



ISSN: 2230-9926

Available online at <http://www.journalijdr.com>

IJDR

International Journal of Development Research

Vol. 10, Issue, 07, pp. 37869-37874, July, 2020

<https://doi.org/10.37118/ijdr.19320.07.2020>



RESEARCH ARTICLE

OPEN ACCESS

EXPLORAÇÃO DO POTENCIAL DA CAFEÍNA COMO ATIVO ANTIBIOFILME EM *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* NA DÉCADA DE 2010

Luiz Gustavo Pragana, Eduardo Santos da Silva and Ulrich Vasconcelos*

Laboratório de Microbiologia Ambiental, Centro de Biotecnologia, Universidade Federal da Paraíba – Campus I, R. Ipê Amarelo s/n, CEP – 58051-900, João Pessoa-PB, Brasil

ARTICLE INFO

Article History:

Received 17th April, 2020
Received in revised form
03rd May, 2020
Accepted 11th June, 2020
Published online 25th July, 2020

Key Words:

Cafeína, *Pseudomonas aeruginosa*,
Modulação negativa de Quorum-sensing,
Biofilme.

*Corresponding author: Darley Tiago Antunes

ABSTRACT

A bioprospecção foi bem explorada ao longo da segunda década do século XXI. Face a necessidade do combate aos patógenos multirresistentes, a busca por novos compostos bioativos foi encorajada. Interessantemente, enquanto novos compostos foram descobertos, a ciência se voltou ao passado, trazendo à luz alguns bioativos descontinuados há décadas, contudo bastante prescritos nas primeiras terapias antimicrobianas. A cafeína exemplifica umas destas moléculas de interesse. Este trabalho de revisão sistemática visou elencar objetivos e escopos de pesquisas sobre a atividade da cafeína contra *Pseudomonas aeruginosa* considerando o período entre janeiro de 2011 e maio de 2020. A busca foi realizada em bases de dados MEDLINE, PubMed, EMBASE e Periódicos capes, nas quais utilizou-se as palavras-chave “cafeína”, “biofilme”, “piocianina” e o descritor “*Pseudomonas aeruginosa*”. Observou-se que na última década pouco material foi publicado e as instituições asiáticas concentraram a maioria dos estudos, os quais focaram na detecção da atividade antipseudomonas em termos da inibição do *Quorum-sensing*, refletindo na modulação da expressão de importantes fatores de virulência, bem como na formação de biofilme pela bactéria.

Copyright © 2020, Luiz Gustavo Pragana et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Citation: Luiz Gustavo Pragana, Eduardo Santos da Silva and Ulrich Vasconcelos. “Exploração do potencial da cafeína como ativo antibiofilme em pseudomonas aeruginosa na década de 2010”, *International Journal of Development Research*, 10, (07), 37869-37874.

INTRODUCTION

A cafeína (1,3,7-trimetilxantina) é uma metilxantina de ocorrência natural (alcaloide purínico) mais abundante da natureza, encontrada em mais de 80 tipos de plantas superiores, tais como *Coffea arabica*, *Coffea robusta*, *Theobroma cacao*, *Ilex paraguariensis*, *Cola acuminata*, *Camelia siniensis* e *Paullinia cupana* (Heckman et al., 2010, Ashihara e Crozier, 1999). O teor de cafeína varia bastante nas plantas. Nas sementes de *Coffea* spp. podem representar entre 0,4 e 2,4% do peso seco (Ashihara e Suzuki, 2004). O papel fisiológico da cafeína nas plantas produtoras ainda não é totalmente elucidado. Entretanto, à cafeína são propostas diferentes funções, tais como, germinação, desenvolvimento das folhas e senescência, floração, desenvolvimento dos frutos e sementes, defesa contra patógenos e herbívoros, alelopatia e polinização (Huang et al., 2016, Sano et al., 2013, Baumann, 2006). O composto foi primeiramente isolado por Pelletier e Caventou é em 1819 e possui atividade estimulante (Barbieri et al., 2017). Em complemento, também pode exibir atividade contra algumas plantas, insetos, gastrópodes, fungos e bactérias (Baumann, 2006).

Em microrganismos, há evidências de efeito pró-oxidante. O catabolismo da cafeína gera outros alcaloides de purina, a exemplo do ácido úrico, cuja estrutura química é semelhante à cafeína. A inibição ocorre via pela quebra oxidativa do DNA, com eliminação de hidroxilas e oxigênio singlete (Azam et al., 2003). *Pseudomonas aeruginosa* é um bacilo patógeno Gram-negativo ubíquo, membro do grupo das pseudomonadas fluorescentes, reconhecida por sua versatilidade metabólica e incrível resistência às pressões exercidas pelo ambiente (Viana et al., 2017). Adicionalmente, *P. aeruginosa* exibe diferentes fenótipos relacionados à sua virulência, tais como motilidade, *pili*, produção de alginato, protease, elastase e síntese de piocianina, entre outros (Winstanley et al., 2016), contribuindo para sua posição como o bacilo Gram-negativo não fermentador mais prevalente em infecções hospitalares (Lihua et al., 2013) e casos de multirresistência a antibióticos (Bassetti et al., 2018). A piocianina (5-metilfenazina-1-ona) é um pigmento com várias funções na *P. aeruginosa*, dentre elas, sinalização nos sistemas *Quorum-sensing* (QS), responsáveis pela regulação da expressão de alguns fatores de virulência, bem como da formação de biofilmes (Jayaseelan et

al., 2014). Contudo, o principal grupo de autoindutores utilizados por *P. aeruginosa* pertence à classe das N-acil-homoserina lactonas (AHL) (Passos da Silva et al., 2017). Diferentes estudos verificaram que a redução, degradação ou inibição de AHL resultam na inibição dos fatores de virulência em *P. aeruginosa*, assim como podem perturbar a formação de biofilmes pela bactéria (Husain et al., 2019, Rehman e Leiknes, 2018, Hentzer et al., 2002). O biofilme de *P. aeruginosa* é formado num processo complexo envolvendo diferentes genes relacionados à expressão de múltiplos fenótipos em todos os estágios do ciclo de formação do biofilme. Adicionalmente, todo o processo depende dos sistemas QS. Particularmente, os sistemas *las* e *rhI* participam da síntese de AHLs. Ainda, a piocianina é relacionada à formação do biofilme em razão do seu papel na liberação de eDNA. O complexo piocianina-eDNA interfere na hidrofobicidade da superfície da célula como também nas interações físico-químicas célula-célula, promovendo a formação de um biofilme robusto (Vasconcelos et al., 2020). Com o intuito do combate às bactérias multirresistentes, a próxima geração de antibióticos terá origem nos compostos bioativos derivados de fontes naturais (Qais et al., 2019). Alguns compostos presentes nas plantas são promissores por exibirem atividade contra *P. aeruginosa*, interferindo no seu metabolismo, incluindo inibição dos sistemas QS (Erdönmez et al., 2018). Por conseguinte, a busca por novos compostos bioativos antipseudomonas em plantas se tornou foco de interesse (Challinor e Bode, 2015). Em complemento, potenciais bioativos herbais prescritos nas terapias do passado, emergem e são avaliados combinados com outros antibióticos como tentativa de produzir efeitos aditivos ou preservar o repertório atual de antibióticos (Owen e Laird, 2019, Gould, 2016). O potencial da cafeína pode ser explorado dadas suas propriedades terapêuticas promissoras no tratamento de patógenos resistentes. Dado o exposto, o objetivo desta revisão sistemática foi identificar se os objetivos e escopos das pesquisas realizadas na década de 2010 sobre a avaliação do potencial da cafeína como agente antibiofilme, podem considerar o composto como um candidato bioativo natural frente *P. aeruginosa*.

MATERIAL E MÉTODOS

As bases de dados consultadas para a elaboração desta revisão sistemática de literatura foram: MEDLINE, PubMed, EMBASE e Periódicos CAPES, escolhidas por reunirem grande acervo virtual, bem como indicadas pelas diretrizes metodológicas de elaboração de revisões sistemáticas e metanálise do Ministério da Saúde do Brasil (2012). A consulta ocorreu separadamente em cada base de dado, no final de abril de 2020, contemplando publicações no período de 01 de janeiro de 2011 a 01 de maio de 2020. Foram utilizadas as palavras-chave “cafeína”, “biofilme” e “piocianina” em qualquer parte do texto, uma vez que as três palavras juntas não apareciam nos títulos. Foram considerados apenas os artigos de pesquisa originais com acesso disponível ao texto e publicados em língua inglesa, sendo excluídos artigos de revisão de qualquer natureza, notas técnicas, editoriais, livros, teses, resumos em suplementos, artigos no prelo e artigos de pesquisa sem acesso. O descritor “*Pseudomonas aeruginosa*” foi utilizado como um segundo filtro após a busca inicial e os documentos duplicados entre as bases consultadas também foram excluídos. Inicialmente foram identificados 29 documentos e após aplicação dos critérios de exclusão, a revisão final contemplou um total de

onze documentos. Por fim, a análise dos artigos selecionados foi realizada por meio do preenchimento de uma ficha de leitura, na qual foram identificados os objetivos, temática de cada trabalho, resultados e perspectivas futuras.

RESULTADOS

Sobre a ação da cafeína contra *P. aeruginosa*, três grandes grupos de temas foram identificados nas publicações: 1) atividade antimicrobiana; 2) atividade anti-QS; e 3) atividade antimetabólica (Tabela 1). Os grupos de número 1 e 2 ainda foram ainda categorizados em mais dois subgrupos: determinação da atividade antimicrobiana utilizando extratos de frutos contendo diferentes teores de cafeína (Martínez-Tomé et al., 2011; Duangjai et al., 2016; Mat et al., 2016); e avaliação da atividade da cafeína combinada com antibióticos (Bazzaz et al., 2012; Bazzaz et al., 2016). Com relação ao grupo que estudou o efeito anti-QS da cafeína, apenas um trabalho reportou a ação anti-QS *per se* (Norizan et al., 2013) e os demais avaliaram o efeito da ação anti-QS na expressão de fenótipos relacionados aos fatores de virulência de *P. aeruginosa* bem como na formação de biofilme (Husein et al., 2015; Sethupathy et al., 2016; Qais et al., 2019; Chakraborty et al., 2020). Finalmente, apenas um estudo verificou o efeito antimetabólico da cafeína sobre *P. aeruginosa* (Huayhuaz et al., 2017).

Surpreendentemente o cruzamento dos documentos que tratam da atividade da cafeína sobre *P. aeruginosa* não é tão expressivo como inicialmente conjecturado. Embora o número de publicações tenha mais que dobrado ao comparar a primeira com segunda metade da década de 2010, o tema foi muito pouco explorado. Contudo, no mesmo período, os objetivos e escopos evoluíram de forma não linear, ao modo como estão agrupadas nesta revisão sistemática, partindo-se de estudos de base sobre a determinação e quantificação da atividade antimicrobiana da cafeína em *P. aeruginosa* para investigações mais elaboradas, tentando correlacionar a ação do composto nos mecanismos de sinalização celular e perturbação nos fenótipos modulados por eles, incluindo a formação de biofilmes. A maioria dos estudos foram conduzidos na Ásia (81,8% considerando toda a década). Entre os anos de 2011 e 2015 representaram 75,0% dos documentos, enquanto dos anos 2016 a 2020, o percentual aumentou para 85,7%. O país que lidera interesse pelo tema é a Índia (cerca de 45% do total), seguida pelo Irã e Malásia, país que se destaca como primeiro a reportar o efeito anti-*quorum sensing* da cafeína sobre *P. aeruginosa*. Nenhuma publicação foi identificada na África ou Oceania. Com respeito aos escopos das publicações, as áreas de concentração dos estudos mais prevalentes foram igualmente Biotecnologia e Ciências médicas. As demais áreas de concentração identificadas nas publicações foram Tecnologia de alimentos e Ciências naturais (um da Biologia e um segundo da Química).

DISCUSSÃO

A cafeína, seja na forma pura, seja como o composto majoritário de extratos, macerados ou fermentados de plantas medicinais ou comestíveis, seja como seus frutos, ricos desta metilxantina, parece não interferir no crescimento *in vitro* de *P. aeruginosa* (Mat et al., 2016). Apesar disso, traz atenção por exibir alterações importantes em termos moleculares, aos quais refletem reduções significativas da expressão de fatores

Tabela 1. Sumário dos estudos de atividade da cafeína contra *Pseudomonas aeruginosa*

Objetivo	Resultados	Referência
Estudos da atividade antimicrobiana		
Avaliar a atividade de 4 tipos de café preparados de três formas diferentes contra <i>P. aeruginosa</i> e outras 5 bactérias relacionadas a deterioração de alimentos.	Houve aumento da atividade antimicrobiana, proporcional à concentração, correlacionada à origem do café. O café expresso mostrou atividade à todas as bactérias. Contudo, a ação em Gram-negativos foi menos expressiva. <i>P. aeruginosa</i> foi o bacilo mais sensível ao café Etiópia, exibindo halos de inibição variado entre 8 a 17 mm.	Martínez-Tomé <i>et al.</i> (2011)
Avaliar a atividade da polpa do café, preparada em três diferentes formas.	O extrato da polpa do café demonstrou maior atividade frente <i>P. aeruginosa</i> e três outras bactérias. Os valores do CIM e CBM foram, respectivamente 75 e > 300 mg/mL.	Duangjai <i>et al.</i> (2016)
Comparar a atividade de extratos de grão de cacau obtidos após 7 dias de fermentação espontânea e fermentação por <i>Candida sp.</i> ou <i>Blastobotrys sp.</i> , contra <i>P. aeruginosa</i> e mais 8 patógenos relacionados a deterioração de alimentos.	O extrato bruto do cacau contendo 74,59% de cafeína não inibiu <i>P. aeruginosa</i> apesar de demonstrar atividade às demais bactérias. Os fermentados apresentaram teores mais altos de beta-sitosteróis e estigmasteróis, igualmente ativos, porém ineficazes contra <i>P. aeruginosa</i> .	Mat <i>et al.</i> (2016)
Avaliar o efeito da combinação de cafeína e outras metilxantinas na atividade da gentamicina.	A cafeína isolada não demonstrou efeito antimicrobiano, contudo nas concentrações de 0,12 e 2,0 mg/mL reduziram a CIM da gentamicina, respectivamente, 2 e 4 vezes, contra <i>P. aeruginosa</i> .	Bazzaz <i>et al.</i> (2012)
Avaliar o efeito da combinação da cafeína e outras xantinas com gentamicina.	A combinação da cafeína não promoveu alteração da CIM da gentamicina. Outras xantinas foram promissoras.	Bazzaz <i>et al.</i> (2016)
Estudos da atividade anti-Quorum-sensing		
Avaliar o potencial da cafeína como um bioativo anti-QS.	Concentrações de cafeína variando entre 0,1 a 1,0 mg/mL inibiram a produção de AHLs de cadeia baixa, sem afetar o crescimento de <i>P. aeruginosa</i> PA01. A motilidade foi inibida na concentração de 0,3 mg/mL de cafeína, resultando colônias curtas com arranjos indefinidos.	Norizan <i>et al.</i> (2013)
Avaliar a atividade antibiofilme, anti-QS e expressão de fatores de virulência do extrato da semente de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L. (Leguminosae) sobre <i>P. aeruginosa</i> PA01 e PAF79.	A concentração de 200 µg/mL de cafeína, identificada como o composto majoritário no extrato metanólico da semente (40,82%) promoveu uma redução significativa da formação de biofilme (24 e 68%) nas duas linhagens. Houve redução da motilidade (≈60%) e da produção de piocianina e EPS (55,7 e 82,1%). Além disso, reduziu os níveis de AHL e promoveu regulação negativa de <i>LasR</i> . A cafeína pura produziu um efeito concentração dependente. 200 µg/mL reduziu 70% da motilidade, 64% da formação de biofilme sem interferir no crescimento das duas linhagens.	Husain <i>et al.</i> (2015)
Avaliar o efeito de 400 µg/mL de cafeína sobre a inibição da regulação de QS em 32 isolados clínicos de <i>P. aeruginosa</i> , refletindo reduções nos fatores de virulência da bactéria.	Houve inibição de 50-90% da formação de biofilme, produção de elastase e protease na maioria dos isolados. A produção de piocianina foi inibida entre 50-90% em 17 isolados e entre 20-49% em 13 deles.	Sethupathy <i>et al.</i> (2016)
Avaliar o efeito de concentrações subinibitórias da fração do extrato da folha de chá-verde, extraída com acetato de etila contra a expressão de fatores de virulência de <i>P. aeruginosa</i> e outras duas bactérias.	A cafeína, composto majoritário no extrato (não apresentou o teor) reduziu a produção de piocianina de forma dose dependente. A produção de pioverdina foi reduzida 60% na concentração de 1000 µg/mL, responsável também pela inibição entre 60-65% da protease e elastase. Adicionalmente, reduziu 60% da produção de ramnolipídio. A motilidade foi reduzida em 90% na concentração de 250 µg/mL.	Qais <i>et al.</i> (2019)
Avaliar a ação antibiofilme da cafeína.	A CIM da cafeína foi de 200µg/mL. A redução da formação do biofilme mostrou-se proporcional ao aumento da concentração de cafeína. A maior redução ocorreu na presença de 80 µg/mL, mas concentrações subinibitórias exibiram atividade, incluindo redução da motilidade, secreção de protease e produção de piocianina. Os sistemas de QS, <i>LasI</i> e <i>LasR</i> também foram afetados. Em contrapartida, 40 e 80 µg/mL de cafeína não afetaram o biofilme maduro, bem como as células plânctônicas.	Chakraborty <i>et al.</i> (2020)
Estudo da atividade antimetabólica		
Avaliar a hipótese do cavalo de Troia na aquisição de ferro por <i>P. aeruginosa</i> incorporando Alumínio e Gálio à desferrioximina, e comparar com sideróforos combinados com cafeína.	A incorporação dos metais nos sideróforos contendo cafeína produziram as inibições mais significativas. O sideróforo incorporado apenas com cafeína foi mais tóxico que os sideróforos incorporados com metais isoladamente.	Huayhuaz <i>et al.</i> (2017)

de virulência da bactéria bem como da sua organização em biofilmes (Qais *et al.*, 2019). Entretanto, o mecanismo pelo qual a cafeína produz estes efeitos na *P. aeruginosa* parece não ter relação com a inibição da fosfodiesterase (Bazzaz *et al.*, 2012). Evidências indicam que a inibição da síntese de piocianina pela cafeína é concentração dependente. Qais *et al.* (2019) observaram que quanto menor foi a concentração de cafeína, menos produção de piocianina era observada. Somente a partir de concentrações iguais ou superiores a 125 µg/mL a inibição da síntese do pigmento era mais significativa. Por outro lado, é importante salientar que concentrações baixas de cafeína podem favorecer *P. aeruginosa*. Uma vez que a piocianina pode participar dos processos de sinalização celular durante a formação de biofilme em *P. aeruginosa*, sob baixas concentrações de cafeína, a síntese do pigmento não é interrompida e a bactéria

ainda pode se aproveitar da propriedade antioxidante da cafeína. O composto pode participar da eliminação de algumas espécies reativas de oxigênio (ROS), tóxicas para *P. aeruginosa*, especialmente o radical hidroxila, considerado a ROS mais tóxica para células microbianas. A eliminação desta ROS ocorre via reação envolvendo o oxigênio carbonílico no C-6 da cafeína e o radical hidroxila (Shi *et al.*, 1991). Ao dividir didaticamente as publicações em três grupos, fica claro que os estudos de base, i.e., aqueles que tratam apenas da atividade antimicrobiana *in vitro* da cafeína discutem a ação do composto contra patógenos Gram-positivos e Gram-negativos relacionados à deterioração de alimentos, no qual *P. aeruginosa* é o organismo Gram-negativo não fermentador representativo. Nestas condições experimentais o grupo Gram-positivo se mostra mais sensível à cafeína e ao ácido cafeico (Martínez-Tomé *et al.*, 2011), enquanto *P. aeruginosa* mesmo

sem inibição significativa da viabilidade celular, parece ser o bacilo Gram-negativo mais susceptível, razão pela qual os autores sugerem aplicar a cafeína como um aditivo em alimentos como agente de preservação (Duangjai *et al.*, 2016). Num contexto das abordagens terapêuticas da cafeína, a combinação com gentamicina se mostrou bastante eficaz, especialmente frente Gram-positivos. No entanto, a atividade contra *P. aeruginosa* foi potencializada, uma vez que a combinação promoveu redução da Concentração Inibitória Mínima (CIM), podendo ser aplicadas concentrações menos tóxicas de antibióticos (Bazzaz *et al.*, 2012; Bazzaz *et al.*, 2016). Assim, os autores sugerem que a possibilidade da combinação da cafeína com outros antibióticos já comercializados. Isto representa uma estratégia no delineamento de novas abordagens terapêuticas, numa perspectiva de combate à multiresistência microbiana, assim como na promoção do bem-estar do paciente, em função da redução dos efeitos colaterais. A atuação da cafeína sobre o sistema QS da *P. aeruginosa* foi reportado pela primeira vez no início da década de 2010 (Norizan *et al.*, 2013). O QS é uma estratégia muito importante para a bactéria interagir com o ambiente, cujas moléculas de sinalização pertencem à classe das N-acil-homoserinalactonas (AHL). As AHLs são responsáveis pela modulação de diferentes fatores de virulência, tais como motilidade, expressão de proteínas, secreção de exometabólitos, especialmente pirocianina, produção de biofilme e respostas a estresse oxidativo, dentre outros (Qais *et al.*, 2019). A cafeína é a metilxantina com maior atividade anti-QS em *P. aeruginosa* (Sethupathy *et al.*, 2016). O composto não promove degradação das AHLs, porém promove reduções drásticas nas suas concentrações, resultando efeitos deletérios permanentes para *P. aeruginosa* (Husain *et al.*, 2015).

Até o presente momento se desconhece o mecanismo desta inibição e algumas vias são sugeridas: modificação da estrutura das AHLs sintetases; ligação competitiva ou não competitiva pelo sítio de ação das AHL sintetases; ou bloqueio das proteínas receptoras (Norizan *et al.*, 2013; Qais *et al.*, 2019). Embora o mecanismo pelo qual a interferência da cafeína nos sistemas QS em *P. aeruginosa* ainda seja desconhecido, hipóteses são levantadas de que este processo ocorra de forma multifatorial. Uma das consequências mais importantes converge para a inibição da formação de biofilmes envolvendo diversas respostas, por exemplo, inibição da pilina e adesinas, redução da secreção de exopolissacarídeos (EPS) e diminuição da motilidade (Qais *et al.*, 2019; Chakraborty *et al.*, 2020). Em complemento, a motilidade também é comprometida por depender da síntese de ramnolipídios e ácidos 3-hidroxialcônicos, modulados igualmente por sistemas QS (Norizan *et al.*, 2013). Ressalta-se ainda que a cafeína também diminui a atividade da pioverdina, sideróforo presente em *P. aeruginosa*. A interferência da atividade da pioverdina ocorre pela inibição de enzimas antioxidantes e perturbação na aquisição de ferro (Sethupathy *et al.*, 2016). Acredita-se que efeito antimetabólico da cafeína está relacionada à sua propriedade lipofílica, na qual contribui na liberação de quelantes metálicos no citosol, afetando a homeostase celular. Neste contexto, sideróforos sintéticos acoplados a metais podem ser empregados, baseando-se no fato da promiscuidade *P. aeruginosa* por moléculas que possam ser utilizadas na aquisição do ferro, importante para o metabolismo bacteriano (Huayhuaz *et al.*, 2017). A quantidade de estudos realizados acerca da atividade antipseudomonas da cafeína ainda é pouco expressiva, porém revela um potencial para resolver entraves e

lacunas sob diferentes pontos de vista. Ressalta-se que o intervalo de anos pesquisado englobou apenas a década de 2010, não cabendo responder se o interesse pelo tema é crescente ou reflete um desinteresse. Contudo, possibilita a formulação de duas possíveis hipóteses como tentativa de elucidar este questionamento: a primeira, o baixo número de publicações na década de 2010 reflete o abandono do tema visto que a cafeína não emerge como potencial bioativo de interesse contra *P. aeruginosa*. Por outro lado, a segunda hipótese trata do potencial negligenciado da cafeína como agente antipseudomonas. Até o nosso conhecimento, a segunda hipótese parece ser mais realista, uma vez que houve uma certa evolução metodológica, com o aprofundamento da investigação, especialmente em nível molecular. A investigação da atividade da cafeína e outras metilxantinas de ocorrência natural, como teobromina, emerge como um assunto de interesse não somente empregado contra *P. aeruginosa*, mas também para um número significativo de patógenos incluindo *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* and *Proteus vulgaris*, dentre outros (Al-Janabi, 2011; McCarthy e O'Gara, 2015). Ressalta-se que o café é a bebida contendo cafeína de ocorrência natural mais consumida em todo o planeta (Cornelis, 2019). Mais de 80 diretrizes alimentares baseadas na dieta de 56 países fazem referência ao menos um alimento ou bebida contendo cafeína (Reyes e Cornelis, 2018). Isto introduz uma discussão sobre a quantidade de matéria-prima disponível, que não irá competir diretamente com o que é destinado à indústria de alimento, atribuindo status aos resíduos do processamento de plantas ricas em cafeína, tais como tortas e borras, uma vez que tais resíduos podem ser reaproveitados como fontes potenciais para a obtenção do composto.

Conclusão

Há pouca divulgação da atividade da cafeína contra *P. aeruginosa*, porém o pequeno número de publicações parece não refletir um desinteresse da comunidade científica sobre o tema, uma vez que lacunas e perspectivas apontadas nos estudos podem encorajar diferentes abordagens, por vezes realizadas, ao exemplo das alterações em nível molecular promovidos pela cafeína em *P. aeruginosa*. A partir do que foi coletado, listamos algumas frentes de investigação que podem aprofundar o conhecimento dos mecanismos anti-QS da cafeína em nível celular e molecular, tais como identificação das proteínas receptoras da cafeína na célula, determinar os genes e operons envolvidos na inativação, avaliar alterações morfológicas e investigar a atividade antimetabólica aplicando a hipótese do cavalo de Troia.

Agradecimentos

Os autores expressam o reconhecimento à UFPB pelo apoio à Iniciação Científica e ao CNPq pela concessão da bolsa ao projeto "O microcosmo azul: desvendando as interações da *Pseudomonas aeruginosa* com o meio", vigência 2019-2020 (processo #800445/2018-0).

REFERENCES

- Abdul-Hussen, Z.R., and Atia, S.S. 2016. Antimicrobial effect of pyocyanin extracted from *Pseudomonas aeruginosa*. Eur J Experiment Biol.v.6, pp. 1-4.

- Al-Janabi, AAHS. 2011. Potential activity of the purine compounds caffeine and aminophylline on bacteria. *J Glob Infect Dis.* v. 3, pp.133-137.
- Ashihara H, and Crozier A. 1999. Biosynthesis and metabolism of caffeine and related purine alkaloids in plants. *Adv Bot Res.* v. 30, pp. 177-205.
- Ashihara H, and Suzuki T. 2004. Distribution and biosynthesis of caffeine in plants. *Frontiers Biosci.* v. 9, pp. 1864-1876.
- Azam S, Hadi, N, Khan NU, and Hadi SM. 2003. Antioxidant and prooxidant properties of caffeine, theobromine and xanthine. *Med SciMonit.*v. 9, pp. BR325-BR330.
- Barbieri R, Coppo E, Marchese A, Daglia M, Sobarzo-Sánchez E, Nabavi SF, and Nabavi M. 2017. Phytochemicals for human disease: An update on plant-derived compounds antibacterial activity. *Microbiol Res.*v. 196, pp. 44-68.
- Bassetti M, Vena A, Croxatto A, Righi E, and Guery B. 2018. How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs in Context.*v. 7, pp. 212527. doi:10.7573/dic.212527.
- Baumann TW. 2006. Some thoughts on the physiology of caffeine in coffee – and a glimpse of metabolite profiling. *Braz J Plant Physiol.*v. 18, pp. 243-251.
- Bazzaz BSF, Lavaei S, and Hosseinzadeh H. (2012). Interaction of methylxanthines and gentamicin against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*: role of phosphodiesterase inhibition. *ActaMicrobiol ImmunolHungarica.*v. 59, pp. 13–20.
- Bazzaz BSF, Sarabandi S, Khameneh B, and Hosseinzadeh H. 2016. Effect of catechins, green tea extract and methylxanthines in combination with gentamicin against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* - Combination therapy against resistant bacteria. *J Pharmacopuncture.*v. 19, pp. 312-318.
- Chakraborty P, Dastidar DG, Paul P, Dutta S, Basu D, Sharma SR, Basu S, Sarker RK, Sen A, Sarkar A, and Tribedi P. (2020) Inhibition of biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* by caffeine: a potential approach for sustainable management of biofilm. *Arch Microbiol.*v. 202, pp. 623-635.
- Challinor VL, and Bode HB. 2015. Bioactive natural products from novel microbial sources. *Annals New York Acad Sci.*v. 1354, pp. 82–97.
- Cornelis MC. 2019. The impact of caffeine and coffee on human health. *Nutrients.*v. 11, p. 46. doi: 10.3390/nu11020416.
- Depke T, Franke R, and Mark Brönstrup M. 2017. Clustering of MS² spectra using unsupervised methods to aid the identification of secondary metabolites from *Pseudomonas aeruginosa*. *J Chromatograph B.*v. 1071, p. 19-28.
- Duangjai A, Suphrom N, Wungrath J, Ontawong A, Nuengchamnong N, and Yosboonruang A. 2016. Comparison of antioxidant, antimicrobial activities and chemical profiles of three coffees (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extracts. *Integr Med Res.*v. 5, pp. 324-331.
- Erdönmez D, Rad AY, and Aksoz N. 2018. Anti-quorum sensing potential of antioxidant quercetin and resveratrol. *Braz Arch Biol Technol.* v. 61, pp. e17160756.
- Gould K. 2016. Antibiotics: from prehistory to the present day. *J Antimicrob Chemother.*v. 71, pp. 572–575.
- Heckman MA, Weil J, and Gonzalez de Mejia E. 2010. Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in foods: a comprehensive review on consumption, functionality, safety, and regulatory matters. *J Food Sci.*v. 75, pp. 77-87.
- Hentzer M, Riedel K, Rasmussen TB, Heydorn A, Andersen JB, Parsek MR, Rice SA, Eberl L, Molin S, Høiby N, Kjelleberg S, and Givskov M. 2002. Inhibition of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria by a halogenated furanone compound. *Microbiology.*v. 148, pp. 87-102.
- Huang R, O'Donnell AJ, Barbolino JJ, and Barkman TJ. 2016. Convergent evolution of caffeine in plants by co-option of exapted ancestral enzymes. *Proc Natl AcadSci USA.* v. 113, pp. 10613–10618.
- Huayhuaz JAA, Vitorino HÁ, Campos OS, Serrano SHP, Kaneko TM, and Espósito BP. 2017. Desferrioxamine and desferrioxamine-caffeine as carriers of aluminum and gallium to microbes via the Trojan Horse Effect. *J Trace Elem Med Biol.* v. 41, pp.16–22.
- Husain FM, Ahmad I, Khan MS, and Al-Shabib NA. 2015. *Trigonella foenum-graceum* (Seed) extract interferes with quorum sensing regulated traits and biofilm formation in the strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Aeromonas hydrophila*. *Evid-Based Complementary Altern Med.* v. 2015, pp. 1-10. doi: 10.1155/2015/879540.
- Husain FM, Ansari AA, Khan A, Ahmad N, Albadri A, and Albalawi TH. 2019. Mitigation of acyl-homoserine lactone (AHL) based bacterial quorum sensing, virulence functions, and biofilm formation by yttrium oxide core/shell nanospheres: Novel approach to combat drug resistance. *Scientific Rep.*v. 9, pp. 18476. doi: 10.1038/s41598-019-53920-w.
- Jayaseelan S, Ramaswamy D, and Dharmaraj S. 2014. Pyocyanin: production, applications, challenges and new insights. *World J Microbiol Biotechnol.*v. 30, pp. 1159-1168.
- Lihua L, Jianhui W, Jialin Y, Yayin L, and Guanxin L. 2013. Effects of allicin on the formation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm and the production of quorum-sensing controlled virulence factors. *Polish J Microbiol.*v. 62, pp. 243–251.
- McCarthy RR, and O'Gara F. 2015. The impact of phytochemicals presents in the diet on microbial signalling in the human gut. *J Funct Foods.*v. 14, pp. 684–691.
- Martínez-Tomé M, Jiménez-Monreal AM, García-Jiménez L, Almela L, García-Diz L, Mariscal-Arcas M, and Murcia MA. 2011. Assessment of antimicrobial activity of coffee brewed in three different ways from different origins. *Eur Food Res Technol.*v. 233, pp. 497–505.
- Mat SA, MohdDaud IS, Rojje M, Hussain N, and Rukayadi Y. 2016. Effects of *Candida* sp. and *Blastobotrysp.* starter on fermentation of cocoa (*Theobroma cacao* L.) beans and its antibacterial activity. *J Pure Appl Microbiol.*v. 10, pp. 2501-2510.
- Ministério da Saúde. Diretrizes metodológicas: elaboração de revisão sistemática e metanálise de ensaios clínicos randomizados. (2012) Ministério da Saúde, Brasília, Brasil, pp. 13-92.
- Mokh S, El Khatib M, Koubar M, Daher Z, and Al Iskandarani M. 2017. Innovative SPE-LC-MS/MS technique for the assessment of 63 pharmaceuticals and the detection of antibiotic-resistant bacteria: A case study natural water sources in Lebanon. *Sci Total Environ.*v. 609, pp. 830-841.
- Norizan SNM, Yin W-F, and Chan KG. 2013. Caffeine as a potential quorum sensing inhibitor. *Sensors.*v. 13, pp. 5117-5129.

- Owen L, and Laird K. 2019. Synergistic combinations of antibiotics with cumin, oregano and rosewood oils as a strategy to preserve the antibiotic repertoire. *CurrTrad Med.v.* 5, pp. 337-353.
- Passos da Silva D, Schofield MC, Parsek MR, and Tseg BS. 2017. An update on the sociomicrobiology of quorum sensing in gram-negative biofilm development. *Pathogens.v.* 6, pp. 51. doi:10.3390/pathogens6040051.
- Qais FA, Khan MS, and Ahmad I. 2019. Broad-spectrum quorum sensing and biofilm inhibition by green tea against gram-negative pathogenic bacteria: Deciphering the role of phytochemicals through molecular modelling. *Microbial Pathogen.v.* 126, pp. 379-392.
- Rehman Z, and Leiknes T. 2018. Quorum-quenching bacteria isolated from Red Sea sediments reduce biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Microbiol.v.* 9, pp. 1354. doi: 10.3389/fmicb.2018.01354.
- Reyes CM, and Cornelis MC. 2018. Caffeine in the diet: Country-level consumption and guidelines. *Nutrients.v.* 10, pp 1772. doi:10.3390/nu10111772.
- Sano H, Kim, Y-S, and Choi, Y-E. 2013. Like cures like. *Adv Bot Res.v.* 68, pp. 273–300.
- Sethupathy S, Prasath KG, Ananthi S, Mahalingamb S, Balan SY, and Pandian SK. 2016. Proteomic analysis reveals modulation of iron homeostasis and oxidative stress response in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 by curcumin inhibiting quorum sensing regulated virulence factors and biofilm production. *J Proteomics.v.* 145, pp. 112-126.
- Shi X, Dalal NS, and Jain AC. 1991. Antioxidant behaviour of caffeine: Efficient scavenging of hydroxyl radicals. *FoodChemToxicol.v.* 29, pp. 1-6.
- Vasconcelos U, Das P, Dias DSB, Bonifacio TTC, Arruda RRA, Oliveira BTM, and Cavalcanti TG. In: Mitra, A. (ed) *Microbial biofilms current research and practical implications* (2020) Caister Academic Press, Wymondham, UK, pp. 75-98, <https://doi.org/10.21775/9781912530328.02>.
- Viana AAG, Martins RX, Ferreira GF, Zenaide-Neto H, Amaral IPG, and Vasconcelos U. 2017. *Pseudomonas aeruginosa* and pyocyanin negatively act on the establishment of Enterobacteriaceae biofilm on a ceramic surface. *IntJEngRes Appl.v.* 7, pp. 23-30.
- Winstanley C, O'Brien S, and Brockhurst MA. 2016. *Pseudomonas aeruginosa* evolutionary adaptation and diversification in cystic fibrosis chronic lung infections. *Trends Microbiol.v.* 24, pp. 327-337.
