

# TRATAMENTO FOTOELETROQUÍMICO E ELETROQUÍMICO: ALTERNATIVAS PARA INIBIÇÃO DE MICROORGANISMOS RESISTENTES A OXITETRACICLINA

Palavras-Chave: ELETROQUÍMICA-1, RESISTÊNCIA-2, PISCICULTURA-3

Autores(as):

GIOVANNA FLORENCE JIMENEZ, FEAGRI - UNICAMP

M.e<sup>(a)</sup>. KIANE CRISTINA LEAL VISCONCIN (co-orientadora), FEAGRI - UNICAMP

Prof(o). Dr(o). ARIIVALDO JOSÉ DA SILVA (orientador), FEAGRI - UNICAMP

---

## INTRODUÇÃO:

A resistência bacteriana aos antibióticos foi apontada como uma das principais questões para a saúde pública (OMS - Organização Mundial da Saúde, 2014); e de acordo com a Sociedade Brasileira de Microbiologia (2017), anualmente cerca de 700 mil óbitos são ocasionados por infecções derivadas de bactérias multirresistentes e estima-se que até 2050 ocorram cerca de 10 milhões de mortes por ano.

De acordo com Aminov (2009), a bactéria pode desenvolver vários mecanismos fisiológicos, regulados geneticamente, para sobreviver à presença do antimicrobiano em seu habitat, desde o impedimento da penetração do antimicrobiano em seu interior até a destruição total ou parcial do medicamento. Por isso, considera-se que uma bactéria é resistente a um antimicrobiano quando ela consegue se desenvolver *in vitro* na concentração que aquele antimicrobiano alcança no ambiente em que a bactéria vive normalmente (MORISAKI, 2003). É importante ressaltar que o surgimento de bactérias resistentes aos antibióticos, nos ambientes aquáticos, tem crescido consideravelmente.

Como qualquer sistema de produção a piscicultura é afetada pela ocorrência de microrganismos patogênicos, podendo tornar a atividade pouco lucrativa. O uso de antimicrobianos na piscicultura é realizado através da ração contendo esses compostos e adicionando-os diretamente à água (terapia de imersão) (HEUER et al., 2009). No Brasil apenas dois princípios ativos antibacterianos podem ser utilizados, pois estão aprovados pelo Ministério da Agricultura para o uso na piscicultura: o florfenicol e a oxitetraciclina (SINDAN, 2018).

Cizek et al. (2009) verificaram em seu estudo a resistência de cepas de *Aeromonas spp.* isoladas de *Cyprinus carpio Koi* e concluíram que das 79 cepas isoladas, 36 apresentaram resistência a oxitetraciclina. A oxitetraciclina pode ser utilizada para tratar várias doenças bacterianas em várias espécies aquáticas como: crustáceos, lagostas, salmonídeos e bagres. Ela atua inibindo a síntese proteica da bactéria prevenindo a ligação do aminoacil-RNA transportador ao ribossomo. Todavia, segundo Chen; Bowser (2004), a sua absorção e distribuição tecidual em peixes é baixa, o que faz com que sejam usadas doses elevadas e muitas vezes ineficazes que geram apenas residual no ambiente

(CHIDEROLI et al., 2017). É por esse motivo que vários genes de resistência a oxitetraciclina em bactérias isoladas de ambientes aquáticos já foram observadas em várias pesquisas (DANG et al., 2007; ISHIDA et al., 2010; MIRANDA; TELLO; KEEN, 2013).

Os processos convencionais de tratamento de águas de abastecimento e residuárias não são projetados para removerem bactérias resistentes a antibióticos, assim como genes de resistência a antibióticos, dessa forma são geralmente ineficazes para este propósito (WANG et al., 2021; PING et al., 2022).

Este estudo propõe a aplicação de uma tecnologia que combina dois processos oxidativos, o tratamento fotoquímico por meio da radiação ultravioleta e a eletro-oxidação, denominando-se processo fotoeletroquímico e o processo eletroquímico por meio da eletro-oxidação, a fim de verificar qual o processo mais eficiente na inibição de microrganismos resistentes a oxitetraciclina.

A hipótese testada no estudo é a eficácia do tratamento fotoeletroquímico e eletroquímico na inibição de bactérias que carregam genes de resistência a estes antibióticos.

## **METODOLOGIA:**

Para capturar uma variedade diversa de microrganismos, coletamos dez amostras de água de um tanque de tilápias na Piscicultura Polletini, localizada em Mogi Mirim-SP. No CPQBA - UNICAMP, enriquecemos essas amostras em Caldo Triptona de Soja (TSB), adicionando oxitetraciclina nas concentrações de 0, 10, 30 e 100 µg/mL para selecionar microrganismos resistentes. Após identificar as concentrações resistentes, diluímos as amostras em série e as plaqueamos em Ágar Triptona de Soja (TSA) para isolar colônias.

As placas foram incubadas a 28°C por até 72 horas, e as colônias resultantes foram submetidas à coloração de Gram e à amplificação do gene 16S rRNA por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) utilizando os primers 10F e 1525R para identificação bacteriana. Padronizamos o inóculo bacteriano para uma concentração de  $1 \times 10^8$  células/mL e, posteriormente, diluímos para  $1 \times 10^4$  células/mL antes do uso nos experimentos.

Os ensaios fotoquímicos e eletroquímicos foram realizados em modo batelada em um reator de vidro de 1,2 L contendo uma solução de água destilada e  $K_2SO_4$ , mantida a uma temperatura constante de 29,5°C. Utilizamos um ânodo de  $70TiO_2/30RuO_2$  emparelhado com um cátodo de  $TiO_2$ . Aplicamos uma fonte de corrente direta com potência de 30V/5A, mantendo o reator sob agitação constante para assegurar a uniformidade do tratamento. A energia luminosa para reações fotoquímicas será fornecida por meio de uma lâmpada a vapor de mercúrio de 125 W, que será inserida no centro do reator por meio de um bulbo de quartzo. Para evitar perdas de luz o reator será revestido com folhas de alumínio durante os ensaios. Será tratado o volume de 300 mL de solução em cada ensaio.

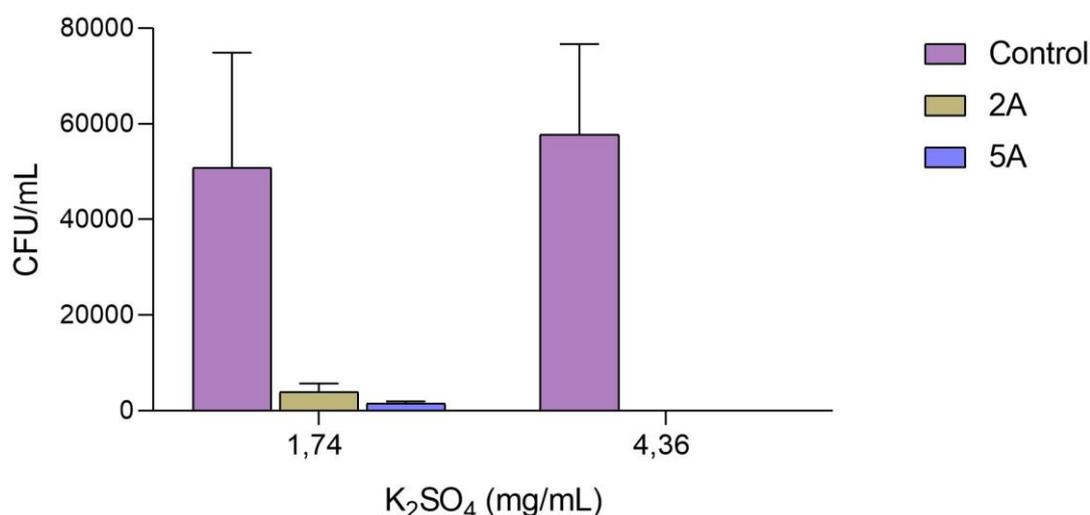
Antes do primeiro uso e após cada experimento, limpamos os eletrodos com uma solução de 5 g/L de  $K_2SO_4$  sob uma corrente constante de 0,3 mA, seguida de uma lavagem com água destilada. Coletamos amostras nos intervalos de 5, 15, 30, 60 e 120 minutos durante cada tratamento e as

plaqueamos em TSA para análise. Cada tratamento foi repetido nove vezes, utilizando concentrações de  $K_2SO_4$  de 1,74 g/L e 4,36 g/L, e correntes elétricas de 2 A (0,01 A/cm<sup>2</sup>) e 5 A (0,025 A/cm<sup>2</sup>).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO:

O gráfico da Figura 1 ilustra a redução da contagem de unidades formadoras de colônias (CFU/mL) em amostras tratadas com diferentes concentrações de (1,74 mg/mL e 4,36 mg/mL) sob condições de controle (sem tratamento eletroquímico) e tratamentos eletroquímicos aplicando correntes de 2A e 5A. Os resultados mostram uma significativa eficácia dos tratamentos eletroquímicos na diminuição da contagem de CFU/mL, especialmente com a concentração de 4,36 mg/mL de  $K_2SO_4$ . O gráfico mostra a aplicação do tratamento durante 5 minutos.

Figura 1 - Eficiência do Tratamento Eletroquímico na Redução de CFU/mL em Diferentes Concentrações de  $K_2SO_4$ .



O tratamento fotoeletroquímico demonstrou uma inibição completa (100%) dos microrganismos resistentes à oxitetraciclina, independentemente da concentração de  $K_2SO_4$  utilizada, a partir de apenas 1 minuto de tratamento.

O processo de oxidação indireta envolve a criação de um composto intermediário, podendo ser espécies reativas, como os radicais livres ou peróxido. (RAJESHWAR e IBANEZ, 1997; DEZOTTI, 1998). Observando o tratamento fotoeletroquímico utilizando a luz ultravioleta (UV) temos a agitação do dióxido de titânio, que está presente no eletrodo, desta forma, ocorre a liberação de elétrons que se ligam rapidamente a hidroxila ( $\bullet OH$ ). Já no tratamento eletroquímico essas reações ocorrem de acordo com a passagem de corrente elétrica.

Desta forma, os resultados obtidos mostram que ocorreu a formação de radicais hidroxilas ( $\bullet OH$ ), que mesmo apresentando uma vida útil reduzida, devido a sua instabilidade e reatividade, foi o responsável pelo resultado satisfatório dos testes, como mostrado na figura acima.

A significativa redução das CFU/mL observada pode ser atribuída à geração de radicais hidroxila ( $\bullet OH$ ) durante os processos eletroquímicos e fotoeletroquímicos. Esses radicais são altamente reativos

e atacam diretamente as estruturas celulares dos microrganismos, promovendo sua inativação (COTILLAS et al., 2020). No tratamento fotoeletroquímico, a ativação luminosa do eletrodo intensifica a formação desses oxidantes, além de potencialmente gerar outros radicais oxidantes, aumentando a eficiência e a rapidez do tratamento na inibição dos microrganismos.

Figura 2 - Tratamento fotoeletroquímico- FEAGRI/Unicamp



## CONCLUSÕES:

Os resultados evidenciam a notável eficiência do tratamento fotoeletroquímico na eliminação de microrganismos resistentes à oxitetraciclina, atingindo 100% de inibição em apenas 1 minuto, independentemente da concentração de  $K_2SO_4$ . A geração de radicais hidroxila ( $\cdot OH$ ) e outros oxidantes, intensificada pela ativação luminosa do eletrodo, é crucial para essa alta eficácia, promovendo uma rápida e eficiente inativação dos patógenos. A abordagem eletroquímica, destacada por sua robustez e impacto ambiental reduzido, oferece uma solução promissora e inovadora para o tratamento de águas residuárias agrícolas, potencialmente transformando práticas de manejo de resíduos e promovendo a sustentabilidade no setor.

## BIBLIOGRAFIA

- AMINOV R. I. The role o antibiotics and antibiotic resistance innature. *Environ Microbiol.* 2009; 11:2970–2988.
- CHEN, G. Electrochemical technologies in wastewater treatment. *Separation and Purification Technology*, v. 38, n. 1, p. 11-41, 2004.
- CHIDEROLI, R. T.; AMOROSO, N.; MAINARDI, R. M.; SUPHORONSKI, S. A.; DE PADUA, S. B.; ALFIERI, A. F.; ALFIERI, A. A.; MOSELA, M.; MORALES, A. T. P.; DE OLIVEIRA, A. G.; ZANOLO, R.; DI SANTIS, G. W.; PEREIRA, U. P. Emergence of a new multidrug-resistant and highly virulent serotype of *Streptococcus agalactiae* in fish farms from Brazil. *Aquaculture*, v. 479, p. 45–51, 2017.

- CIZEK, A.; DOLEJSKA, M.; SCHOROVA, R.; STRACHOTOVA, K., PIACKOVA, V.; VESELY, T. Antimicrobial resistance and its genetic determinantes in aeromonads isolated in ornamental (koi) carp (*Cyprinus carpio koi*) and common carp (*Cyprinus carpio*). *Veterinary Microbiology*, v. 142, n. 3-4, p. 435-439, 2010.
- COTILLAS, S., LLANO, J., CAÑIZARES, P., & RODRIGO, M. A. Effect of the polarity reversal frequency in the electrocoagulation of synthetic wastewater polluted with trichloroacetic acid. *Separation and Purification Technology*, 2020, 233, 115898.
- DANG, H.; ZHANG, X.; SONG, L.; CHANG, Y.; YANG, G. Molecular determination of oxytetracycline-resistant bacteria and their resistance genes from mariculture environments of China. *Journal of Applied Microbiology*, v. 103, n. 6, p. 2580-2592, 2007.
- HEUER, Ole E.; KRUSE, Hilde; GRAVE, Kari; COLLIGNON, P.; KARUNASAGAR, Iddya; ANGULO, Frederick J. Human Health Consequences of Use of Antimicrobial Agents in Aquaculture. *Clinical Infectious Diseases*, [S.L.], v. 49, n. 8, p. 1248-1253, 15 out. 2009. Oxford University Press (OUP).
- ISHIDA, Y.; AHMED, a M.; MAHFOUZ, N. B.; KIMURA, T.; EL-KHODERY, S. a; MOAWAD, a a; SHIMAMOTO, T. Molecular analysis of antimicrobial resistance in 70 gram-negative bacteria isolated from fish farms in Egypt. *Journal of Veterinary Medical Science*, v. 72, p. 727-734, 2010.
- MIRANDA, C. D.; TELLO, A.; KEEN, P. L. Mechanisms of antimicrobial resistance in finfish aquaculture environments. *Frontiers in Microbiology*, v. 4, n. AUG, 2013.
- MIYAKE. D.; KASAHARA, Y.; MORISAKI, H. Distribution and Characterization of Antibiotic Resistant Bacteria in the Sedimento f Southern Basin of Lake Biwa *Microbes and Environments*, v.18, n.1, p.24-31, 2003.
- OLIVEIRA, M. F.; CORÇÃO, G.; VAN DER SAND, S. T. An evaluation of transient bacterial population in a polluted bathing site in Porto Alegre – Brazil. *Biociências*, Porto Alegre, v. 14, n. 2, p. 136-143, dez. 2006.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE – OMS (WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO). ANTIMICROBIAL RESTANCE: Global Report on Surveillance. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data: Genebra, Switzerland. 2014.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA - SBM. A ameaça das superbactérias. *Rev Microb In Foco*. 2017;8(31):11-6.
- SUN, W., DONG, H., WANG, Y., DUAN, S., JI, W., HUANG, H., GU, J., ZHIMIG, Q. Ultraviolet (UV)-based advanced oxidation processes for micropollutant abatement in water treatment: Gains and problems. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 11 (2023) 110425.
- WANG, Rumeng; JI, Min; ZHAI, Hongyan; GUO, Yujing; LIU, Yuan. Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in WWTP effluent-receiving water bodies and reclaimed wastewater treatment plants. *Science Of The Total Environment*, [S.L.], v. 796, p. 148919, nov. 2021.
- ZHOU, Shiqing; BU, Lingjun; SHI, Zhou; DENG, Lin; ZHU, Shumin; GAO, Naiyun. Electrochemical inactivation of *Microcystis aeruginosa* using BDD electrodes: kinetic modeling of microcystins release and degradation. *Journal Of Hazardous Materials*, [S.L.], v. 346, p. 73-81, mar. 2018.