimento de novas alternativas antibacterianas, espera-se que o projeto alcance com êxito os objetivos de nanoencapsular produtos naturais bioativos isolados de cianobactérias sensíveis a diferentes patógenos multirresistentes, e potencial de aplicação biotecnológica no desenvolvimento de um novo bioproduto com potencial sanitizante e capacidade de aplicação em ambientes contaminados.

6. Referências

VII SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA – XXV

Semana

de Iniciação Científica da URCA e VIII Semana de Extensão da URCA

12 a 16 de dezembro de 2022

Tema: “DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA, INDEPENDÊNCIA E SOBERANIA NACIONAL”



ACHARYA, A.; PAL, P. K. Agriculture nanotechnology: Translating research outcome to field applications by influencing environmental sustainability. **NanoImpact**. v. 19, p. 100232, 2020.

BASSETTI, S; TSCHUDIN-SUTTER, S; EGLI, A; OSTHOFF, M. Optimizing antibiotic therapies to reduce the risk of bacterial resistance. **European Journal of Internal Medicine**, 99, 7–12. 2022.

COUTINHO, HDM; COSTA, JGM; LIMA, EO; FALCÃO-SILVA, VS; SIQUEIRA-JÚNIOR, JP. Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine. **Chemotherapy** 54, 328–330, 2008.

FESSI, H.; PUISIEUX, F.; DEVISSAGUET, J. P.; AMMOURY, N.; BENITA, S. Nanocapsule formation by interfacial deposition following solvent displacement. *Int. J. Pharm.*, v. 55, p.R1- R4, 1989.

FLORES, F.C.; RIBEIRO, R.F.; OURIQUE, A.F.; ROLIM, C.M.B.; SILVA, C.B. Nanostructured systems containing an essential oil: protection against volatilization. **Revista Química Nova**, v. 34, n. 6, p. 968-972, 2011

HIROTA, BCK; PAULA, CS; MIGUEL, OG; MIGUEL, MD. Avaliação de toxicidade in vitro: aplicabilidade do ensaio de letalidade frente a *Artemia salina*. **Visão acadêmica**, v. 13, n. 2, p. 42-48, 2012.

JAVADPOUR, MM; JUBAN, MM; LO, WCJ; BISHOP, SM; ALBERTY, JB; COWELL, SM; MCLAUGHLIN, ML. De novo antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. **J Med Chem** 39:3107–3113. 1996.

MORAIS-BRAGA, MFB; SALES, DL; CARNEIRO, JNP. et al. *Psidium guajava* L. and *Psidium brownianum* Mart ex DC.: chemical composition and anti-*Candida* effect in association with fluconazole. **Microb Pathog** 95:200–207. 2016b.

YADAV, S; RAI, S; RAI, R; SHANKAR, A; SINGH, S; RAI, LC. Cyanobacteria: Role in Agriculture, Environmental Sustainability, Biotechnological Potential and Agroecological Impact. **Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives**, v. 2, p. 257–277, 2017.