

Avaliação da Atividade Antimicrobiana de Lipossomas Contendo Ciprofloxacina Contra a Bactéria *Proteus mirabilis*

Brenda Xavier Gonçalves¹ (IC), Daniel Cristian Ferreira Soares (PQ)², Daniela Sachs (PQ)¹

¹Universidade Federal de Itajubá – Itajubá, ²Universidade Federal de Itajubá- Itabira

Palavras-chave: Ciprofloxacina. Lipossomas. Crescimento bacteriano.

Introdução

A resistência antimicrobiana é atualmente considerada um dos maiores problemas para a saúde pública global, prejudicando a eficácia de tratamentos convencionais para infecções bacterianas. *Proteus mirabilis*, uma bactéria Gram-negativa comumente associada a infecções do trato urinário, é um dos patógenos resistentes aos antibióticos (TORTORA et al., 2022). Neste contexto, novas abordagens terapêuticas, como o uso de lipossomas encapsulando antimicrobianos, têm sido estudadas para aumentar a eficácia do tratamento (GUIMARÃES et al., 2021; NSAIRAT et al., 2022; SHAH et al., 2020). Os lipossomas, estruturas biocompatíveis e biodegradáveis, podem encapsular fármacos como a ciprofloxacina, permitindo a liberação controlada em locais específicos, reduzindo efeitos colaterais sistêmicos e potencializando a ação antimicrobiana (GUIMARÃES et al., 2021; YAYEHRAD et al., 2022; NSAIRAT et al., 2022; DOU et al 2017). Este trabalho tem como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana de lipossomas encapsulando ciprofloxacina contra a bactéria *Proteus mirabilis*.

Metodologia

1. Preparação dos lipossomas: Os lipossomas utilizados no estudo foram preparados utilizando a técnica de evaporação em fase reversa. Este processo consistiu na dissolução de fosfolipídios em clorofórmio, formando uma camada lipídica após a remoção do solvente sob vácuo. Foram utilizados fosfolipídios DPPC, DSPC e DSPE-PEG2000 nas proporções molares de 75:20:5. Em seguida, foi adicionada uma solução de ciprofloxacina a 250 µg/mL para a preparação dos lipossomas encapsulados com ciprofloxacina (TSLC). Os lipossomas foram submetidos a diálise para remover

solventes residuais e garantir a formação adequada das vesículas.

2. Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI): A CMI foi determinada utilizando o método de microdiluição em caldo, conforme descrito pela CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).

Em placas de 96 poços estéreis, foram realizadas diluições seriadas dos lipossomas contendo ciprofloxacina e da ciprofloxacina livre. Em cada poço, foi adicionada uma mistura de 100 µL do inóculo bacteriano e 100 µL das diferentes concentrações de lipossomas ou ciprofloxacina. Como controle, foram utilizados poços contendo apenas o meio de cultura (caldo BHI) e poços contendo o inóculo sem a adição de antimicrobianos.

As placas foram incubadas por 24 horas a 37°C. Após a incubação, foi adicionada uma solução de resazurina em cada poço para detectar o crescimento bacteriano. A resazurina é um indicador colorimétrico que muda de cor conforme a viabilidade bacteriana: poços que apresentaram crescimento bacteriano ficaram rosa (indicando a redução do composto), enquanto os poços sem crescimento permaneceram azuis.

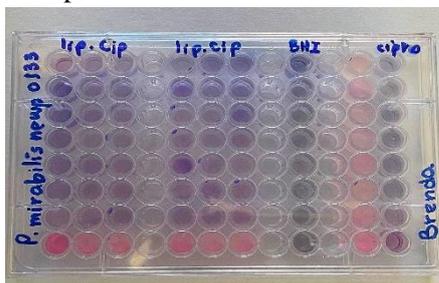
3. Determinação da Concentração Mínima Bactericida (CMB): A CMB foi determinada a partir das amostras utilizadas no teste de CMI. Após a incubação, alíquotas de 10 µL de cada poço que não apresentaram crescimento visível foram transferidas para placas de ágar TSA estéreis. As placas foram incubadas por mais 24 horas a 37°C para avaliar a capacidade bactericida dos lipossomas e da ciprofloxacina.

A CMB foi definida como a menor concentração capaz de reduzir a viabilidade bacteriana em 99,9%, ou seja, a menor concentração de ciprofloxacina (encapsulada ou livre) que não resultou em crescimento bacteriano após o repique nas placas de ágar. Poços que apresentaram crescimento bacteriano foram considerados como não bactericidas para aquela concentração.

Resultados e discussão

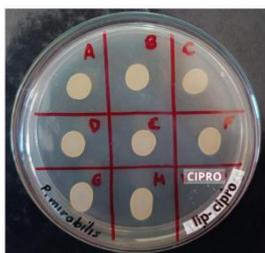
Os resultados indicaram que os lipossomas encapsulando ciprofloxacina apresentaram uma Concentração Mínima Inibitória (CMI) de 0,06 µg/mL, enquanto a ciprofloxacina livre apresentou CMI de 0,25 µg/mL, demonstrando que o encapsulamento aumentou significativamente a eficácia antimicrobiana do fármaco, como mostra a Figura 1.

Figura 1- Placas com os testes de CMI do nanocomposto para *P.mirabilis*



No entanto, os testes de Concentração Mínima Bactericida (CMB) mostraram que nem os lipossomas encapsulados nem a ciprofloxacina livre foram capazes de eliminar completamente a bactéria nas concentrações testadas, indicando que o composto tem ação bacteriostática, mas não bactericida, como demonstrado na Figura 2. Os lipossomas sem o fármaco não apresentaram atividade antimicrobiana, confirmando que a ação observada é devido à ciprofloxacina encapsulada.

Figura 2 - Placa com o teste de CMB do nanocomposto para *P.mirabilis*



Conclusões

Os resultados obtidos indicam que a ciprofloxacina encapsulada em lipossomas pode ser uma estratégia promissora para aumentar a eficácia do antibiótico no tratamento de infecções por *Proteus mirabilis*, devido ao fato de uma concentração significativamente menor de ciprofloxacina ser necessária para inibir o crescimento bacteriano em comparação à ciprofloxacina livre.

Entretanto, o sistema não apresentou atividade bactericida, o que sugere a necessidade de estudos adicionais para otimizar a liberação do fármaco ou explorar combinações terapêuticas que possam aumentar a sua eficácia. Este estudo contribui para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas baseadas em nanotecnologia para o combate a infecções bacterianas resistentes.

Agradecimentos

Agradeço à Universidade Federal de Itajubá (UNIFEI), FAPEMIG (APQ-01956-23) e ao CNPq pela concessão da bolsa de Iniciação Científica. Agradeço também ao Prof. Dr. Daniel Cristian Ferreira Soares pelos lipossomas utilizados no estudo, à Profa. Dra. Daniela Sachs pela orientação, e à doutoranda Tainara Aparecida Nunes Ribeiro e à mestrandia Grazielle Aparecida pelo suporte durante a pesquisa.

Referências

- DOU, Y.; HYNYNEN, K.; ALLEN, C. To heat or not to heat: challenges with clinical translation of thermosensitive liposomes. *Journal of Controlled Release*, v. 249, p. 63-73, 2017.
- GUIMARÃES, D.; CAVACO-PAULO, A.; NOGUEIRA, E. Design of liposomes as drug delivery systems for therapeutic applications. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 601, 2021.
- NSAIRAT, H. et al. Liposomes: structure, composition, types, and clinical applications. *Heliyon*, v. 8, n. 5, 2022.
- SHAH, S.; DHAWAN, V.; HOLM, R.; NAGARSENKER, M. S.; PERRIE, Y. Liposomes: advancements and innovation in the manufacturing process. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 154-155, p. 102-122, 2020.
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- YAYEHRAD, A. T.; WONDIE, G. B.; MAREW, T. Different nanotechnology approaches for ciprofloxacin delivery against multidrug-resistant microbes. *Infection and Drug Resistance*, v. 15, p. 413-426, 2022.