



ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE PEPTÍDEOS PARA TERAPIAS ENDODÔNTICAS REGENERATIVAS

Michelly Ferreira Nunes¹, Thaís Sousa Silva Lima^{2,3}, Taia Maria Berto Rezende^{2,3,4}

¹Odontologia - Universidade Católica de Brasília;

²Programa de Pós-Graduação em Ciências Genômicas e Biotecnologia - Universidade Católica de Brasília;

³Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - Universidade de Brasília;

⁴Programa de Pós-Graduação em Odontologia - Universidade de Brasília,

E-mail: michelly.nunes@a.ucb.br; thais.slima@a.ucb.br e taia@p.ucb.br.

RESUMO

As terapias endodônticas regenerativas (TER) estão ganhando espaço na endodontia como uma alternativa de tratamento para dentes permanentes imaturos acometidos por necrose pulpar. Este estudo avaliou a atividade antimicrobiana, *in vitro*, dos peptídeos sintéticos CrotAMP14 e PaDBS1R7 contra *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*, a fim de identificar o peptídeo mais promissor para incorporação futura em um arcabouço sintético composto por nanofibras para a TER. A concentração inibitória mínima (MIC) e a concentração bactericida mínima (MBC) foram determinadas por microdiluição em caldo Mueller-Hinton, com posterior plaqueamento em meio ágar. Observou-se que ambos os peptídeos apresentaram atividade predominantemente bacteriostática. Devido ao seu maior potencial inibitório contra *S. aureus*, o peptídeo CrotAMP14 apresentou-se como candidato promissor para incorporação futura em scaffolds sintéticos de nanofibra. Contudo, essa aplicação biotecnológica ainda requer mais estudos para avaliar sua segurança e aplicabilidade em procedimentos de TER.

Palavras-chave: Peptídeos Antimicrobianos. *Scaffolds* Sintéticos. Nanofibras. Endodontia Regenerativa.

INTRODUÇÃO

As terapias endodônticas regenerativas (TER) representam uma importante mudança de paradigma no tratamento de dentes permanentes imaturos (DPIs) acometidos por necrose pulpar. A TER busca restabelecer a vitalidade e viabilizar o desenvolvimento de um novo tecido no espaço pulpar, além de permitir a continuação da formação da raiz e fechamento apical. Entretanto, para alcançar este resultado, é essencial estabelecer um ambiente favorável composto por biomoléculas de reparo, células mesenquimais indiferenciadas e uma carga bacteriana consideravelmente reduzida (Kim et al., 2018). Os *scaffolds* (arcabouços) são ferramentas essenciais nesse processo e vêm sendo desenvolvidos com o propósito de disponibilizar uma plataforma de liberação local controlada de biomoléculas antimicrobianas que auxiliem na descontaminação do SCR, além de fatores de crescimento que forneçam indutores de reparo tecidual para a diferenciação de células-tronco remanescentes. Logo, a produção de um novo *scaffold*, composto por nanofibras, surge como uma alternativa altamente viável para o mercado odontológico, tendo em vista o excelente desempenho biológico em experimentos prévios e o baixo custo de fabricação (Sousa et al., 2022). Assim, os peptídeos antimicrobianos (AMPs) CrotAMP14 e PaDBS1R7 foram selecionados por erradicar biofilmes de *Pseudomonas aeruginosa* e apresentarem atividade bacteriana comprovada em ensaios *in vivo* (Cardoso et al., 2022).

OBJETIVO



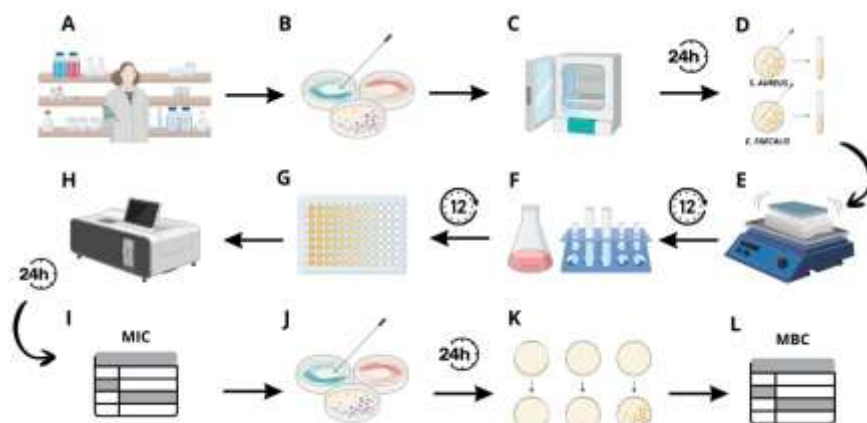
Avaliar o potencial antimicrobiano dos peptídeos CrotAMP14 e PaDBS1R7 frente a *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*, determinando a MIC e a MBC, a fim de subsidiar sua futura incorporação em arcabouços para a TER.

MÉTODO

Os peptídeos CrotAMP14 (KRLKKIFKKMIKIF-NH₂) e PaDBS1R7 (PMARNKPKILKRILAKIFK) foram obtidos por síntese química em fase sólida, purificados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC >95%), liofilizados e armazenados de acordo com as especificações dos fabricantes. Para a execução dos ensaios, as amostras foram reconstituídas em água ultrapura, quantificadas espectrofotometricamente e armazenadas em alíquotas a -20 °C. A fim de determinar a MIC de ambos os peptídeos, foram realizadas avaliações por meio de ensaios de microdiluição em caldo, conforme as diretrizes metodológicas normalizadas pela norma M7-A6 do *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2003). As bactérias de referência *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433) foram pré-inoculadas e mantidas em incubação até que a densidade óptica da suspensão celular atingisse valores de absorbância estáveis entre 0,50 e 0,65 em comprimento de onda de 600 nm, após a confirmação dos parâmetros pela curva padrão de crescimento. Os ensaios microbiológicos foram delimitados com base em cinco grupos: (1) controle de crescimento bacteriano (positivo), composto exclusivamente por meio de cultura e suspensão bacteriana correspondente; (2 e 3) controle de inibição (antibióticos), contendo suspensão bacteriana tratada com ciprofloxacino e gentamicina nas concentrações 0,5; 2; 4; 6; 8 e 16 µg/mL; e (4 e 5) presença dos peptídeos CrotAMP14 e PaDBS1R7 nas concentrações de 4; 8; 16; 32; 64 e 128 µM. O plaqueamento foi executado em triplicatas técnicas e biológicas em placas de microdiluição de 96 poços. As placas foram mantidas sob incubação a 37 °C por 24 horas, após esse período, foi realizado a leitura por absorbância a 600 nm. O valor de MIC foi determinado por análise qualitativa e quantitativa do percentual da inibição comparado aos controles. Para a determinação da MBC, os sobrenadantes provenientes de todos os poços do ensaio de MIC que não exibiram turbidez visual foram plaqueados em meio sólido (ágar). As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas para análise visual qualitativa de sobrevivência ou morte celular.

Figura 1

Fluxograma da Metodologia



Nota: A) Preparo dos meios de cultura; B) Cultivo das bactérias *E. faecalis* e *S. aureus* em meio ágar; C) Incubação dos meios por 24 horas à 37°C; D) Troca de meio ágar por meio caldo; E) Agitação em



shake por 12 horas; F) Troca de meio; G) Plaqueamento em placa de 96 poços; H) Leitura do MIC no leitor espectrofotométrico por 24 horas; I) Análise dos dados do MIC; J) Plaqueamento do MBC com as alíquotas do MIC; K) Avaliação visual após 24 horas em incubação à 37°C; L) Análise do resultado do MBC.

Fonte: Autoral (2026).

RESULTADOS

O CrotAMP14 apresentou MIC de 8 μM frente a *S. aureus* e de 32 μM frente a *E. faecalis*. O PaDBS1R7 apresentou MIC de 16 μM e 32 μM frente a *S. aureus* e *E. faecalis*, respectivamente. Para *S. aureus*, portanto, o CrotAMP14 apresentou maior potência inibitória que o PaDBS1R7. Em *E. faecalis*, ambos apresentaram o mesmo valor de MIC. A MBC foi superior a 128 μM para ambos os peptídeos frente às duas espécies, pois houve crescimento bacteriano em todas as concentrações avaliadas. A diferença entre MIC e MBC indica que, nas condições experimentais utilizadas, os peptídeos apresentaram atividade predominantemente bacteriostática (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1

Atividade Antimicrobiana dos Peptídeos CrotAMP14 e PaDBS1R7, frente a *S. aureus* ATCC 25923 e *E. faecalis* ATCC 19433

Peptídeo	MIC (μM)		MBC (μM)		Atividade
	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	
CrotAMP14	8	32	>128	>128	Bacteriostática
PaDBS1R7	16	32	>128	>128	Bacteriostática

Nota: MIC = concentração inibitória mínima; MBC = concentração bactericida mínima.

Fonte: Autoral (2026).

Tabela 2

Atividade Antimicrobiana dos Peptídeos CrotAMP14 e PaDBS1R7, em diferentes concentrações, frente a *S. aureus* ATCC 25923 e *E. faecalis* ATCC 19433

Peptídeo/Condição	Concentrações					
	128 (μM)	64 (μM)	32 (μM)	16 (μM)	8 (μM)	4 (μM)
CrotAMP14						
(MIC) <i>S. Aureus</i>	—	—	—	—	—	+ (71%)
(MIC) <i>E. Faecalis</i>	—	—	—	—	+ (74%)	+ (63%)
(MBC) <i>S. Aureus</i>	+	+	+	+	+	+
(MBC) <i>E. Faecalis</i>	+	+	+	+	+	+
PaDBS1R7						
(MIC) <i>S. Aureus</i>	—	—	—	+ (75%)	+ (56%)	+ (44%)
(MIC) <i>E. Faecalis</i>	—	—	—	+ (63%)	+ (50%)	+ (43%)
(MBC) <i>S. Aureus</i>	+	+	+	+	+	+
(MBC) <i>E. Faecalis</i>	+	+	+	+	+	+

Nota: “—” = Crescimento bacteriano inibido; “+” = Crescimento bacteriano detectado e nos grupos em que não houve inibição total foi apresentado o percentual de inibição.

Fonte: Autoral. (2026).

CONCLUSÃO



Os peptídeos CrotAMP14 e PaDBS1R7 apresentaram atividade antimicrobiana frente a *S. aureus* e *E. faecalis* nas condições experimentais avaliadas, com perfil predominantemente bacteriostático. O CrotAMP14 apresentou maior potência inibitória contra *S. aureus* e, por isso, é o candidato mais promissor entre os dois peptídeos para investigação futura em *scaffolds* de nanofibras destinados à TER. Contudo, mais estudos são necessários para confirmar o potencial dos peptídeos na formulação do *scaffold* e avaliar sua segurança e aplicabilidade antes de qualquer utilização clínica.

REFERÊNCIAS

- Cardoso, M. H., Chan, L. Y., Cândido, E. S., Buccini, D. F., Rezende, S. B., Torres, M. D. T., Oshiro, K. G. N., Silva, Í. C., Gonçalves, S., Lu, T. K., Santos, N. C., de la Fuente-Núñez, C., Craik, D. J., & Franco, O. L. (2022). An N-capping asparagine-lysine-proline (NKP) motif contributes to a hybrid flexible/stable multifunctional peptide scaffold. *Chemical Science*, 13(32), 9410–9424. <https://doi.org/10.1039/D1SC06998E>
- Kim, S. G., Malek, M., Sigurdsson, A., Lin, L. M., & Kahler, B. (2018). Regenerative endodontics: A comprehensive review. *International Endodontic Journal*, 51(12), 1367–1388. <https://doi.org/10.1111/iej.12954>
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2003). *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: Approved standard—Sixth edition* (NCCLS document M7-A6). National Committee for Clinical Laboratory Standards.
- Sousa, M. G. C., de Almeida, G. C., Mota, D. C. M., da Costa, R. A., Dias, S. C., Limberger, S. N., Ko, F., Lin, L. T., Haney, E. F., Etayash, H., Baquir, B., Trimble, M. J., Shen, Y., Su, Z., Haapasalo, M., Pletzer, D., de Souza, L. C., Teixeira, G. S., Silva, R. M., ... Rezende, T. M. B. (2022). Antibiofilm and immunomodulatory resorbable nanofibrous filling for dental pulp regenerative procedures. *Bioactive Materials*, 16, 173–186. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2022.01.027>

Financiamento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior. Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal.