

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA BIOMASSA PRODUZIDA POR FUNGOS ISOLADOS DE MANGUES NO MUNICÍPIO DE SÃO LUIS-MA

Felipe Moraes Frasão da Silva¹; Jakson Breno do Nascimento Gomes²; Antônio José Cantanhede Filho³;

Resumo

As doenças infecciosas ainda representam um desafio global, especialmente devido à resistência bacteriana aos antibióticos e à falta de investimento em novos medicamentos. Actinobactérias, encontradas nos manguezais, são promissoras na produção de compostos bioativos com potencial terapêutico. Por isso, este estudo visa explorar o metabolismo secundário de actinobactérias isoladas de manguezais em São Luís, Maranhão, para uso em biofármacos. Com o isolamento, caracterização cromatográfica e testes feitos, os resultados mostram que essas actinobactérias possuem forte atividade antimicrobiana, sugerindo seu potencial na criação de novos medicamentos contra patógenos resistentes.

Palavras-chave: Actinobactérias. Antimicrobianos. Manguezais

Introdução

Doenças infecciosas continuam a ser uma das principais causas de mortalidade mundial, especialmente em países em desenvolvimento, responsáveis por 17% de todas as mortes globais, segundo a OMS, 2023. A descoberta de antibióticos como a penicilina e a estreptomicina destacou a importância de microrganismos, como fungos e actinobactérias, na produção de compostos bioativos com propriedades medicinais (GEBREYOHANNES; MOGES; RAJA, 2013; JANAKI; NAYAK; GANESAN, 2016). Em particular, as actinobactérias, conhecidas por sua diversidade bioquímica e genética, têm sido fontes valiosas de antibióticos e outros metabólitos secundários. Esses microrganismos, amplamente distribuídos em diversos ecossistemas, especialmente no solo de manguezais, são considerados promissores na busca por novos agentes terapêuticos, um campo ainda pouco explorado no estado do Maranhão, que detém a maior área de manguezais no Brasil. (LEE *et al.*, 2014; ICMBio, 2020).

¹ Estudante do Curso de Licenciatura em Química do IFMA do Campus Monte Castelo; silva.frasao@acad.ifma.edu.br.

² Estudante do Curso de Ciências Biológicas do IFMA do Campus Monte Castelo; jakson.breno@acad.ifma.edu.br.

³ Professor do Curso de Licenciatura em Química do Campus Monte Castelo; prof.antoniofilho@ifma.edu.br.

Diante dessa realidade, este estudo tem como objetivo analisar o metabolismo secundário de actinobactérias isoladas dos manguezais de São Luís-MA, explorando seu potencial como alternativa em biofármacos. O trabalho inclui o isolamento e cultivo desses microrganismos, a caracterização cromatográfica de seus metabólitos, a otimização das condições de cultivo e a avaliação da atividade antimicrobiana dos compostos contra patógenos importantes, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* e *Candida krusei*. Os resultados desta pesquisa visam contribuir para a biotecnologia, com possíveis aplicações significativas na saúde e na indústria, ampliando o leque de soluções para o tratamento de doenças infecciosas.

Metodologia

Os solos foram coletados em três locais de manguezal em São Luís-MA: Rio dos Cachorros, Ipase e Bacanga, para isolamento de actinobactérias. Após a coleta, 25g de cada solo foram processados para isolamento e cultivo das bactérias, que foram posteriormente submetidas a testes de atividade antimicrobiana contra patógenos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* e *Candida krusei*. Os sobrenadantes das culturas foram liofilizados, particionados e caracterizados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), e a atividade antimicrobiana dos extratos foi avaliada utilizando o método de microdiluição em placas de 96 poços para determinar a concentração inibitória mínima (CIM).

Resultados e Discussão

Os sedimentos de manguezal, após a retirada, foram enumerados levando em consideração a proximidade com a instituição de ensino, logo, os pontos de 1 a 5 são referentes ao Ipase, de 6 a 10 Bacanga e 11 a 15 Rio dos Cachorros. Foram averiguados em cada solo a temperatura e pH, conforme a tabela abaixo.

Tabela 1: Dados da medição de temperatura e aferição de pH dos pontos da coleta

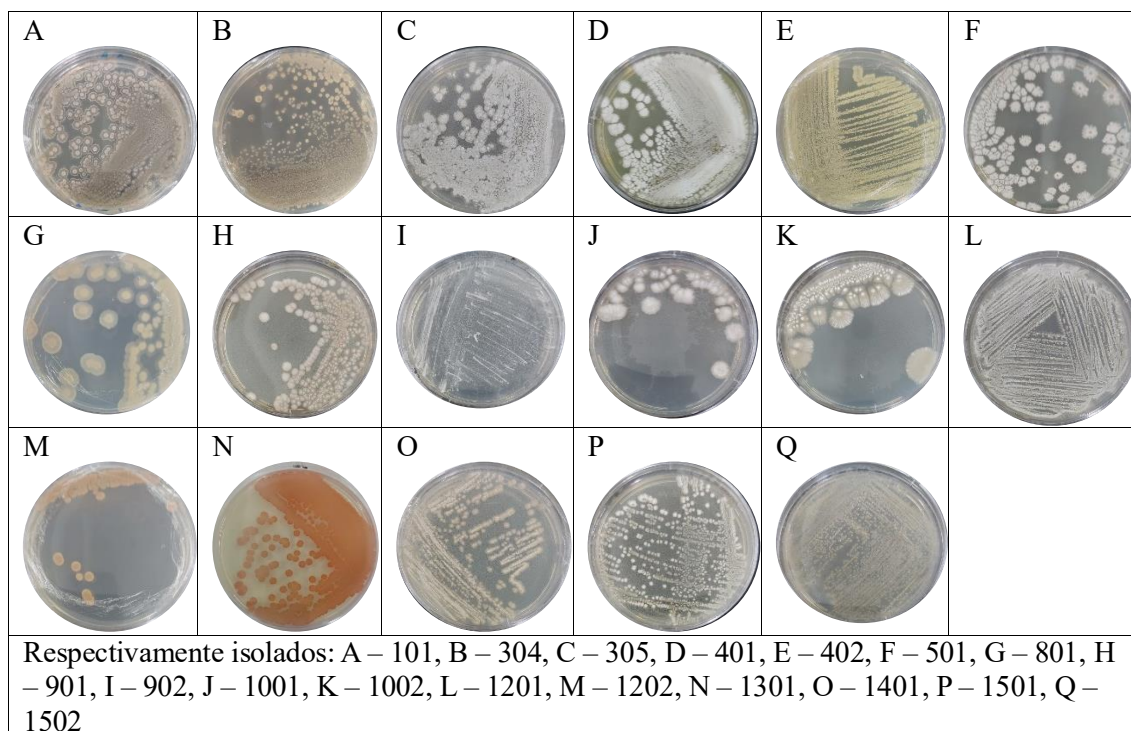
Ponto	Temperatura (°C)	pH
1	25,6°C	7,63
2	25,7°C	7,58

3	25,6°C	6,47
4	25,6°C	4,58
5	25,7°C	8,43
6	25,8°C	7,42
7	25,9°C	7,79
8	25,8°C	6,85
9	25,8°C	7,70
10	25,7°C	6,84
11	25,6°C	7,63
12	25,7°C	7,58
13	25,6°C	6,47
14	25,6°C	4,58
15	25,7°C	8,43

Fonte: Autor, 2024.

Foram identificados e isolados 17 actinobactérias provenientes de sedimentos de manguezal, estes, tiveram numerações específicas, levando em consideração o ponto de coleta e as diluições.

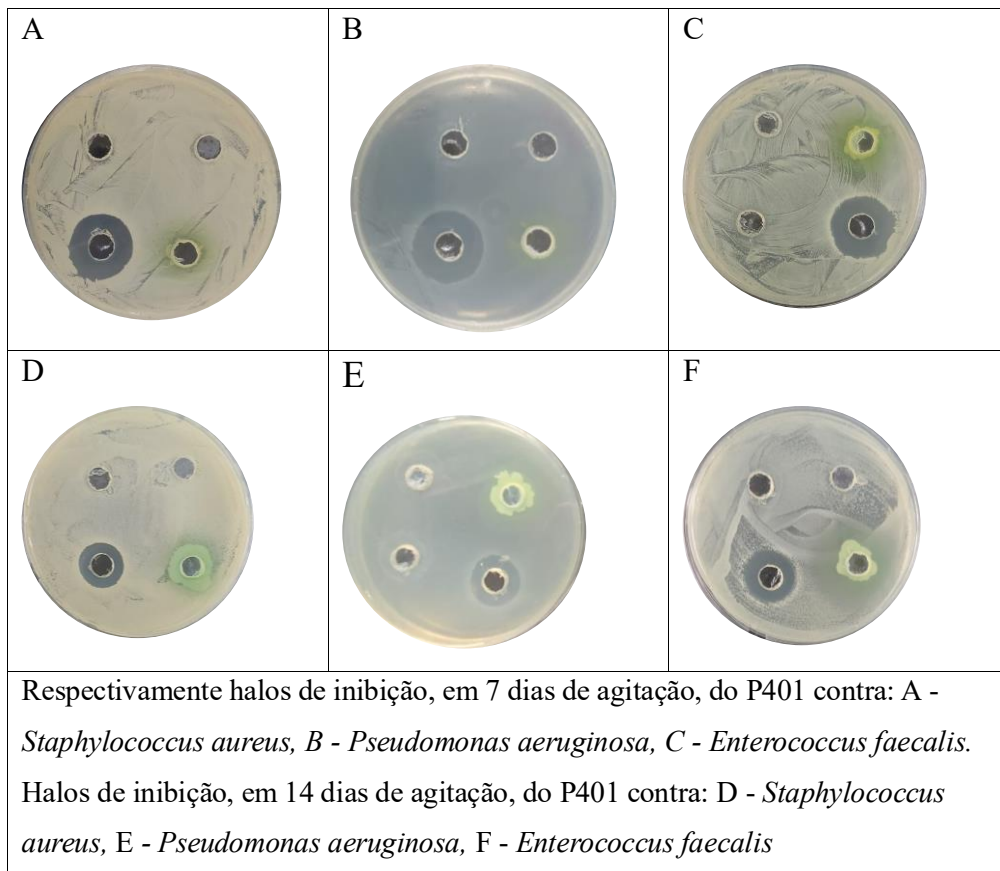
Figura 1: Registro fotográfico das actinobactérias isoladas



Fonte: Autor, 2024

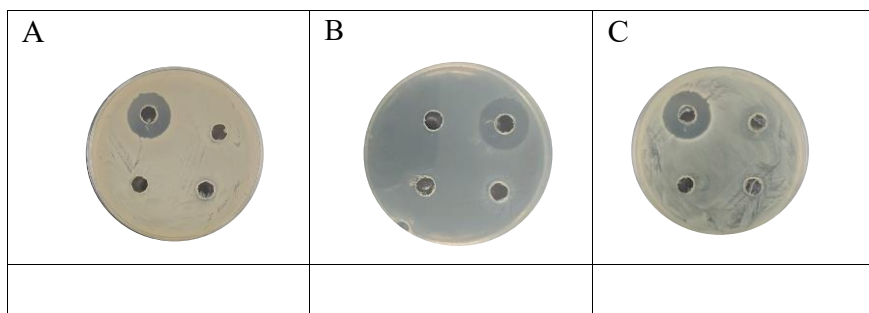
Nos primeiros 7 dias, os sobrenadantes das actinobactérias P401 e P402 inibiram o crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis*, enquanto o P1202 foi eficaz contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Após 14 dias, P401 e P402 mantiveram a atividade antimicrobiana, mas o P1201 não apresentou resultados. Além disso, P305, P1502 e P1001 mostraram ação contra *Candida krusei*. No 21º dia, nenhuma atividade antimicrobiana foi observada

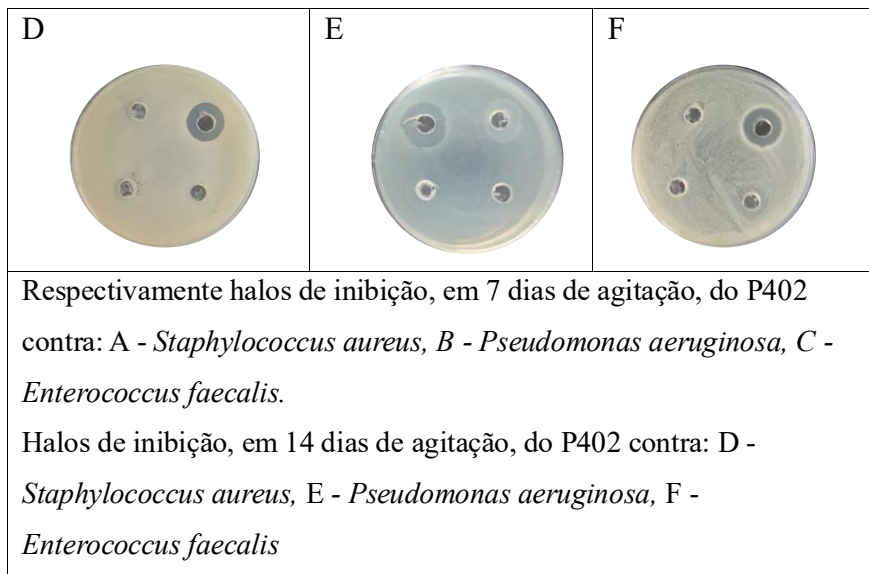
Figura 2: Registro fotográfico de halos de inibição do micro-organismo P401



Fonte: Autor, 2024

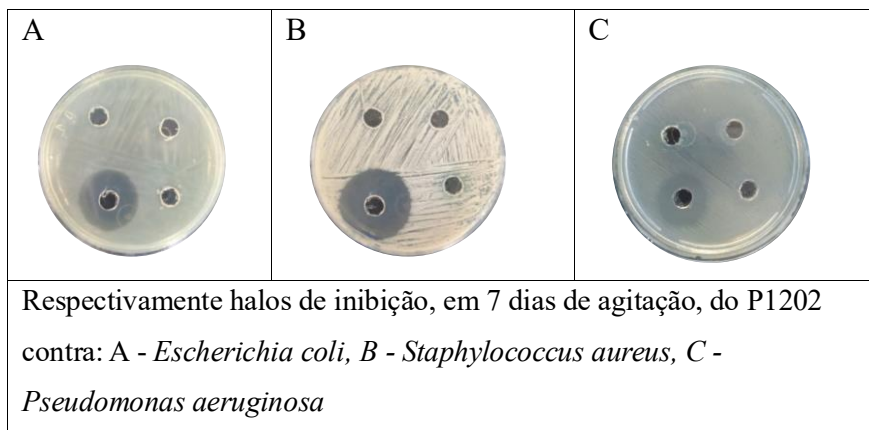
Figura 3: Registro fotográfico de halos de inibição do micro-organismo P402





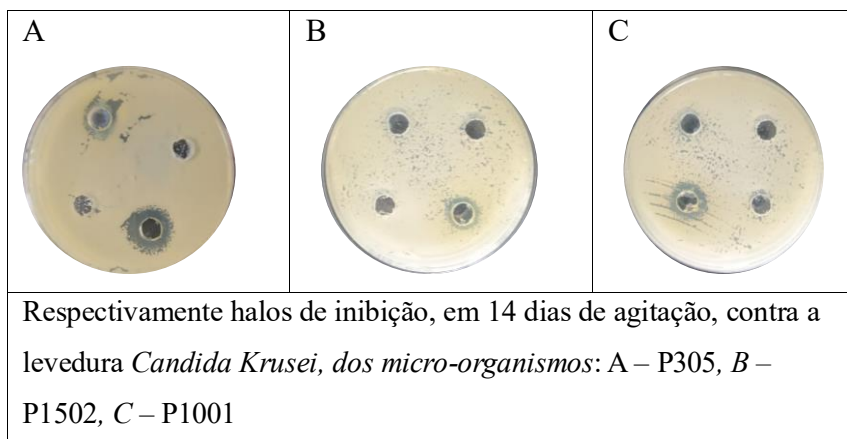
Fonte: Autor, 2024

Figura 4: Registro fotográfico de halos de inibição do micro-organismo P1202



Fonte: Autor, 2024

Figura 5: Registro fotográfico de halos de inibição do micro-organismos P305, P1502 e P1001

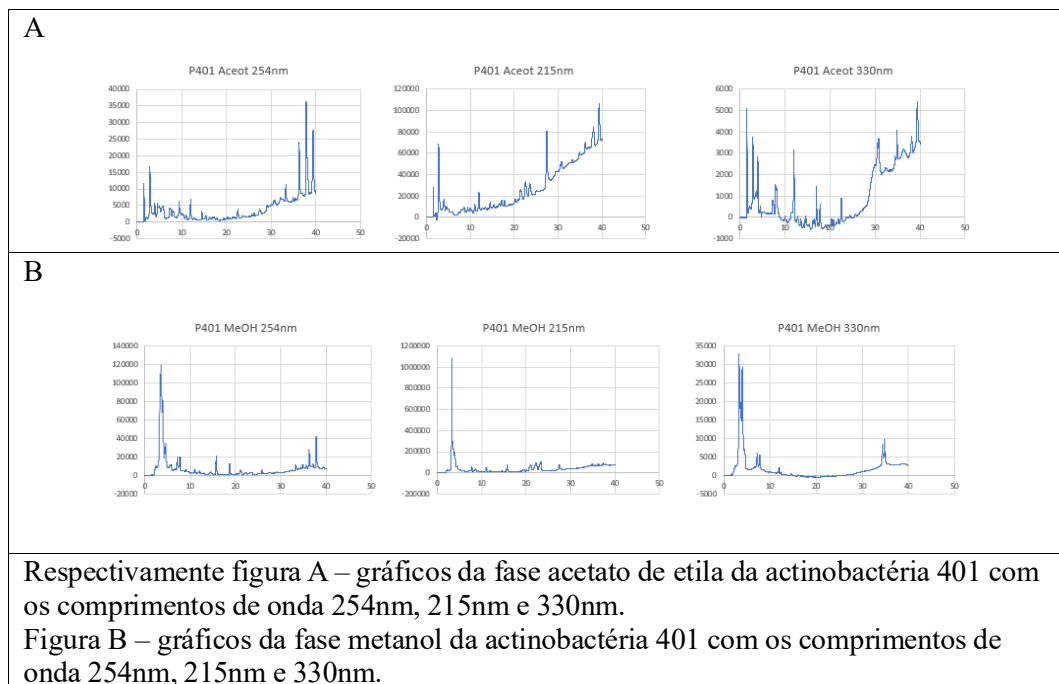


Fonte: Autor, 2024

Os resultados obtidos indicam que as actinobactérias P401, P402 e P1202 cultivados até 7 dias possuem uma tendência a apresentar atividade antimicrobiana contra bactérias Gram positivas e Gram negativas. Isto está diretamente relacionado as características climáticas, físicas, químicas e condições de competição existentes no ambiente em que estes microrganismos estão inseridos (ORTEGA-BASTIDAS, 2022). Após os 7 dias o P305, P1502 e 1001 obtiveram resultados não tão significativos quanto os demais, contudo, indica um potencial antimicrobiano crescente a ser explorado no intervalo de 7 e 14 dias, segundo Melo (2013) o meio de cultura pode influenciar na capacidade antimicrobiana da bactéria filamentosa, tendo em vista que este pode não dispor de nutrientes necessários para o melhor desenvolvimento do microrganismo.

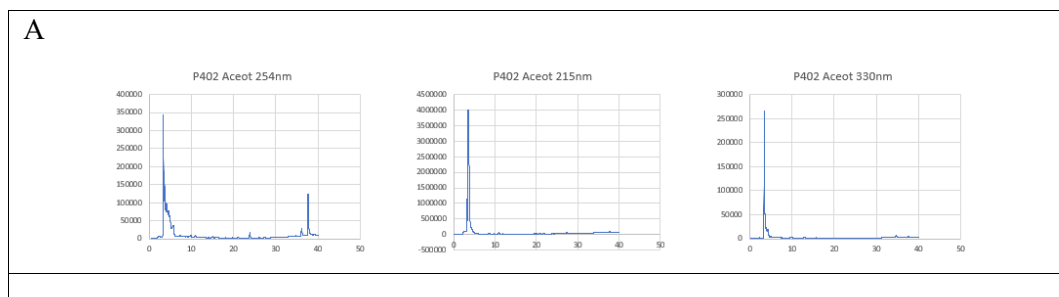
Foram obtidos dados cromatográficos com os comprimentos de onda 254nm, 215nm e 330nm das fases acetato de etila e metanol dos sobrenadantes liofilizados P401, P402 e P305.

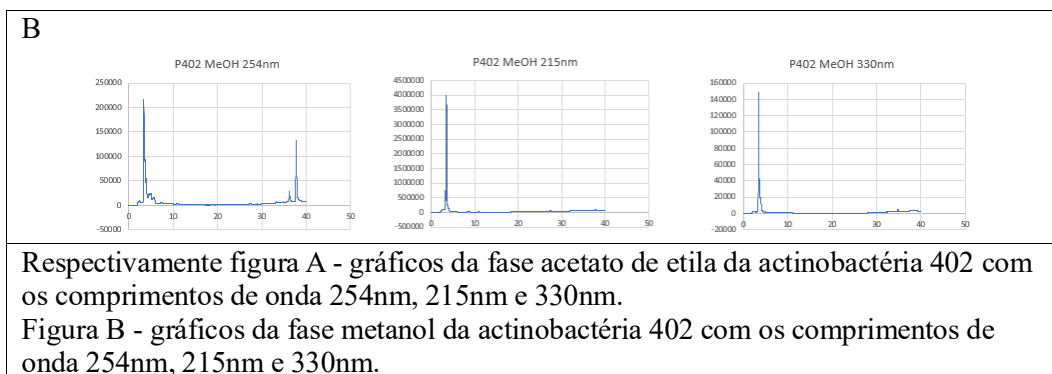
Figura 6: Gráficos das fases acetato de etila e metanol do microrganismo P401



Fonte: Autor, 2024

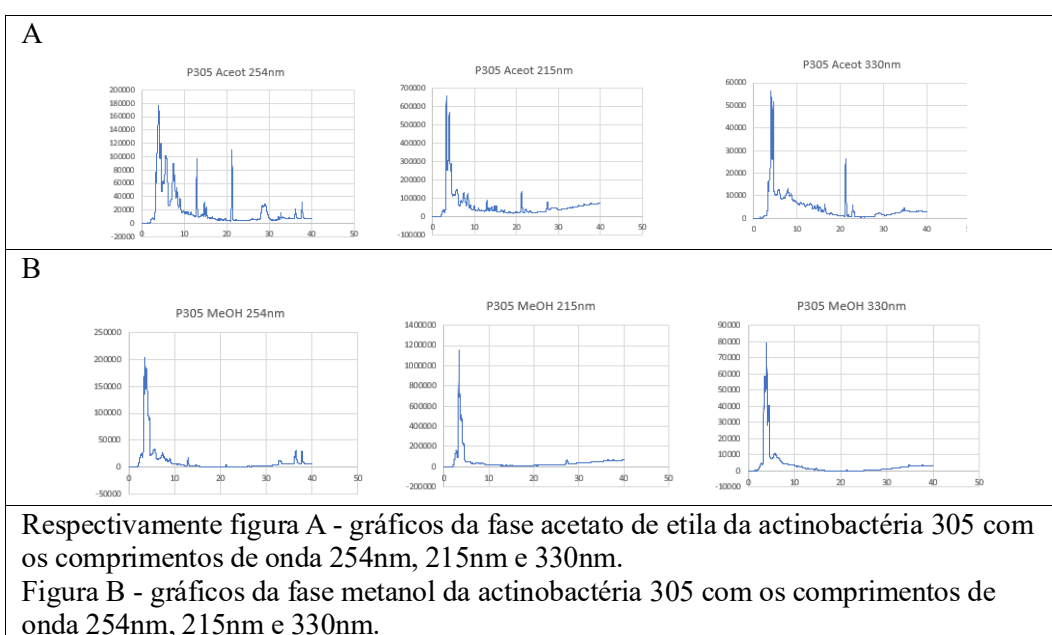
Figura 7: Gráficos das fases acetato de etila e metanol do microrganismo P402





Fonte: Autor, 2024

Figura 8: Gráficos das fases acetato de etila e metanol do microrganismo P305



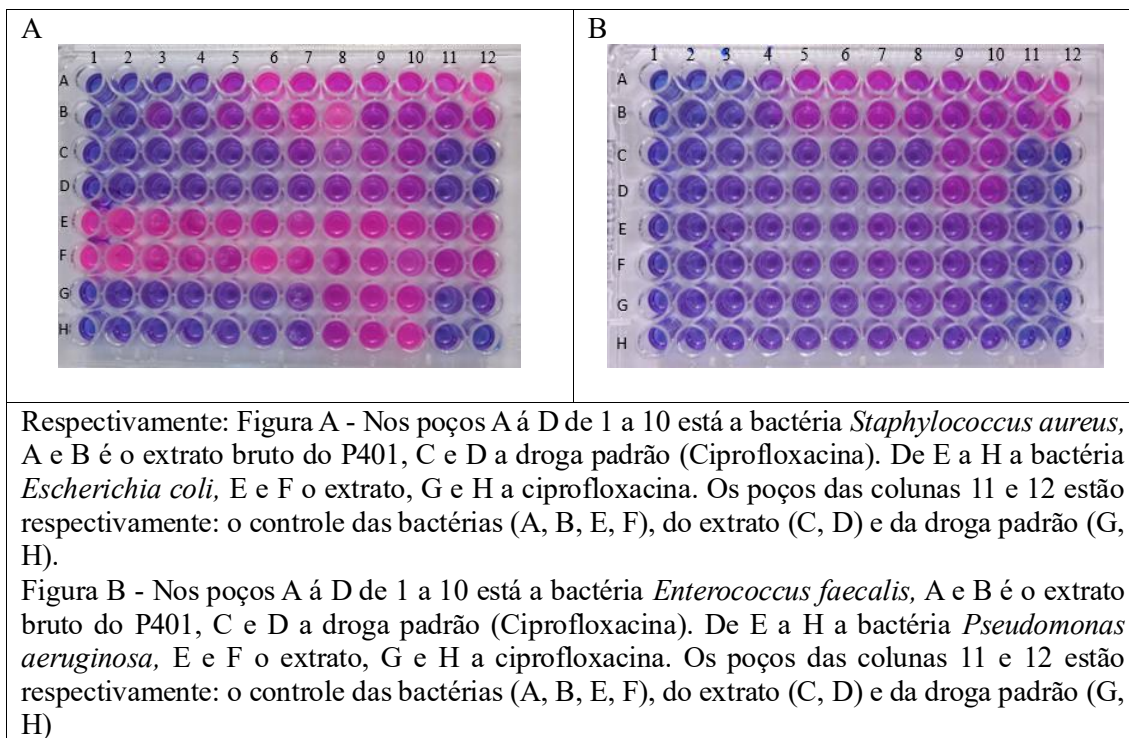
Fonte: Autor, 2024

As actinobactérias dos pontos de coleta P401 e P402 mostraram diferenças significativas na quantidade de picos do cromatograma, especialmente na fase acetato, onde o P401 apresentou mais compostos. Já o liofilizado P305 exibiu picos relevantes em 330 nm na fase acetato, contudo, não apresentou variações significativas na fase metanol, as realizações dos ensaios cromatográficos evidenciaram também condições externas, como a presença de meio de cultura na amostra, que prejudicaram a obtenção de dados mais fidedignos visando a purificação das substâncias, etapa está a ser realizada posteriormente.

Os testes para definir a Concentração Inibitória Mínima (CIM) com o extrato bruto, confirmaram o antagonismo feito após a coleta dos sedimentos de manguezal, o P401 e P402 apresentaram inibição contra as bactérias *Staphylococcus aureus* e

Enterococcus faecalis até o quarto poço, com a *Escherichia coli* não foi constatado atividade antimicrobiana e a *Pseudomonas aeruginosa* apresentou divergência evidenciando seu não crescimento e consequentemente a não conclusão inibitória.

Figura 9: Registro fotográfico da placa de 96 poços para verificação da concentração inibitória mínima do P401



Fonte: Autor, 2024

Figura 10: Registro fotográfico da placa de 96 poços para verificação da concentração inibitória mínima do P401

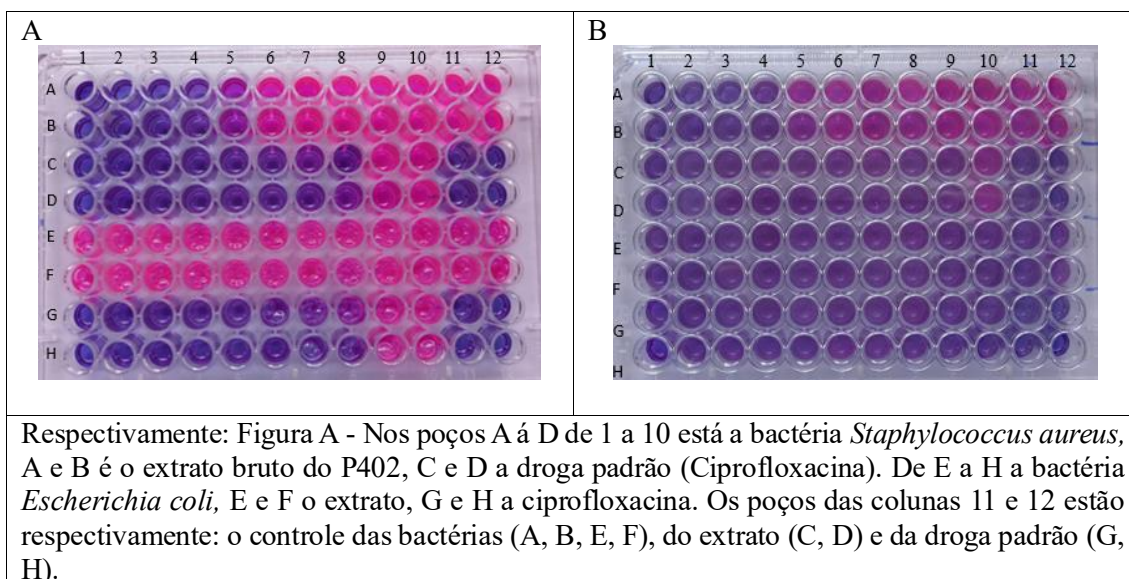


Figura B - Nos poços A á D de 1 a 10 está a bactéria *Enterococcus faecalis*, A e B é o extrato bruto do P402, C e D a droga padrão (Ciprofloxacina). De E a H a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, E e F o extrato, G e H a ciprofloxacina. Os poços das colunas 11 e 12 estão respectivamente: o controle das bactérias (A, B, E, F), do extrato (C, D) e da droga padrão (G, H)

Fonte: Autor, 2024

Os testes evidenciaram uma atividade antimicrobiana significativa das actinobactérias provenientes de sedimentos de manguezal, os seus metabolitos secundários de 7 a 14 dias são liberados de maneira mais acentuada para o meio de cultura tornando evidente a característica única desses microrganismos, como afirma Sahu et al (2023) Os metabólitos secundários dessas bactérias possuem características antibacterianas, antifúngicas e antivirais, o que os torna úteis no desenvolvimento de novos tratamentos que combatem uma variedade de patógenos.

Conclusão

Desse modo, os resultados mostram que estudar a variedade de actinobactérias e seus metabólitos exclusivos em manguezais oferece novas opções biotecnológicas e inventivas. Há uma demanda crescente por novos tratamentos porque falhas terapêuticas, assim como os antibióticos mais severos, podem causar efeitos colaterais graves devido à necessidade de doses mais altas tendo em vista à resistência adquirida por esses patógenos. Como resultado, nossos estudos indicam que a investigação de metabólitos produzidos por actinobactérias de manguezais pode ser uma opção atraente para o desenvolvimento de formulações eficazes contra microrganismos que são resistentes.

Agradecimentos

Colaboraram com a realização do projeto, Cristina de Andrade Monteiro (Professora Doutora do IFMA), GPPMi (Grupo de Pesquisa de Plantas e Microrganismos do IFMA-Monte Castelo), e LPBIOTEC (Laboratório de Pesquisa em Microbiologia, Bioprospecção e Biotecnologia do IFMA-Monte Castelo).

Referências

GEBREYOHANNES, G.; MOGES, F.; RAJA, N. Isolation and characterization of potential antibiotic producing actinomycetes from water and sediments of Lake Tana, Ethiopia. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 3, n. 6, p. 426-435, 2013.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE (ICMBio). Atlas dos Manguezais do Brasil. Brasília: ICMBio, 2020.

LEE, N.; HWANG, S.; KIM, J.; CHO, S.; PALSSON, B.; CHO, B.-K. Mini review: Genome mining approaches for the identification of secondary metabolite biosynthetic gene clusters in Streptomyces. **Comput. Struct. Biotechnol. J.** 18: 1548–1556, 2020.

ORTEGA-BASTIDAS, Luis Alberto et al. Actividad antibacteriana de actinobactérias frente a Escherichia coli y Staphylococcus aureus multirresistentes de origen hospitalario. **Universidad y Salud**, v. 24, n. 1, p. 85-94, 2022.

MELO, J. G. S. **Caracterização química e avaliação de atividade biológica dos metabólitos de actinobactéria endofítica isolada de Momordica charantia L.** 2013.112 f. tese (doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.