



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA *in vitro* DOS BENZODIAZEPÍNICOS CLONAZEPAM E DIAZEPAM FRENTE A PATÓGENOS ESKAPE

Taciéli Fagundes Da Rosa^{1*}; Vitória Segabinazzi Foletto¹; Marissa Bolson Serafin¹; Laísa Nunes Franco²; Bruno Rafael de Paula²; Rosmari Hörner^{1,3}

¹Laboratório de Bacteriologia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria

²Laboratório de Bacteriologia, Curso de Farmácia, Universidade Federal de Santa Maria

³Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Universidade Federal de Santa Maria

*e-mail: tacielifagundesdarosa@gmail.com

As doenças infecciosas são uma das principais causas de morbimortalidade e esse problema pode ser agravado com a atual crise de resistência aos antimicrobianos. Nesse contexto, bactérias do grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter* spp.) destacam-se pela alta capacidade de desenvolver virulência e serem resistentes a múltiplas drogas. Esses patógenos tendem a "escapar" da ação inibitória antimicrobiana tradicional comercializada. Uma alternativa promissora é a do reposicionamento – também chamado de reaproveitamento ou redirecionamento –, o qual representa uma nova estratégia de desenvolvimento de medicamentos e consiste em encontrar novos usos para medicamentos clinicamente aprovados. Os benzodiazepínicos são comumente utilizados na prática clínica pela conhecida atividade ansiolítica. Na literatura, já existem relatos da atividade antibacteriana desses medicamentos frente a *Staphylococcus coagulase negativa*, *K. pneumoniae* e *Streptococcus pneumoniae*. Com isso, o objetivo desse estudo foi avaliar a atividade antibacteriana *in vitro* dos benzodiazepínicos clonazepam e diazepam frente a 33 isolados clínicos de patógenos ESKAPE provenientes do Hospital Universitário de Santa Maria. A utilização das cepas bacterianas isoladas de pacientes foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria (CEP-UFSM), estando registrada sob o número 055928. O cadastro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) foi registrado sob o número AE78E18-UFSM. A atividade antibacteriana *in vitro* dos medicamentos foi realizada frente a cepas de *E. faecium* (6 cepas), *S. aureus* (6 cepas), *K. pneumoniae* (6 cepas), *A. baumannii* (6 cepas), *P. aeruginosa* (3 cepas) e *Enterobacter* spp. (6 cepas). A metodologia utilizada foi da determinação da concentração inibitória mínima (CIM), com base no documento M100-S26 do *Clinical and Laboratory Standards Institute*. Em microplacas de 96 orifícios, contendo caldo Mueller Hinton, os medicamentos foram diluídos para obter concentrações de 512 a 0,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (clonazepam) e 2048 a 2 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (diazepam). Após, foi adicionado o inóculo bacteriano (1×10^5 UFC/poço), que foi preparado em solução salina estéril, até obter turbidez padrão da escala 0,5 de McFarland. As microplacas foram incubadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas. A CIM foi determinada por meio de leitura visual como a menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano. Além disso, foi realizada a concentração bactericida mínima (CBM) com base no documento M26-A do *National*

Committee for Clinical Laboratory Standards. Após a leitura visual da CIM foram retirados aproximadamente 10µL do conteúdo dos poços onde não houve crescimento bacteriano e também do último poço onde houve crescimento bacteriano visível. Este volume foi semeado em placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton, que foram incubadas a 35±2°C durante 48h. A CBM foi determinada como a menor concentração capaz de matar o microrganismo. Os valores de CIM do clonazepam variaram entre >512, 256 e 128 µg mL⁻¹ e do diazepam, entre >2048, 2048, 1024 e 512 µg mL⁻¹. Os valores de CBM do clonazepam variaram entre >512, 512 e 256 µg mL⁻¹ e para o diazepam >2048 µg mL⁻¹ foi o resultado para todas as cepas. Enfatizamos a atividade do clonazepam frente a duas cepas. A primeira foi uma cepa de *K. pneumoniae* isolada de sangue, que o medicamento apresentou atividade inibitória e bactericida na concentração de 256 µg mL⁻¹. A cepa foi resistente a 14 antibacterianos testados pelo sistema automatizado VITEK®2 (bioMérieux), incluindo carbapenêmicos. Importante lembrar que as infecções de corrente sanguínea caracterizam-se pela alta mortalidade em pacientes internados em ambientes nosocomiais, principalmente aqueles que fazem uso de cateteres centrais. A segunda cepa foi de *Enterobacter cloacae complex* isolada de urina, em que clonazepam apresentou atividade inibitória na concentração de 128 µg mL⁻¹. Essa cepa foi resistente a oito antibacterianos testados pelo VITEK®2 (bioMérieux), sendo um isolado que também causa preocupação e exige uma terapêutica urgente e eficaz para a melhora do paciente. Não há uma certeza sobre o mecanismo de ação dos benzodiazepínicos frente a bactérias, mas podemos afirmar que eles têm anéis benzeno e compostos com essa característica são conhecidos por apresentarem atividade antibacteriana. Assim, os benzodiazepínicos são medicamentos promissores ao reposicionamento para tratamento de infecções ocasionadas por patógenos ESKAPE.

Agradecimentos: Este estudo foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001.

Palavras-chave: Reposicionamento de medicamentos; atividade antibacteriana; patógenos ESKAPE.