

ANÁLISE DA EFICÁCIA ANTIMICROBIANA DE EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *PYCNOPORUS SANGUINEUS* FRENTE A CEPAS BACTERIANAS

VITÓRIA ROSE DE ANDRADE¹; LUÍZE GARCIA BLOTTA DE MELLO²;
MANUELA MARTINS BELMUDES²; LUANE PINHEIRO GARCIA²; JANICE
LUHERING GIONGO³; RODRIGO DE ALMEIDA VAUCHER³

¹Universidade Federal de Pelotas – vitoriaarose@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – luizegarmel@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – manuelabelmudes@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – luanegarcia25@gmail.com

³Universidade Federal de Rio Grande – janicegiongo@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – rodvaucher@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A crescente resistência de microrganismos a antibióticos convencionais tem impulsionado a busca por novas fontes de compostos bioativos com potencial antimicrobiano (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022). Nesse cenário, organismos fúngicos vêm se destacando como importantes produtores de metabólitos secundários com diversas aplicações terapêuticas, principalmente por sua capacidade de sintetizar substâncias com atividade antibacteriana, antifúngica e antioxidante (GUEDES et al., 2024).

Dentre esses fungos, *Pycnoporus sanguineus*, um basidiomiceto de coloração avermelhada característico de regiões tropicais, tem despertado interesse (LESAGE-MEESSEN et al., 2011). Isso se deve à sua capacidade de sintetizar lacases e terpenos, além de outros compostos fenólicos com possível atividade antimicrobiana (LIN et al., 2020). Ainda assim, estudos recentes demonstram que diferentes tipos de extratos obtidos desse fungo podem apresentar variação em sua atividade antimicrobiana, a depender do solvente utilizado no processo de extração (TRAN; THANH; PHAM, 2022). Além disso, compostos isolados de *P. sanguineus*, como pigmentos derivados do ácido cinabarínico, evidenciaram ação significativa contra bactérias Gram-positivas, reforçando seu potencial microbiológico (MENG et al., 2022).

Apesar desses avanços, ainda existem lacunas quanto à padronização de métodos de extração e à avaliação da eficácia antimicrobiana de diferentes tipos de extratos de *P. sanguineus* (TEOH et al., 2011). Nesse sentido, a investigação de extratos hidroalcoólicos torna-se relevante, pois esse solvente pode favorecer a extração de compostos fenólicos bioativos de interesse (JACOBSEN et al., 2024).

Portanto, o presente trabalho teve como objetivo investigar o potencial antimicrobiano do extrato hidroalcoólico de *Pycnoporus sanguineus* frente a cepas bacterianas. O estudo visa contribuir para a compreensão da eficácia desse fungo como fonte de compostos bioativos.

2. METODOLOGIA

Os espécimes de *P. sanguineus* foram coletados no município de Capão do Leão (RS, Brasil). A coleta *in situ* foi realizada pelo método de caminhamento ao longo da área, com busca ativa e oportunística, registrando os basidiocarpos encontrados predominantemente na madeira em decomposição (MUELLER et al.,

2004). Após identificação morfológica, os basidiomas foram desidratados a 45 °C por até 4 dias.

Para o extrato hidroalcoólico de *P. sanguineus* utilizou-se uma massa de 17,7 g do macrofungo triturado a fim de aumentar a área de contato com o solvente. A extração foi realizada pelo método de maceração dinâmica, utilizando solução hidroalcoólica composta por etanol absoluto e água destilada, na proporção de 1:20 (m/v). O processo ocorreu por 24h, sob agitação constante e temperatura controlada entre 35 e 40 °C. Após a extração, a solução foi filtrada para separação do extrato líquido do resíduo sólido. O extrato obtido foi concentrado em rotaevaporador (Quimis®), seguido de liofilização, resultando em um pó seco. Anteriormente aos ensaios, realizou-se um teste preliminar de solubilidade do extrato. A partir disso, 100 mg do extrato foram ressuspensos em 1 mL de água estéril, hipotônica e apirogênica.

Para as análises microbiológicas, utilizaram-se quatro cepas bacterianas, sendo duas Gram-positivas e duas Gram-negativas: *Staphylococcus aureus* (BAA-1026), *Klebsiella pneumoniae* (NEWPOO83), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). As cepas foram reativadas e cultivadas em Ágar Mueller-Hinton (MH), exceto *K. pneumoniae*, cultivada em Ágar MacConkey, e incubadas a 37 °C por 24 h.

Em seguida, o inóculo bacteriano foi preparado e ajustado à turbidez de 0,5 McFarland, equivalente a aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, sendo utilizado nos ensaios de disco difusão e Concentração Inibitória Mínima (CIM). Na técnica de difusão em disco, o inóculo preparado foi semeado uniformemente em placas de Ágar MH. Discos de papel estéreis (4 mm de diâmetro) foram adicionados com 10 µL do extrato de *P. sanguineus* na concentração de 100 mg/mL. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 h, e o diâmetro dos halos de inibição foram medidos em milímetros.

O ensaio de CIM foi realizado empregando o protocolo de CLSI M07-A9, por meio da técnica de microdiluição em placas de 96 poços, com adaptações. Nesse procedimento, foi utilizado meio de cultura caldo Mueller-Hinton, no qual foram distribuídas 100 µL em todos os poços. Posteriormente, foi adicionado ao primeiro poço 100 µL do extrato hidroalcoólico de *P. sanguineus*, realizando-se diluição seriada (concentrações de 50,00 a 0,09 mg/mL) nos poços subsequentes em quadruplicatas. Em seguida, foi adicionado 10 µL da suspensão bacteriana. Para os controles, foi utilizado apenas 100 µL de caldo MH para o controle negativo (controle de esterilidade do meio), e para o controle positivo, foi inoculado uma quantidade de 10 µL da bactéria em 100 µL de caldo MH, sem o extrato, para verificar a viabilidade da cepa. As placas foram submetidas ao processo de incubação por um período de 24 horas a uma temperatura de 37 °C.

Após a determinação da CIM, foi feito a Concentração Bactericida Mínima (CBM), no qual os poços da placa de microdiluição que não apresentaram crescimento bacteriano visível (0,5CIM, CIM, 2xCIM) foram semeados em placas de Ágar Mueller-Hinton (MH). Essas placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas, a fim de determinar se a concentração do extrato tem ação bacteriostática ou bactericida. A concentração na qual não houve crescimento de colônias na placa foi considerada a CBM.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da avaliação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico de *P. sanguineus* estão demonstrados na Tabela 1. O extrato

hidroalcoólico de *P. sanguineus* demonstrou atividade antibacteriana satisfatória frente às duas cepas Gram-positivas: *S. aureus* e *L. monocytogenes*. Os resultados mostraram halos de 12 mm e 7 mm, respectivamente, com Concentração Inibitória Mínima (CIM) de 0,78 e 1,56 mg/mL. Além disso, a CIM para *L. monocytogenes* foi também a Concentração Bactericida Mínima (CBM), já a CBM de *S. aureus* foi uma concentração anterior à CIM (0,5CIM) de 1,56 mg/mL.

Tabela 1. Atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico de *P. sanguineus*.

| Cepas | Testes | | |
|-------------------------|-----------|-------------|-------------|
| | Halo (mm) | CIM (mg/mL) | CBM (mg/mL) |
| <i>L. monocytogenes</i> | 7 | 1,56 | 1,56 |
| <i>S. aureus</i> | 12 | 0,78 | 1,56 |
| <i>P. aeruginosa</i> | - | - | - |
| <i>K. pneumoniae</i> | 6 | - | - |
| (-) sem inibição | | | |

O extrato hidroalcoólico de *P. sanguineus* apresentou maior atividade antimicrobiana contra as bactérias Gram-positivas, em especial *S. aureus*, enquanto as Gram-negativas, como *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*, não foram sensíveis. Esse comportamento também foi relatado por (TRAN; THANH; PHAM, 2022), que observaram halos de inibição entre 6 e 11 mm, predominantemente em cepas Gram-positivas. A diferença de sensibilidade pode estar associada à barreira estrutural das Gram-negativas, cuja membrana externa rica em lipopolissacarídeos dificulta a penetração de compostos fenólicos (LOBIUC et al., 2023). Por outro lado, a atividade observada frente às Gram-positivas pode estar relacionada à presença de metabólitos bioativos característicos de *P. sanguineus*, como pigmentos fenólicos e quinonas, entre eles a cinabarina, cuja ação antimicrobiana já foi descrita (MENG et al., 2022). Além disso, estudos recentes constataram que polissacarídeos de *P. sanguineus* com ação antimicrobiana e antioxidante, também apresentaram resultados promissores na cicatrização de feridas (HUANG et al., 2023). Essas descobertas reforçam que diferentes classes de metabólitos podem ser exploradas de forma sinérgica, ampliando o espectro de aplicações farmacológicas da espécie.

Cabe destacar que a produção desses compostos varia de acordo com as condições de cultivo e os métodos de extração empregados, os quais influenciam diretamente o perfil metabólico do fungo e, consequentemente, a intensidade da atividade antimicrobiana (TEOH et al., 2011). Assim, os achados obtidos reforçam o potencial de *P. sanguineus* como fonte relevante de moléculas bioativas de interesse farmacológico.

4. CONCLUSÕES

O extrato hidroalcoólico de *P. sanguineus*, obtido a partir de espécime silvestre, apresentou atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas, em especial *S. aureus*. Esses achados reforçam o potencial de *P. sanguineus* como fonte natural de metabólitos bioativos e contribuem para ampliar o conhecimento sobre a aplicabilidade farmacológica de macrofungos coletados em ambientes naturais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

LESAGE-MEESSEN, L. et al. Phylogeographic relationships in the polypore fungus *Pycnoporus* inferred from molecular data. **FEMS Microbiology Letters**, v. 325, n. 1, p. 37–48, 14 set. 2011.

World Health Organization. **Antimicrobial resistance**. World Health Organization, Genebra, 21 nov. 2023. Fact Sheets. Acessado em 5 ago. 2025. Online. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

GUEDES, B. N. et al. Natural antibiotics against antimicrobial resistance: sources and bioinspired delivery systems. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 55, n. 3, p. 2753–2766, 2024.

LIN, W. et al. Genome sequence of the fungus *Pycnoporus sanguineus*, which produces cinnabarinic acid and pH- and thermo- stable laccases. **Gene**, v. 742, p. 144586, jun. 2020.

TRAN, D. T.; PHAM, H. T. N.; PHAM, V. H. Antibacterial activity of fruiting body extracts from *Pycnoporus sanguineus*. **DTHU Journal of Science**, v. 11, n. 5, p. 104-111, 2022.

MENG, D. et al. Pigment production by a newly isolated strain *Pycnoporus sanguineus* SYBC-L7 in solid-state fermentation. **Frontiers in microbiology**, v. 13, 19 out. 2022.

JACOBSEN, S. S. et al. Selective Extraction Process and Characterization of Antioxidant Phenolic Compounds from *Pereskia aculeata* Leaves Using UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS. **ACS Omega**, v. 9, n. 35, p. 37374–37385, 21 ago. 2024.

TEOH, Y. P.; DON, M. M.; UJANG, S. Media selection for mycelia growth, antifungal activity against wood-degrading fungi, and GC-MS study by *Pycnoporus sanguineus*. **BioResources**, v. 6, n. 3, p. 2719–2731, 2011.

LOBIUC, A. et al. Future Antimicrobials: Natural and Functionalized Phenolics. **Molecules**, v. 28, n. 3, p. 1114, 1 jan. 2023.

HUANG, X. et al. *Pycnoporus sanguineus* Polysaccharides as Reducing Agents: Self-Assembled Composite Nanoparticles for Integrative Diabetic Wound Therapy. **International Journal of Nanomedicine**, v.18, p. 6021–6035, 1 out. 2023.