



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXVIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS **SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2024**

POTENCIAL ANTAGÔNICO DE LEVEDURAS DO SOLO DO SEMIÁRIDO BAIANO CONTRA BACTÉRIAS PATOGÊNICAS

**Patrícia Grazielle Nascimento Santos¹; Leonardo Matheus Pereira Aguiar²;
Manuely de Jesus Souza³; Hélio Mitoshi Kamida⁴; Raquel Guimarães Benevides⁵**

1. Bolsista– Modalidade Bolsa/PVIC, Graduanda em Bacharelado de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail:uni.biopat@gmail.com
2. Doutorando em Biotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, email: leontheus@gmail.com
3. Pós-graduanda em Biologia Celular, Universidade Estadual de Feira de Santana, email: manujsouza@gmail.com
4. Orientador, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: hmkamida@uefs.br
5. Co-orientadora, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: raquelgb@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: Fungos do solo; Antimicrobiano; Patógenos resistentes.

INTRODUÇÃO

A Caatinga, um bioma exclusivo do Brasil, abrange partes do Nordeste e norte de Minas Gerais, caracterizando-se por solos com vegetação irregular e baixa produtividade agrícola devido à escassez de chuvas. Apesar das condições adversas, a região abriga uma rica diversidade de microrganismos, incluindo leveduras endêmicas que ainda são pouco estudadas. Essas leveduras têm potencial para produzir metabólitos secundários bioativos, como as toxinas killer, que são relevantes na biotecnologia, especialmente no combate à resistência a antibióticos, pois podem inibir o crescimento de bactérias (Persel, 2017; Vieira et al., 2021). Entre os patógenos de interesse estão *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, relevantes na medicina hospitalar devido à sua resistência (Alós, 2015). O projeto tem como objetivo investigar a atividade antagônica das leveduras da Caatinga contra essas bactérias, buscando novas alternativas para enfrentar microrganismos resistentes e promovendo a valorização da pesquisa em regiões pouco exploradas.

MATERIAL E MÉTODOS OU METODOLOGIA (ou equivalente)

As leveduras do estudo foram coletadas pela Prof. Dra. Raquel Guimarães Benevides em fevereiro de 2020, em Riachão do Jacuípe, Bahia, resultando em 52 cepas, das quais 10 foram selecionadas para análise: P2LD32, P2WE1, P1NB1, P2LA1, P2NB1, P1SD1, P1SC1, P1NC1, P1WB2 e P1NB1. As cepas foram preservadas em ultrafreezer a -80°C em Caldo Sabouraud com 20% de glicerol. Para reativação, cada cepa foi inoculada em

caldo Yeast Peptone Glicose (YPG) a 27°C por 48 horas, seguindo a metodologia de Yurkov et al. (2015), com modificações. As bactérias *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 e *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 foram cedidas pela Fundação Oswaldo Cruz e cultivadas em caldo Brain Heart Infusion (BHI) por 24 horas a 37°C.

O teste de atividade antimicrobiana foi realizado pelo método de dupla camada adaptado de Martins et al. (2005). Após a inoculação em placas de ágar Sabouraud Dextrose e incubação, clorofórmio foi adicionado, seguido pela sobrecobertura com ágar BHI semi-sólido contendo a cultura bacteriana. Os testes foram realizados em triplicata, padronizando a densidade óptica a 0,5 na escala de MacFarland. A produção dos extratos, as leveduras foram cultivadas em caldo YPG e incubadas em ágar Sabouraud Dextrose a 27°C por 7 dias, após o que o material foi submerso em Acetato de Etila e filtrado (Rios, 2022). Por fim, a avaliação da atividade bacteriana do extrato foi realizada pelo método de difusão em ágar por disco, conforme Bona et al., (2014) e normas do CLSI (2022), utilizando discos embebidos em extratos e cloranfenicol como controle positivo. Os halos de inibição foram medidos após 24 horas de incubação a 36°C.

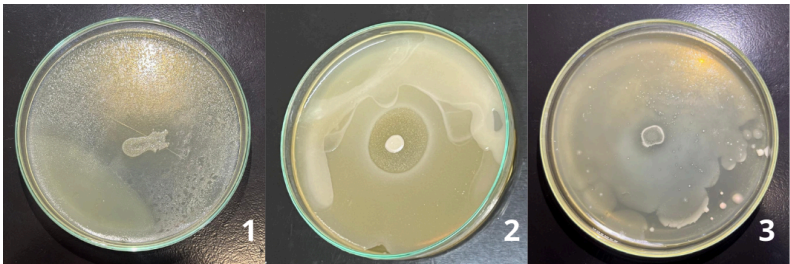
RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO (ou Análise e discussão dos resultados)

No teste de dupla camada, 50% das leveduras avaliadas mostraram halo de inibição, sendo 40% contra *Pseudomonas aeruginosa* e 10% contra *Staphylococcus aureus* (Tabela 1). Dentro das que inibiram a *Pseudomonas aeruginosa* têm-se a P1WB2 e P2WE1 cujos halos mediram em média 15 mm, P2LA1 com halo de 2 mm e P1NB1 com halo de 10 mm (Figura 1 e 2). A alta taxa de inibição observada contra esse patógeno é particularmente relevante e pode estar relacionada com a competição por nutrientes a qual pode ter levado as leveduras a produzirem toxinas killers (Fredlund *et al.*, 2002), cuja eficácia se mostrou maior frente a estrutura gram-negativa da bactéria. Por outro lado, apenas a levedura P1NC1 teve alguma atividade contra *Staphylococcus aureus*, bactéria gram-positiva, sem formação de halo (Figura 2), indicando possíveis mecanismos de resistência da bactéria, ligados a sua parede celular (Vieira et al., 2021).

Tabela 1: Atividade antimicrobiana das leveduras do solo da Caatinga, pelo método de dupla camada frente a duas cepas bacterianas, pela presença ou ausência de halo de inibição.

Patógenos testados	Leveduras				
	P1WB2	P2WE1	P2LA1	P1NB1	P1NC1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	+	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	+

Legenda: (+) = halo presente; (-) = halo ausente.



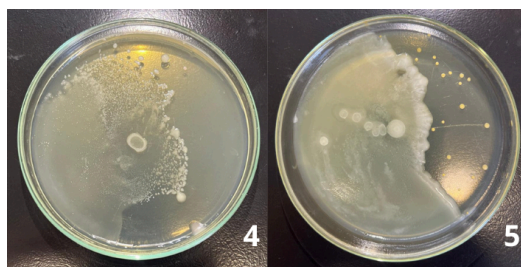


Figura 1: Teste de dupla camada das leveduras P1WB2 (1), P2WE1 (2), P2LA1 (3) e P1NB1 (4), frente a *Pseudomonas aeruginosa* e P1NC1 (5) frente a *Staphylococcus aureus*.
Fonte: Autora.

O teste de difusão em ágar mostrou que P2NB1 apresentou um halo de 6 mm contra *Staphylococcus aureus*, apesar de não ter demonstrado atividade no teste anterior. Essa discrepância pode ser atribuída ao fato de que muitos antimicrobianos, como os metabólitos secundários, requerem mais tempo de crescimento do que o previsto (Darabpour et al., 2012). A falta de atividade contra gram-negativas pode ser devido a enzimas no espaço periplasmático, que quebram moléculas estranhas (Cordeiro et al., 2022). Além disso, a metodologia e a concentração dos microrganismos podem ter influenciado os resultados, evidenciando a necessidade de mais estudos para entender as interações químicas e características dos extratos. A pesquisa sublinha a importância de explorar leveduras como fontes potenciais de agentes antimicrobianos (Bona et al., 2014).

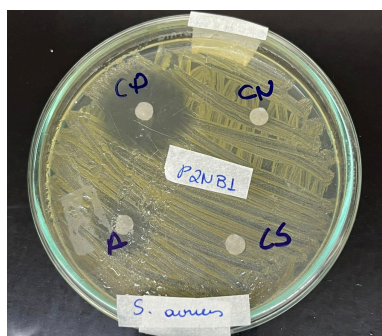


Figura 3: Teste de disco-difusão da levedura P2NB1 contra a *Staphylococcus aureus* com o halo de inibição de 6 mm no “A”.
Fonte: Autora

CONSIDERAÇÕES FINAIS (ou Conclusão)

O estudo investigou a atividade antimicrobiana de leveduras de solo contra *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, patógenos hospitalares resistentes a antibióticos. Nos testes de dupla camada, quatro isolados inibiram *Pseudomonas aeruginosa*, enquanto apenas um foi eficaz contra *Staphylococcus aureus*. Nos ensaios de difusão em ágar, apenas um extrato bruto, obtido com acetato de etila, mostrou atividade contra *Staphylococcus aureus*. Os resultados sugerem que a Caatinga é um bioma promissor para descobrir microrganismos que produzem substâncias bioativas antimicrobianas. O estudo destaca a necessidade de mais pesquisas com leveduras e outros microrganismos da Caatinga, além da caracterização das substâncias e exploração de extratos com

diferentes solventes para identificar novos compostos que ajudem a combater a resistência a medicamentos.

REFERÊNCIAS

ALÓS, J. I. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 2015.

BONA, E. A. M. D. et al. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 81, n. 3, p. 218–225, set. 2014.

CORDEIRO, S. et al. Estudo químico e atividade antibacteriana do extrato hidrometanólico do fungo de solo *Thichoderma* sp FSF12. *Research Society and Development*, v. 11, n. 8, p. e35411830852-e35411830852, 21 jun. 2022.

DARABPOUR, E. et al. Isolation of a potent antibiotic producer bacterium, especially against MRSA, from northern region of the Persian Gulf. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, v. 12, n. 2, p. 108, 2012.

MARTINS, FLAVIANO DOS SANTOS, BARBOSA, FLÁVIO HENRIQUE FERREIRA, PENNA, FRANCISCO JOSÉ, ROSA, CARLOS AUGUSTO, REGINA, MARIA DRUMMOND, MARIA JOSÉ NEVES, NICOLI, JACQUES ROBERT. Utilização de leveduras como probióticos. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, v. 5, n. 2, 2005a

PERSEL, C. Avaliação de micocinas livres e imobilizadas obtidas de *Wickerhamomyces anomalus* frente a coliformes fecais. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus Cascavel, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 53p, 2017.

RIOS, K. B. O. Bioprospecção de compostos com potencial antimicrobiano de leveduras do Semiárido baiano. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia - Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS, Março, 2022.

VIEIRA, J. et al. Ação antimicrobiana de micocinas produzidas por *Wickerhamomyces anomalus*: uma revisão / Antimicrobial action of mycocins produced by *Wickerhamomyces anomalus*: a review. *Brazilian Journal of Health Review*, v. 4, n. 3, p. 10019–10029, 8 maio 2021

Yurkov, A. M. (2018). Yeasts of the soil—obscure but precious. *Yeast*, 35(5), 369-378.