

SELEÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS PRODUTORAS DE METABÓLITOS ANTIBACTERIANOS E ANTIFÚNGICOS

Vitor Matos de Oliveira Silva¹ (PIBIC/CNPq);
Daphnie Loannis Fontes e Carvalho¹ (PIBIC/FAPITEC);
Camilla Andrade Silva Valença^{2,3};
Sona Jain² (Orientador)
vitor.matos01@souunit.com.br

¹Universidade Tiradentes/Biomedicina/Aracaju/SE.

²Instituto de Tecnologia e Pesquisa/Aracaju/SE.

³Universidade Tiradentes/ Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Industrial/Aracaju/SE

2.00.00.00-6 - Ciências Biológicas; 2.12.00.00-9 – Microbiologia

RESUMO

Introdução: A resistência dos microrganismos aos antimicrobianos tem sido de ampla preocupação mundial¹, principalmente na era pós COVID-19². Diversos microrganismos, isolados de diferentes locais, têm sido associados à produção de compostos metabólicos eficazes contra uma ampla gama de microrganismos patogênicos³. **Objetivo:** Frente a este contexto, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar a atividade antimicrobiana de microrganismos isolados previamente de locais pouco explorados. **Metodologia:** Inicialmente foi feito um screening da atividade antimicrobiana com 32 isolados de diferentes locais (cogumelos- COG, esterco de galinha- EG, caldo de cana- CC, leite de gado- LG, arroz fermentado- IB e suco de abacaxi- AX), utilizando a metodologia de sobreposição em ágar (agar overlay), contra diferentes indicadores patogênicos padrão (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Acinetobacter baumannii*, *Candida albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*) usando o método de sobreposição em ágar (overlay)⁴. Os isolados potenciais foram cultivados em meio de cultura líquido para a obtenção dos sobrenadantes bacterianos e posterior análise da atividade destes através do método de difusão em poços⁵. Para identificação molecular, foram extraídos, amplificados e sequenciados o DNA na região 16s rRNA dos isolados. 8 isolados apresentaram perfil de inibição bacteriana, sendo os que inibiram uma quantidade maior de indicadores, em ordem crescente: IB-4.1, seguido de LG e CC-6, com maior inibição para *K. pneumoniae*. **Resultados:** Dos isolados do cogumelo, todos apresentaram atividade de amplo espectro, assim como contra leveduras como *C. albicans*, tendo COG-A5 apresentado inibição contra mais indicadores. Para o teste de difusão, o isolado COG-A5 apresentou inibição contra *S. aureus*, *E. coli* e *Pseudomonas sp.* Além deste, outros 2 isolados IB 4.1 e COG-O2 inibiram *S. aureus* e *C. albicans*, respectivamente. As diferenças de atividade entre ambos os testes se dão devido às diferenças de condições às quais os isolados foram submetidos, justificando que as condições de estresse microbiano são favoráveis à expressão da atividade antimicrobiana⁶. Os amplicons de IB-4.1, COG-O2, CC6, COG-A7, COG-A5 apresentaram valores de, aproximadamente, 1500 pb (pares de bases), enquanto os amplicons de LG e EG apresentaram valores de, aproximadamente, 1000 pb. Os

isolados LG e EG foram sequenciados e as sequências genéticas foram comparadas com as depositadas no GenBank na plataforma do NCBI (National Center for Biotechnology Information) e mostraram similaridade de com *Enterococcus faecium* (98,10%) e *Pseudomonas monteilii* (99,07%), respectivamente. **Conclusão:** Sendo assim, pode ser concluído que os microrganismos isolados neste trabalho, possuem potencial para geração de futuros antimicrobianos a serem utilizados frente aos convencionais, sendo necessários mais estudos que explorem o perfil químico assim como a purificação desses metabólitos bacterianos para sua utilização industrial.

PALAVRAS-CHAVE: antimicrobianos, isolamento bacteriano, metabólitos bacterianos.

Agradecimentos: O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

ABSTRACT

Introduction: The resistance of microorganisms to antimicrobials has been of widespread concern around the world¹, especially in the post-COVID-19 era². Several microorganisms, isolated from different locations, have been associated with the production of metabolic compounds which are effective against a wide range of pathogenic microorganisms³. **Objective:** Given this context, the present study aimed to characterize the antimicrobial activity of microorganisms previously isolated from little explored locations. **Methodology:** Initially, the antimicrobial activity was screened with 32 isolates from different locations (mushrooms- COG, chicken manure- EG, sugarcane juice- CC, cattle milk- LG, fermented rice- IB and pineapple juice- AX), using the agar overlay methodology, against different standard pathogenic indicators (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Acinetobacter baumannii*, *Candida albicans*, *C. parapsilosis* and *C. tropicalis*) using the agar overlay method⁴. Potential isolates were cultivated in liquid culture medium to obtain bacterial supernatants and subsequent analysis of their activity using the well diffusion method⁵. For molecular identification, DNA in the 16s rRNA region of the isolates was extracted, amplified and sequenced. **Results:** 8 isolates showed a bacterial inhibition profile, those which inhibited a greater number of indicators, in ascending order: IB-4.1, followed by LG and CC-6, with greater inhibition for *K. pneumoniae*. Of the mushroom isolates, all showed broad-spectrum activity, as well as against yeasts such as *C. albicans*, with COG-A5 showing inhibition against more indicators. For the diffusion test, isolate COG-A5 showed inhibition against *S. aureus*, *E. coli* and *Pseudomonas sp.* In addition to this, 2 other isolates IB 4.1 and COG-O2 inhibited *S. aureus* and *C. albicans*, respectively. The differences in activity between both tests are due to the differences in conditions to which the isolates were subjected, justifying that microbial stress conditions are favorable to the expression of antimicrobial activity⁶. The IB-4.1, COG-O2, CC6, COG-A7, COG-A5 amplicons presented values of approximately 1500 bp (base pairs), while the LG and EG amplicons presented values of approximately 1000 bp. The LG and EG isolates were sequenced and the genetic sequences were compared with those deposited in GenBank on the NCBI (National Center for Biotechnology Information) platform and showed similarity with *Enterococcus faecium* (98.10%) and *Pseudomonas monteilii* (99.07%), respectively. **Conclusion:** Therefore, it can be concluded that the microorganisms isolated in this work have the potential to generate future antimicrobials to be used compared to conventional ones, requiring further studies that explore the chemical profile as well as the purification of these bacterial metabolites for their industrial use.

KEYWORDS: antimicrobials, bacterial isolation, bacterial metabolites.

ACKNOWLEDGEMENTS: This work was carried out with support from the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq).

REFERÊNCIAS/REFERENCES:

AMIRI, S.; MOKARRAM, R. R.; KHIABANI, M. S.; BARI, M. B.; KHALEDABAD, M. A. Characterization of antimicrobial peptides produced by *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium lactis* BB-12 and their inhibitory effect against foodborne pathogens. *LW1*, vol. 153, 2022.⁵

DE CARVALHO, A. A. T.; DE PAULA, R. A.; MANTOVANI, H. C.; DE MORAIS, C. A. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by a lactic acid bacterium isolated from Italian salami. *Food Microbiology*, vol. 23, p. 213-219, 2006.⁴

DE CARVALHO, M. P.; ABRAHAM, W.-R.; MACEDO, A. J. Microrganismos em favor da saúde humana. *Revista Liberato*, v. 9, n. 11, p. 77-81, 2008.³

MEDEIROS, A. F. Avaliação do uso de antimicrobianos e resistência microbiana: análise de séries temporais dos resultados de um programa de gerenciamento de antimicrobianos em um hospital público de ensino. 2022.¹

PELFRENE, E.; BOTGROS, R.; CAVALERI, M. Antimicrobial multidrug resistance in the era of COVID-19: a forgotten plight? *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, v. 10, 2021.²

RILEY, M. A. Bacteriocin-mediated competitive interactions of bacterial populations and communities. In: *Prokaryotic Antimicrobial Peptides*. New York, NY: Springer New York, 2011. p. 13–26.⁶