

Avaliação da atividade antibiofilme de *Capsicum baccatum* var. *pendulum* (Solanaceae)

Francine dos Santos, Simone Cristina Baggio Gnoatto

Laboratório de Fitoquímica e Síntese Orgânica, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

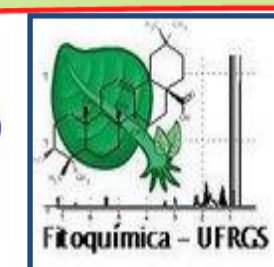


FAPERGS

inct-if

CNPq

CA P E S



INTRODUÇÃO

As infecções bacterianas resistentes a antibioticoterapia e a deficiência imunológica dos hospedeiros são a primeira causa de morte em unidades de terapia intensiva em todo o mundo. Os biofilmes são comunidades de microrganismos ligadas a uma superfície biótica e/ou abiótica, encapsuladas por uma matriz extracelular polimérica, e estão envolvidos em diferentes infecções dificultando o tratamento. Assim, o biofilme tem sido um importante fator de virulência, presente em 80% das infecções humanas como endocardite, osteomielite, periodontite, caracterizando-se como um grave problema de saúde pública. Atualmente, muitos derivados de antibióticos obtidos a partir de fontes naturais são avaliados porém, a indústria farmacêutica tem comercializado apenas as mesmas variações de moléculas convencionais nos últimos 20 anos. Portanto, ao invés de focar em terapias convencionais que visam o crescimento de bactérias como alvo terapêutico, uma abordagem alternativa é a busca de novos mecanismos de ação, visando os fatores de virulência, entre eles a formação de biofilme.

Nesse contexto, a pimenta vermelha *Capsicum baccatum* var. *pendulum*, cultivada mundialmente em regiões tropicais e temperadas e muito utilizada como alimento, pode ser fonte dessas moléculas inovadoras visto que o potencial farmacológico e a composição química desta espécie foram pouco explorados.

OBJETIVOS

Avaliar a atividade antimicrobiana e antibiofilme de extratos de *Capsicum baccatum* var. *pendulum* (Solanaceae) e realizar sua caracterização fitoquímica, com o objetivo de identificar compostos bioativos que possam contribuir para a pesquisa de medicamentos inovadores.

METODOLOGIA

Material Vegetal e Extração: As sementes e frutos de *C. baccatum* foram secos, separadamente, em estufa (40 ° C) e posteriormente triturados. Os extratos foram obtidos independentemente, através de extração exaustiva utilizando (*Soxhlet*), com solventes de polaridade crescentes.

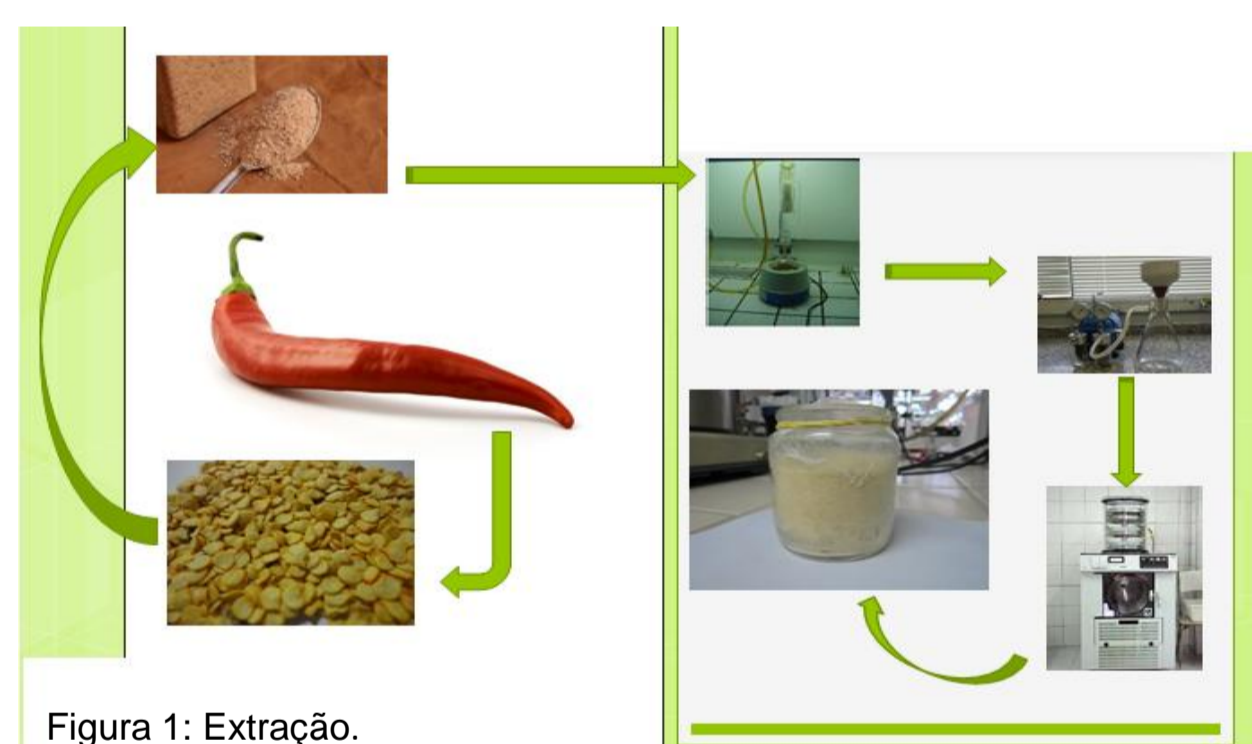


Figura 1: Extração.

Os frutos de *C. baccatum* foram coletados em Turuçu e registrados na sede da EMBRAPA (P278) - RS, Brasil.

Ensaio antibiofilme e antibacteriano: Foram utilizadas cepas de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 e *Pseudomonas aeruginosa* PA14. A atividade antimicrobiana e antibiofilme de cada extrato foi avaliada por meio do monitoramento do crescimento bacteriano em 600 nm e via método do cristal violeta, em microplacas. O extrato mais ativo foi selecionado para realizar microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a caracterização fitoquímica.

RESULTADOS

➢ Dentre os extratos obtidos e testados, o extrato aquoso residual das sementes (Esaq) se mostrou o mais promissor, inibindo entre 80% e 60% a formação de biofilme de *S. epidermidis* e *P. aeruginosa*, respectivamente. O Esaq foi capaz de inibir a formação de biofilme sem inibir o crescimento bacteriano, indicando que a inibição do biofilme é independente da morte celular (Gráficos 1 e 2).

➢ **Atividades Antimicrobiana e Antibiofilme:**

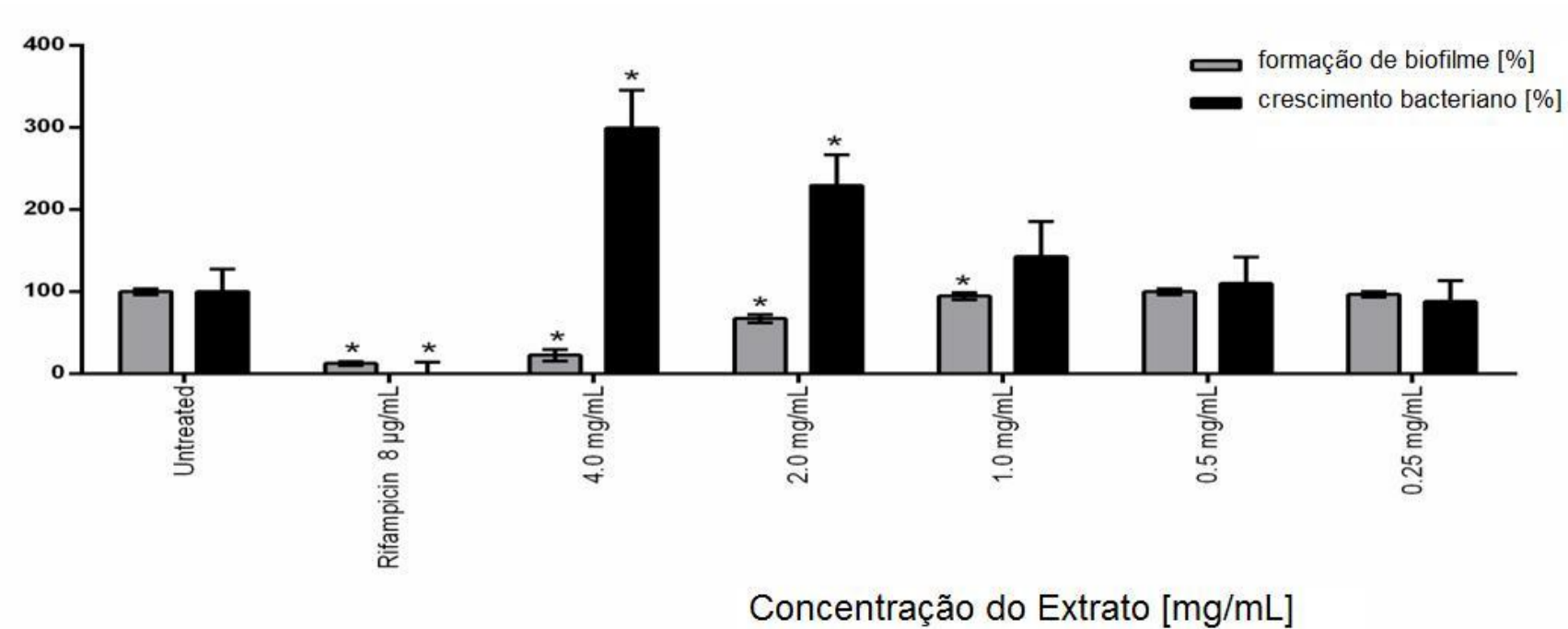


Gráfico 1 - Dose-resposta de crescimento e de formação de biofilme de *S. epidermidis* para o Esaq (* p<0,05)

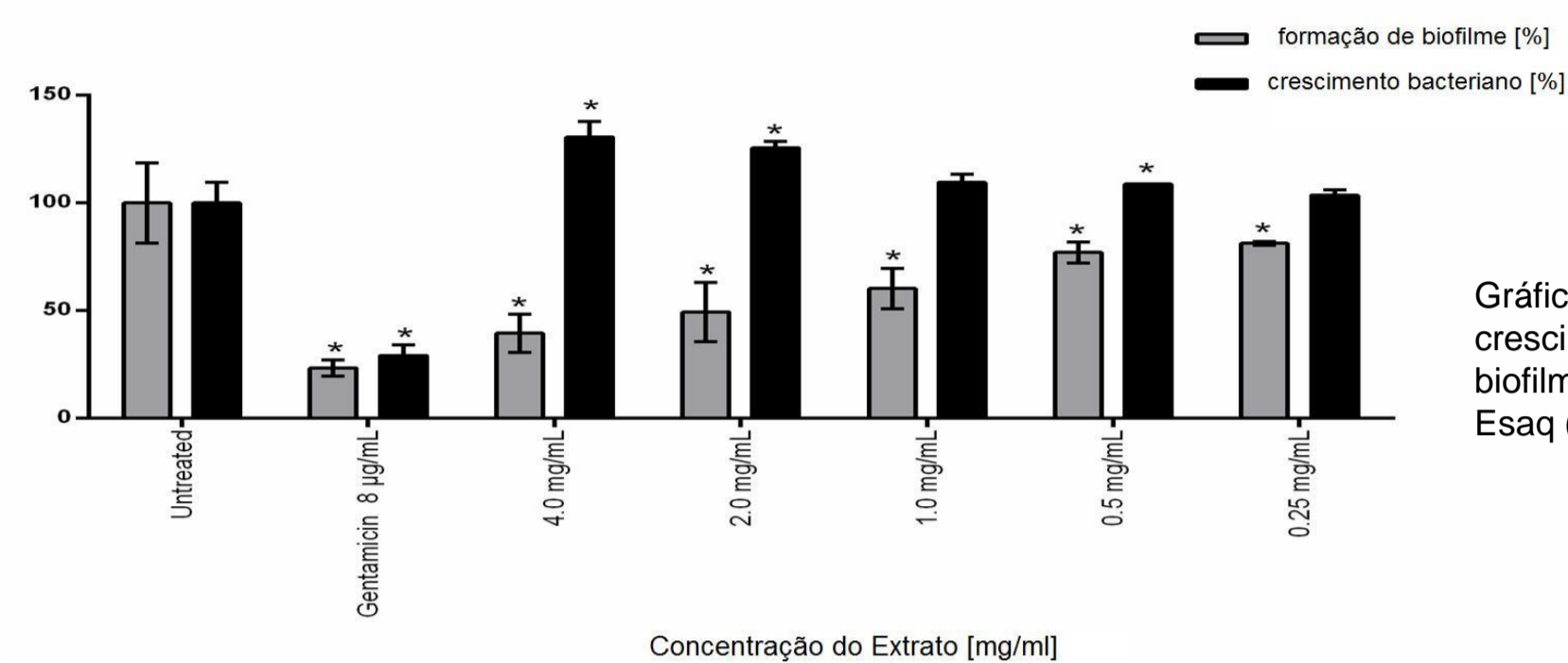


Gráfico 2 - Dose-resposta de crescimento e formação de biofilme de *P. aeruginosa* para o Esaq (* p<0,05).

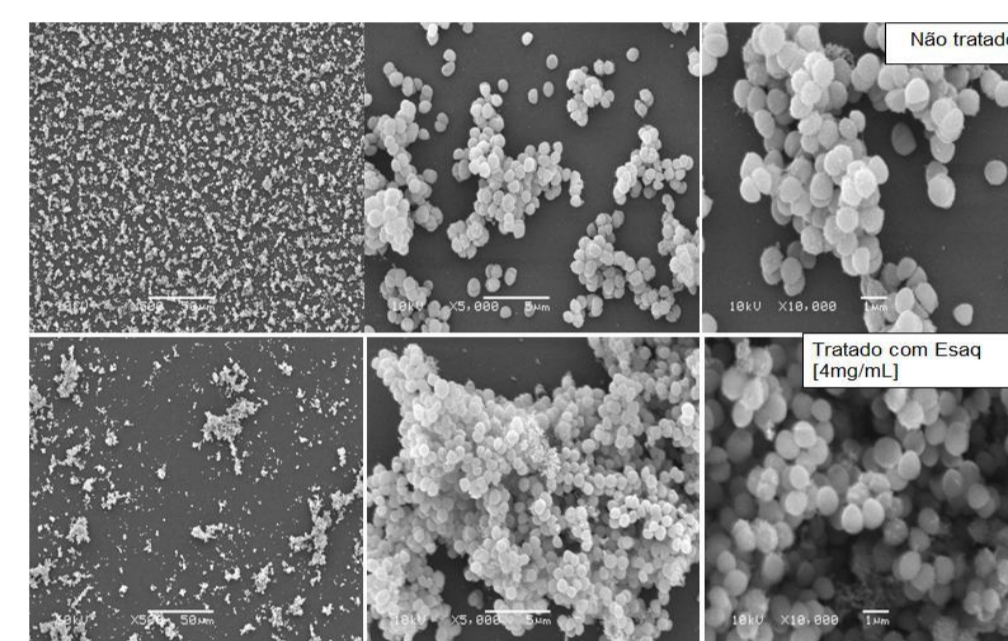


Figura 2 - MEV do biofilme de *S. epidermidis* em lâminas Permax®.

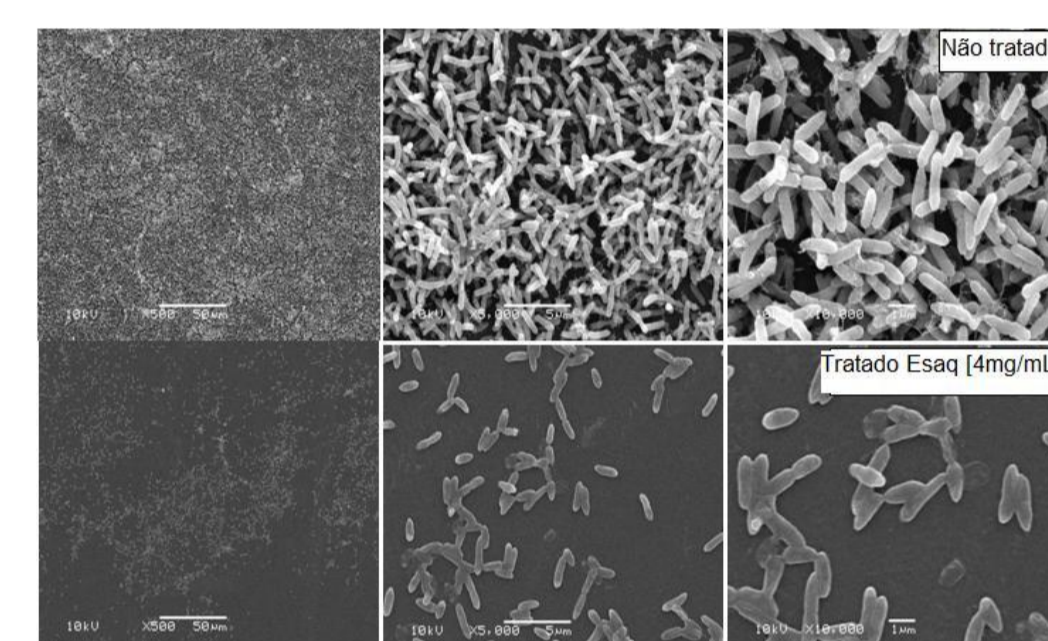


Figura 3 - MEV do biofilme de *P. aeruginosa* em lâminas Permax®.

➢ **Screening fitoquímico:**

Tabela 1 - Screening fitoquímico do Esaq.

Screening Fitoquímico do Extrato Aquoso das Sementes (Esaq)			
Classe fitoquímica:	Testes (resultado):		
Alcalóides	Reagente Mayer (-)	Reagente Bertrand (-)	Reagente Dragendorff (-)
Antraquinonas	Reagente Borntrager (-)		
Cumarinas	Ultravioleta 360 nm / Ph (-)		
Flavonóides	Cianidina/ Shinoda (+)	Salkoski (-)	CCD/Reagente Natural (-)
Polifenóis	Reagente de Cloreto férrico (+)		
Saponinas	Teste da espuma (+)	Teste de hemólise (+)	CCD/Anisaldeído sulfúrico (+)
Taninos	Teste da gelatina (+)	CCD/Hidrólise (+)	CCD/Anisaldeído sulfúrico (+)
Triterpenos	Reagente de Liebermann-Burchard (+) Núcleos triterpênicos (-) Núcleos esteróides	Reagente Salkoski (+) Glicosídeos	

Simões, Maria Oliveira et al, 2010.



Figura 4 - Teste da espuma

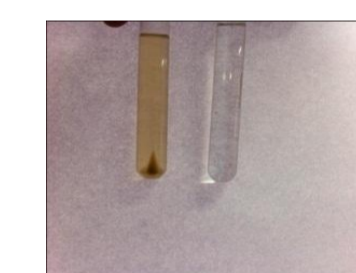


Figura 5 - Teste da Gelatina

Tabela 2 - Screening fitoquímico do Esaq.

Quantificação de compostos fenólicos e taninos totais do Extrato aquoso residual das sementes (Esaq)	
Total de compostos fenólicos (mg de ácido gálico equivalente/ g extrato)	Quantificação de taninos (mg de ácido tânico equivalente / g extrato)
70,29 21,01	15 0,235

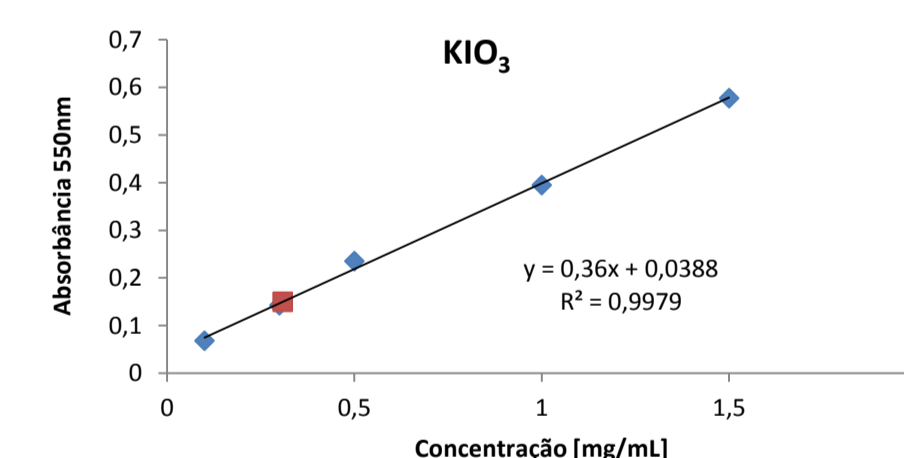


Gráfico 3 - Curva padrão de ácido tânico para determinação do total de taninos - Reação com KIO_3 .

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

➢ Este estudo descreve a primeira triagem antibiofilme e antibacteriana de *C. baccatum* contra *S. epidermidis* e *P. aeruginosa* e os resultados aqui apresentados sugerem o potencial farmacológico da espécie como inibidor de biofilme;

➢ O Esaq foi o extrato mais promissor contra o biofilme de *S. epidermidis* e *P. aeruginosa* sem inibir o crescimento bacteriano, indicando que a inibição do biofilme é independente da morte bacteriana.

➢ **Combater a adesão bacteriana e a formação de biofilme por uma via que não envolva a morte celular é uma característica marcante do novo conceito de terapias antivirulência.**

➢ **A terapia antivirulência é uma das alternativas mais promissoras no combate á micro-organismos patogênicos. É importante explorar novos mecanismos de ação que dificultem o rápido desenvolvimento de resistência bacteriana, por exemplo: tornar esses microrganismos mais suscetíveis a outros antimicrobianos e para o sistema imunológico. Neste contexto, os produtos naturais são uma importante fonte de moléculas bioativas e os polifenóis têm recebido certa atenção recentemente em relação à sua ação antimicrobiana sobre microrganismos em biofilmes.**

➢ A triagem fitoquímica do Esaq indicou a presença de **polifenóis, saponinas, terpenos e taninos**;

➢ O estudo aqui apresentado mostra que *C. baccatum* é uma fonte potencial de compostos bioativos inovadores.