



Atividade Antimicrobiana das Riparinas I, II e III em Espécies Bacterianas de Importância Médica

Jorge B. Oliveira Júnior¹, Everton M. da Silva¹, Dyana L. Veras¹, Catarina F. de Freitas¹, Fernanda C.G. de Lima¹, Ana Paula S. Feitosa², Luiz C. Alves^{1,2}, Stanley J.C. Gutierrez³, Celso A. Camara⁴, José Maria Barbosa Filho⁵, Fábio A.B. dos Santos^{1,2}

¹Instituto Aggeu Magalhães (FIOCRUZ/PE), ²Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA/UFPE), ³Departamento de Bioquímica e Farmacologia/UFPI, ⁴Departamento de Química/UFRPE, ⁵Laboratório de Tecnologia Farmacêutica/UFPB.

INTRODUÇÃO

As Infecções Relacionadas à Assistência a Saúde (IRAS) são consideradas uma preocupação mundial, visto o uso indiscriminado de antimicrobianos e a pressão seletiva bacteriana (SANTAJIT; INDRAWATTANA, 2016; KAYE; GALES; DUBOURG, 2017). Entre as espécies bacterianas, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* apresentam diversos mecanismos de resistência a antimicrobianos, tornando-as frequentes em IRAS (SUBRAMANI; NARAYANASAMY; FEUSSNER, 2017; WHO, 2017). Devido à redução na eficácia de antimicrobianos no tratamento das IRAS, este estudo objetiva analisar a atividade antimicrobiana das riparinas I, II e III frente cepas ATCC de *K. pneumoniae*, *A. baumannii* e *P. aeruginosa*.

MATERIAIS E MÉTODOS

As riparinas foram obtidas do fruto verde da *Aniba riparia*. As cepas utilizadas são padronizadas para testes de resistência aos antimicrobianos pelo CLSI (2017): *K. pneumoniae* (ATCC 700603), *A. baumannii* (ATCC 19606) e *P. aeruginosa* (ATCC 27853). Estas estão estocadas em glicerol a 20% em -80°C e foram reativadas em caldo BHI, semeadas e incubadas a 37°C±1 por 18-24h para isolamento. A concentração inibitória mínima (CIM) das riparinas foi analisada por microdiluição em caldo nas concentrações: 400 µg/mL a 3,125 µg/mL (CATÃO et al., 2005) e a concentração bactericida mínima (CBM) foi validada pela contagem das unidades formadoras de colônias (UFC), seguido por análise com resazurina (PALOMINO et al., 2002). Os inóculos foram ajustados em escala MacFarland e as moléculas foram diluídas em 1% de DMSO (experimentos independentes em triplicata).

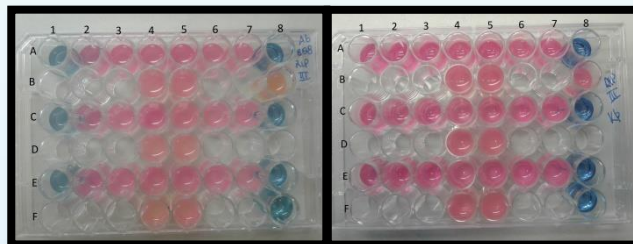
RESULTADOS

Apenas a riparina III exibiu atividade antimicrobiana nas cepas ATCC avaliadas, sendo observada sua ação frente cepas ATCC de *A. baumannii*. Nas concentrações testadas da riparina III, foi observada a CIM de 400 µg/mL. Um volume de 1 µL da concentração com ação antimicrobiana (400 µg/mL) foi semeado em ágar BHI para determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM). Após 24h de incubação, não foi verificada a presença de UFC de *A. baumannii*, sendo *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa* resistentes às concentrações testadas das riparinas. Todos estes resultados foram confrontados e confirmados com 20 µL resazurina. Com este teste, podemos determinar a CIM, devido à coloração apresentada. Após incubação por 2-4h, foi realizada a leitura dos resultados.

Figura 1. Frutos verdes e folhas da espécie vegetal *Aniba riparia*.



Figura 2. Determinação da atividade antimicrobiana da riparina III em cepas ATCC de *Acinetobacter baumannii* e *Klebsiella pneumoniae*, seguida por teste de colorimetria com resazurina.



DISCUSSÃO

Um estudo de revisão sistemática sobre a ação antimicrobiana de extratos e compostos vegetais de interesse do Sistema Único de Saúde (SUS) entre 2010 e 2013 encontrou 21.357 artigos. Os autores descrevem que é de sua importância as análises experimentais e discussões sobre novas opções terapêuticas de agravos bacterianos (MARMITT et al., 2015). Na literatura, há poucos relatos sobre a ação antimicrobiana das riparinas. Neste estudo foi possível determinar a CIM da riparina III frente ATCC de *A. baumannii*, confirmando resultados que expõem a ação antimicrobiana de extratos da *A. riparia* em cepas bacterianas e fúngicas. Estudos anteriores descrevem a ação antimicrobiana de extratos do cálice e frutos verdes da *A. riparia* em cepas bacterianas e fúngicas (BARBOSA-FILHO et al., 1987; BARBOSA et al., 1988; CATÃO et al., 2005; CATÃO et al., 2010). Sabe-se que espécies Gram-negativas possuem maior resistência quando comparadas às Gram-positivas, pois aquelas detêm uma dupla membrana, configurando resistência antimicrobiana aos agentes microbicidas e outros estudos observaram pouca ação antimicrobiana da *A. riparia* em espécies Gram-negativas (FRANCESCATO, 2007; FERREIRA et al., 2010).

CONCLUSÃO

Assim, foi possível determinar a ação antimicrobiana da riparina III, demonstrando a necessidade de pesquisas de produtos naturais, visto a resistência bacteriana e diminuição das opções terapêuticas.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA RCSBC. et al. Avaliação da atividade antibiótica de extratos de Lauraceae. *Acta Amazônica* 1988; 8(1/2): 91-94. Suplemento.
- BARBOSA-FILHO JM. et al. Benzoyl esters and amides, stryrylpyrones and neolignans from the fruits of *Aniba riparia*. *Phytochemistry* 1987; 26(9): 2615-7.
- CATÃO RMR. et al. Evaluation of the antimicrobial activity and biological effect by riparins about elimination the resistance of drugs in samples of *Staphylococcus aureus*. *Rev Bras Anal Clin* 2005; 42(1): 9-14.
- CATÃO RMR. et al. Evaluation of the antimicrobial activity about multiresistents samples of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Rev Bras Anal Clin* 2005; 37(4): 247-49.
- KAYE KS, GALES AC, DUBOURG G. Old antibiotics for multidrug-resistant pathogens: from in vitro activity to clinical outcomes. *Inter J Antimicrob Agents* 2017; 49(5): 542-8.
- MARMITT DJ. et al. Medical plants with potential antifungal properties listed in the RENISUS inventory. *Rev Bras Pesq Saúde* 2015; 17(3): 151-162.
- PALOMINO JC. Et al. Resazurin Microtiter Assay Plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46(8): 2720-2.
- SANTAJIT S, INDRAWATTANA I. Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. *Biomed Res Int* 2016; 2016: 2475067.
- SUBRAMANI R. et al. Plant-derived antimicrobials to fight against multi-drug-resistant human pathogens. *3 Biotech* 2017; 7(3): 172.
- WHO. World Health Organization. **List of bacteria for which new antibiotics are urgently needed.** Geneva: WHO; 2017. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/en/>>. Acesso em: 14/07/2018