

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
ESCOLA NORMAL SUPERIOR - ENS
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**PERFIL DE RESISTÊNCIA E SENSIBILIDADE DE CEPAS COMERCIAIS
BACTERIANAS E FÚNGICAS UTILIZADAS EM ENSAIOS LABORATORIAIS DE
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**

VICTÓRIA CAROLINA SIQUEIRA MENA BARRETO

MANAUS - AM

2023

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
ESCOLA NORMAL SUPERIOR - ENS
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

VICTÓRIA CAROLINA SIQUEIRA MENA BARRETO

**PERFIL DE RESISTÊNCIA E SENSIBILIDADE DE CEPAS COMERCIAIS
BACTERIANAS E FÚNGICAS UTILIZADAS EM ENSAIOS LABORATORIAIS DE
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.**

Orientadora: Prof. Dra. Patrícia Melchionna Albuquerque
Co-orientadora: MSc. Raiana Silveira Gurgel

Monografia apresentada ao Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade do Estado do Amazonas - UEA como requisito para a obtenção do Título de Licenciado em Ciências Biológicas.

MANAUS - AM

2023

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Sistema Integrado de Bibliotecas da Universidade do Estado do Amazonas.

M534p p Mena Barreto, Victória Carolina Siqueira
Perfil de resistência e sensibilidade de cepas comerciais bacterianas e fúngicas utilizadas em ensaios laboratoriais de atividade antimicrobiana. / Victória Carolina Siqueira Mena Barreto. Manaus : [s.n], 2023.
79 f.: color.; 7 cm.

TCC - Graduação em Ciências Biológicas - Licenciatura
- Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2023.

Inclui bibliografia

Orientador: Patrícia Melchionna Albuquerque

Coorientador: Raiana Silveira Gurgel

1. resistência microbiana. 2. antimicrobianos. 3. microrganismos. I. Patrícia Melchionna Albuquerque (Orient.). II. Raiana Silveira Gurgel (Coorient.). III. Universidade do Estado do Amazonas. IV. Perfil de resistência e sensibilidade de cepas comerciais bacterianas e fúngicas utilizadas em ensaios laboratoriais de atividade antimicrobiana.


VICTÓRIA CAROLINA SIQUEIRA MENA BARRETO

**PERFIL DE RESISTÊNCIA E SENSIBILIDADE DE CEPAS COMERCIAIS
BACTERIANAS E FÚNGICAS UTILIZADAS EM ENSAIOS LABORATORIAIS DE
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.**

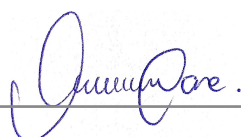
Monografia apresentada ao Curso de
Licenciatura em Ciências Biológicas da
Universidade do Estado do Amazonas -
UEA como requisito para a obtenção
do Título de Licenciado em Ciências
Biológicas.

Manaus, 03 de Março de 2023.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Rudi Emerson de Lima Procópio
Universidade do Estado do Amazonas



Prof. MSc. Cleudiane Pereira de Andrade
Universidade do Estado do Amazonas

RESUMO

Os microrganismos são seres microscópicos e, portanto, não podem ser vistos a olho nu. Bactérias, fungos, vírus, algas microscópicas e protozoários desempenham um papel fundamental na vida do planeta, visto que atuam na ciclagem de nutrientes na atmosfera, além de produzirem compostos orgânicos de importância biotecnológica. Contudo, muitos microrganismos atuam como patógenos humanos e de animais causando danos à saúde da população e prejuízos econômicos. Dessa forma, compostos antimicrobianos vêm sendo utilizados para combater doenças causadas por estes patógenos, sendo que cada espécie microbiana responde de forma diferente a estas substâncias e cada vez mais observam-se cepas resistentes aos fármacos atualmente disponíveis. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo analisar o perfil de resistência e de sensibilidade de cepas bacterianas e fúngicas comerciais utilizadas em testes laboratoriais na presença de substâncias antimicrobianas adquiridas comercialmente. Ademais, avaliou-se a atividade antimicrobiana de metabólitos de fungos endofíticos isolados de plantas Amazônicas contra as cepas que se mostraram resistentes aos antimicrobianos adquiridos comercialmente. Foi utilizada a metodologia de difusão em ágar para verificar o perfil de resistência e de sensibilidade de cepas comerciais bacterianas e fúngicas contra diferentes antimicrobianos comerciais. Fungos endofíticos depositados na Central de Coleções Microbiológicas da UEA foram cultivados em meio líquido para produção de metabólitos. Após separação do micélio, o meio líquido foi extraído com acetato de etila. Os extratos fúngicos foram utilizados em ensaios de atividade antimicrobiana contra as cepas padrão que se mostraram resistentes a pelo menos três dos antimicrobianos comerciais. No estudo foram observadas que três bactérias patogênicas (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*) e dois fungos patogênicos (*Candida albicans* e *Candida tropicalis*) se mostraram resistentes frente aos fármacos comerciais. Os testes realizados com os extratos de fungos endofíticos isolados de plantas amazônicas *Aspergillus niger* MgF2, *Phyllosticta fallopiae* Ag2-5, *Fusarium continuum* Ag4-5B, *Alternaria sp.* C26, *Aspergillus niger* MgRE231 e *Piper hispidum* Ph174 não apresentaram atividade na inibição do crescimento das cepas comerciais resistentes. Com este trabalho foi possível conhecer o perfil de resistência e sensibilidade das cepas padrão utilizadas em ensaios de atividade antimicrobiana frente a antimicrobianos comerciais.

Palavras-chave: resistência microbiana, antimicrobianos, microrganismos.

ABSTRACT

Microorganisms are microscopic beings and therefore cannot be seen with the naked eye. Bacteria, fungi, viruses, microscopic algae, and protozoa play a fundamental role in the life of the planet, since they act in the cycling of nutrients in the atmosphere, besides producing organic compounds of biotechnological importance. However, many microorganisms act as human and animal pathogens causing damage to the health of the population and economic losses. Thus, antimicrobial compounds have been used to combat diseases caused by these pathogens, but each microbial species responds differently to these substances, and increasingly resistant strains to currently available drugs have been observed. In this context, the present study aimed to analyze the resistance and sensitivity profile of commercial bacterial and fungal strains used in laboratory tests in the presence of commercially purchased antimicrobial substances. In addition, the antimicrobial activity of endophytic fungal metabolites isolated from Amazonian plants was evaluated against the strains that were resistant to commercial antimicrobials. Agar diffusion methodology was used to check the resistance and sensitivity profile of commercial bacterial and fungal strains against different commercial antimicrobials. Endophytic fungi deposited at the Microbiological Collection Center of UEA were cultivated in a liquid medium for metabolite production. After mycelium separation, the liquid medium was extracted with ethyl acetate. The fungal extracts were used in antimicrobial activity assays against the standard strains that proved to be resistant to at least three of the commercial antimicrobials. It was possible to observe that three pathogenic bacteria (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*) and two pathogenic fungi (*Candida albicans* and *Candida tropicalis*) showed to be resistant against commercial drugs. The other microorganisms The tests with the extracts of endophytic fungi isolated from Amazonian plants *Aspergillus niger* MgF2, *Phyllosticta fallopiae* Ag2-5, *Fusarium continuum* Ag4-5B, *Alternaria* sp. C26, *Aspergillus niger* MgRE231, and *Piper hispidum* Ph174 did not show activity to inhibit the growth of the commercial-resistant strains. In our study, it was possible to know the resistance and sensitivity profile of the standard strains used in antimicrobial activity tests against commercial antimicrobials.

Keywords: microbial resistance, antimicrobials, microorganisms.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Escherichia coli</i> em ágar EMB.....	15
Figura 2 - <i>Salmonella enterica</i> em ágar sangue.....	16
Figura 3 - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> em ágar sangue.....	17
Figura 4 - <i>Proteus mirabilis</i> em ágar Drigalski.....	18
Figura 5 - <i>Serratia marcescens</i> em Ágar CLED.....	19
Figura 6 - <i>Staphylococcus aureus</i> em Ágar de Baird-Parker.....	20
Figura 7 - <i>Staphylococcus epidermidis</i> em ágar sal manitol.....	21
Figura 8 - <i>Streptococcus pneumoniae</i> em Ágar Sangue.....	22
Figura 9 - <i>Enterococcus faecalis</i> em ágar sangue.....	22
Figura 10 - <i>Streptococcus mutans</i> em Ágar MSB.....	23
Figura 11 - Levedura <i>Candida albicans</i>	24
Figura 12 - Levedura <i>Candida tropicalis</i>	25
Figura 13 - Levedura <i>Candida parapsilosis</i>	26
Figura 14 - <i>Aspergillus brasiliensis</i>	27
Figura 15 - Antifúngicos comerciais utilizados nos antibiogramas.....	34
Figura 16 - Fungos endofíticos isolados de plantas Amazônicas.....	36
Figura 17 - Crescimento de fungos endofíticos isolados de plantas Amazônicas para obtenção dos metabólitos.....	37
Figura 18 - Rotaevaporação do solvente acetato de etila para obtenção do extrato seco.....	38
Figura 19 - Reativação das cepas bacterianas comerciais.....	39
Figura 20 - Reativação das cepas fúngicas comerciais.....	40
Figura 21 - Coloração de Gram das cepas bacterianas comerciais.....	41

Figura 22 - Testes com antifúngicos comerciais frente à <i>Candida tropicalis</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Candida parapsilosis</i> e <i>Aspergillus brasiliensis</i>	57
Figura 23 - Extratos de fungos endofíticos isolados de Plantas Amazônicas.....	58
Figura 24 - Teste de atividade antimicrobiana dos extratos de fungos endofíticos frente às cepas bacterianas comerciais resistentes.....	59
Figura 25 - Teste de atividade antimicrobiana dos extratos de fungos endofíticos frente às cepas fúngicas comerciais resistentes. A = <i>Candida albicans</i> ; B = <i>Candida tropicalis</i>	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Quadro de resistência intrínseca em bactérias frente a diferentes antibióticos comerciais.....	28
Tabela 2 - Antimicrobianos comerciais utilizados e seus respectivos códigos.....	31
Tabela 3 - Resultados do antibiograma realizado para a bactéria <i>Escherichia coli</i>	41
Tabela 4 - Resultados do antibiograma realizado para a bactéria <i>Staphylococcus aureus</i>	43
Tabela 5 - Resultados do antibiograma realizado para a bactéria <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	45
Tabela 6 - Resultados do antibiograma realizado para a bactéria <i>Salmonella enterica</i>	46
Tabela 7 - Resultados do antibiograma realizado para a bactéria <i>Proteus mirabilis</i>	48
Tabela 8 - Resultados do antibiograma realizado para a bactéria <i>Serratia marcescens</i>	49
Tabela 9 - Resultados do antibiograma realizado para a bactéria <i>Enterococcus faecalis</i>	51
Tabela 10 - Resultados do antibiograma realizado para a bactéria <i>Streptococcus mutans</i>	53
Tabela 11 - Resultados do antibiograma realizado para a bactéria <i>Staphylococcus epidermidis</i>	54
Tabela 12 - Rendimento dos extratos de fungos endofíticos isolados de plantas amazônicas.....	57

LISTA DE ABREVIACOES

BDA - gar Batata Dextrose

CCM – Central de Coleoes Microbiológicas da UEA

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute

CVC - Cateter Venoso Central

EMB - Eosin Methylene Blue

ENS - Escola Normal Superior

EST - Escola Superior de Tecnologia

FAPEAM - Fundaao de Amparo  Pesquisa do Estado do Amazonas

FIOCRUZ - Fundaao Oswaldo Cruz

MRSA - *Staphylococcus aureus* resistente  Meticilina

QAT - Qumica Aplicada  Tecnologia

TSA - Agar Tryptic Soy

UEA - Universidade do Estado do Amazonas

UFC - Unidade Formadora de Colônia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL.....	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
3. REVISÃO DA LITERATURA	14
3.1 BACTÉRIAS.....	14
3.1.1 <i>Escherichia coli</i>	15
3.1.2 <i>Salmonella enterica</i>	16
3.1.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17
3.1.4 <i>Proteus mirabilis</i>	17
3.1.5 <i>Serratia marcescens</i>	18
3.1.6 <i>Staphylococcus aureus</i>	19
3.1.7 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	20
3.1.8 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	21
3.1.9 <i>Enterococcus faecalis</i>	21
3.1.10 <i>Streptococcus mutans</i>	22
3.2 FUNGOS.....	23
3.2.1 <i>Candida albicans</i>	24
3.2.2 <i>Candida tropicalis</i>	24
3.2.3 <i>Candida parapsilosis</i>	25
3.2.4 <i>Aspergillus brasiliensis</i>	26
3.3 ANTIBIÓTICOS.....	27
3.4 RESISTÊNCIA MICROBIANA.....	28
3.5 FUNGOS ENDOFÍTICOS E A PRODUÇÃO DE COMPOSTOS ANTIMICROBIANOS.....	30
4. MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1 LOCAL DE EXECUÇÃO.....	32
4.2 CEPAS COMERCIAIS.....	32
4.3 ANTIMICROBIANOS COMERCIAIS.....	32
4.4 COLORAÇÃO DE GRAM.....	34
4.5 ENSAIOS ANTIMICROBIANOS.....	35

4.6 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS.....	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
5.1 REATIVAÇÃO DAS CEPAS PADRÃO.....	38
5.2 COLORAÇÃO DE GRAM.....	40
5.3 ENSAIOS ANTIBACTERIAIS.....	43
5.3.1 <i>Escherichia coli</i>	43
5.3.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	45
5.3.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	47
5.3.4 <i>Salmonella enterica</i>	48
5.3.5 <i>Proteus mirabilis</i>	50
5.3.6 <i>Serratia marcescens</i>	51
5.3.7 <i>Enterococcus faecalis</i>	53
5.3.8 <i>Streptococcus mutans</i>	54
5.3.9 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	56
5.4 ENSAIOS ANTIFÚNGICOS.....	58
5.5 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS.....	56
5.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS CONTRA CEPAS RESISTENTES.....	57
6 CONCLUSÕES.....	62
REFERÊNCIAS.....	63

1 INTRODUÇÃO

Os microrganismos desempenham um papel fundamental na manutenção da vida na Terra e nas atividades humanas. Apesar de serem microscópicos, constituem uma grande massa de matéria viva no Planeta, pois realizam atividades metabólicas que beneficiam outros organismos vivos e, por isso, teorias indicam que sem a existência de microrganismos, outras formas de vida não seriam possíveis (MADIGAN et al., 2010).

A associação dos microrganismos apenas a doenças infecciosas causadas por eles, à deterioração de alimentos e doenças mais agressivas geradas em humanos, como a AIDS, é comum. No entanto, é essencial dizer que esses seres são fundamentais no auxílio da manutenção do equilíbrio da vida na Terra e no meio ambiente, bem como microrganismos marinhos e de água doce que compõem o topo da cadeia alimentar produzindo energia e fornecendo aos consumidores. Além destes, há também, microrganismos presentes no solo, os quais possuem habilidade de degradar matéria orgânica favorecendo a ciclagem de nutrientes do ar, solo e da água (TORTORA et al., 2017).

Contudo, ainda que esses microrganismos possuam funções metabólicas benéficas para o meio ambiente, outros mecanismos causam prejuízos à saúde humana como a resistência microbiana que ocorre pela capacidade dos microrganismos, como bactérias, fungos, parasitas e outros agentes etiológicos, de resistirem à ação dos antibióticos, levando a uma ação reduzida ou à ineficiência dos medicamentos na prevenção e cura de doenças, originando novas doenças e elevando o número de mortes causadas por esses patógenos (ANVISA, 2020). Os testes de resistência e sensibilidade bacteriana frente a determinados antibióticos são de extrema relevância do ponto de vista biotecnológico, dado a possibilidade de avaliação das concentrações de antimicrobianos necessários para inibir o crescimento do agente microbiano, minimizando danos ao hospedeiro, além de contribuir para o controle de doenças altamente infecciosas (TRICHES, 2019).

Considerando o problema de saúde pública que decorre da resistência microbiana, torna-se necessária a busca por novas moléculas com atividade antimicrobiana, que sejam capazes de atuar sobre os patógenos resistentes. Nesse contexto, há um grupo de microrganismos que vêm se destacando na produção de substâncias ativas, inclusive antimicrobianos, que são os microrganismos endofíticos.

Bactérias e fungos atuam como endófitos na colonização do interior de plantas numa interação benéfica com a planta hospedeira. Esses microrganismos apresentam a biossíntese de compostos orgânicos, denominados metabólitos primários e secundários (SILVA, 2014).

Os metabólitos primários estão inteiramente ligados à manutenção das funções vitais do microrganismo e os metabólitos secundários estão relacionados à produção de compostos bioativos responsáveis pela adaptação e sobrevivência dos microrganismos (SILVA, 2014; ZHANG et al., 2019).

A diversidade de metabólitos secundários produzidos por fungos endofíticos resulta numa grande quantidade de compostos bioativos, como antibacterianos, antifúngicos, antioxidantes e citotóxicos, apresentando grande relevância para a indústria farmacêutica e médico-hospitalar. Os bioativos podem ser de classes químicas distintas como, por exemplo, flavonóides, alcaloides e terpenos, sendo fundamentais como produtos biotecnológicos (PAMPHILE et al., 2017).

Sendo assim, neste estudo foram testados os perfis de resistência e sensibilidade de cepas comerciais bacterianas e fúngicas utilizadas em ensaios laboratoriais de detecção de atividade antimicrobiana do grupo de pesquisa Química Aplicada à Tecnologia da Escola Superior de Tecnologia da UEA. As cepas que se mostraram resistentes aos antimicrobianos comerciais foram avaliadas frente aos metabólitos produzidos por fungos endofíticos isolados de plantas amazônicas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar o perfil de resistência e de sensibilidade de cepas bacterianas e fúngicas comerciais utilizadas em testes laboratoriais frente à antimicrobianos adquiridos comercialmente.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar o perfil de resistência e de sensibilidade de bactérias padrão utilizadas em testes laboratoriais antimicrobianos;
- Determinar o perfil de resistência e de sensibilidade de fungos padrão utilizados em testes laboratoriais antimicrobianos;
- Avaliar a atividade antimicrobiana de metabólitos de fungos endofíticos isolados de plantas Amazônicas frente às cepas que se mostraram resistentes ao maior número de antimicrobianos adquiridos comercialmente.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 BACTÉRIAS

As bactérias são microrganismos de estrutura simples, apresentando uma única célula e, por esta razão, são classificados como unicelulares. Pela ausência de um envoltório nuclear, seu material genético fica disperso no citoplasma da célula bacteriana, assim, caracterizando-se como procariota (TORTORA et al., 2017). Muitas espécies podem agir como patógenos em humanos e animais, contudo, há espécies inofensivas, capazes de produzirem nutrientes e conferir proteção contra patógenos (SANTOS, 2004).

As bactérias também são capazes de produzir biofilmes, um fator importante para a patogenicidade desses microrganismos, dado que podem apresentar-se na natureza ligadas umas às outras em uma superfície sólida. Essa característica é prejudicial quando são formadas em equipamentos médicos pois podem causar infecções de difícil tratamento como as endocardites, uma vez que conferem uma barreira protetora contra a ação antimicrobiana (TORTORA, 2017).

As bactérias podem ser identificadas a partir de diversas metodologias, dentre elas está a coloração de Gram, descrita em 1884 e, divididas em dois grupos: Gram-positivas e Gram-negativas. Esse processo é fundamental para a sistemática bacteriana, visto que as bactérias gram-positivas quando tratadas com violeta e lugol apresentam uma forte retenção do composto, dificultando sua retirada quando submetida ao tratamento com álcool. O contrário ocorre nas Gram-negativas, o composto utilizado é facilmente removido quando entra em contato com o álcool. Após o tratamento com o álcool, é realizada uma nova coloração utilizando-se safranina ou fucsina de Ziehl, diluída a 0,1%. Nessa etapa, as bactérias Gram-negativas aparecem com uma coloração avermelhada, já as Gram-positivas permanecem roxas (MOLINARO et al., 2009).

A diferença na composição da parede celular dessas bactérias é responsável pela diferença na coloração, dado que a estrutura da parede celular das bactérias Gram-positivas apresenta uma quantidade maior de lipídios e estes estão fortemente ligados. Nas Gram-negativas a parede celular apresenta uma porcentagem menor de peptidoglicano, sendo mais fina, e em sua composição estão presentes quantidades maiores de aminoácidos e de lipídeos. Algumas bactérias chamadas micoplasmas não apresentam parede celular em sua estrutura e, por isso, não podem ser coloradas pelo método de gram e, por fim, acabam

mostrando-se resistentes aos antibióticos, visto que muitos antibióticos são desenvolvidos tendo como alvo a parede celular bacteriana (MOLINARO et al., 2009).

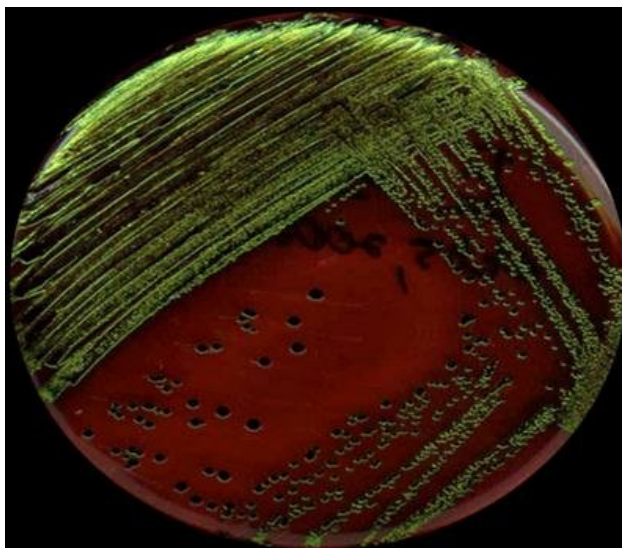
Outra metodologia utilizada na identificação de bactérias é o teste da oxidação/fermentação da glicose na qual baseia-se na identificação de bactérias que usam a glicose na presença ou na ausência de oxigênio, obtendo-se a produção de ácido, resultante do processo de metabolização da glicose (OLIVEIRA, 2000).

Entre as bactérias causadoras de doenças em humanos, consideradas pela OMS (Organização Mundial da Saúde) como microrganismos de alto risco estão *Enterococcus faecium*, *Salmonella sp.* e *Staphylococcus aureus* (VAIANO, 2020). Estas espécies serão descritas a seguir, assim como as demais espécies bacterianas avaliadas no presente estudo.

3.1.1 *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* é uma bactéria Gram-negativa, pertencente à família das Enterobactérias (Figura 1). Sua distribuição na natureza é ampla, tendo como principal habitat o intestino humano e animal (WINN et al., 2008; MORATO et al., 2009; MOURA, 2009).

Figura 1 - *Escherichia coli* em ágar EMB.



Fonte: (KAMEL et. al., 2015)

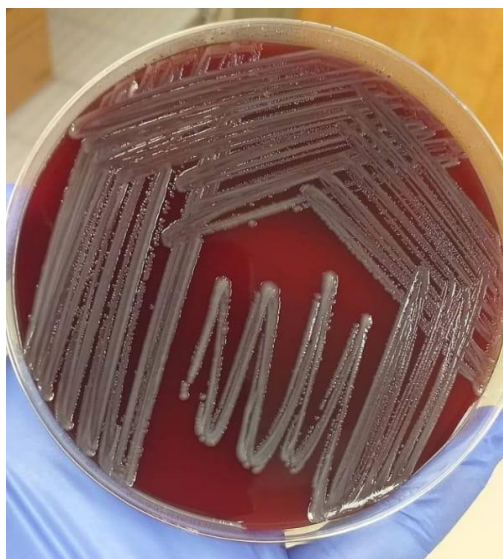
A *E. coli* comensal não é um microrganismo patogênico, ao contrário, é um importante regulador da microbiota intestinal. Contudo, há outras categorias para a espécie *E. coli*, dado que são causadoras de infecção intestinal e doenças no trato urinário do homem e

em animais, sendo elas: diarreio gênicas, enteropatogênicas (EPEC), enteroinvasoras (EIEC), enterohemorrágicas (EHEC), produtoras da toxina de Shiga (STEC), enteroagregativas (EAEC) e aderentes difusas (DAEC) (NATARO et al., 1998; TENG et al., 2004; NGUYEN et al., 2005).

3.1.2 *Salmonella enterica*

A espécie bacteriana *Salmonella enterica* faz parte da família Enterobacteriaceae e pertence ao grupo dos microrganismos gram-negativos (Figura 2). Possui forma de bacilos flagelados que podem medir entre 1 e 2 μm e são responsáveis por doenças originadas a partir da ingestão de alimentos contaminados (FORSYTHE, 2013).

Figura 2 - *Salmonella enterica* em ágar sangue.



Fonte: Microbiology Bahamas

S. enterica é uma espécie anaeróbia facultativa, a qual faz do intestino humano e animal seu habitat. Apesar de viver no trato intestinal de humanos, o consumo de salsichas, ovos e frangos, quando fabricados sem higienização adequada, pode causar dor abdominal, diarreia, vômito, desidratação, febre, dores de cabeça e exaustão, em função da presença dessa bactéria. Além de estarem presentes em alimentos contaminados, essa espécie pode também estar presentes na água, no solo, em verduras e hortaliças contaminadas com fezes, carnes bovina e suína (SHINOHARA et al., 2008; FERREIRA et al., 2013).

3.1.3 *Pseudomonas aeruginosa*

A *Pseudomonas aeruginosa* (Figura 3) possui como característica a não-fermentação de glicose, é um bacilo Gram-negativo aeróbio e que pode estar presente em diversos ambientes (FIGUEIREDO et al., 2021). Esta espécie é um dos principais agentes causadores de infecções hospitalares no Brasil, apresentando uma ampla expressão de resistência a antimicrobianos, tornando mais difícil o tratamento da doença (NEVES et al., 2011).

Figura 3 - *Pseudomonas aeruginosa* em ágar sangue.



Fonte: Página Microbiologia Aplicada

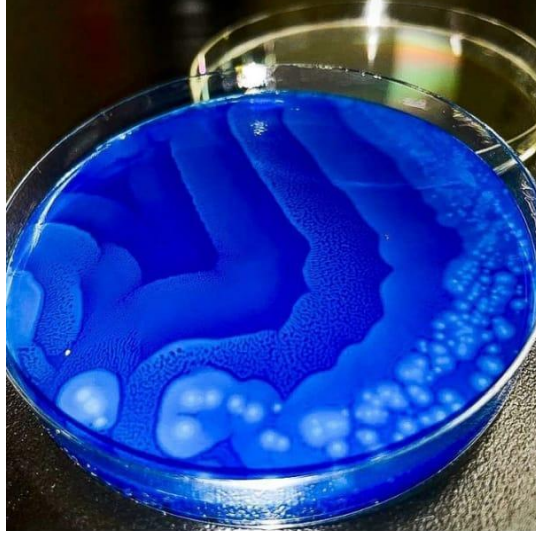
3.1.4 *Proteus mirabilis*

A bactéria gram-negativa *Proteus mirabilis* pertence à família das Enterobacteriaceae (Figura 4). São patógenos oportunistas de animais e humanos. Comumente pode ser encontrada na água, solo, alimentos, vegetais, flora intestinal de humanos e animais, utensílios de uso comum e em ferramentas cirúrgicas (QUINN et al., 2011).

P. mirabilis é uma das principais bactérias causadoras de infecções no trato urinário humano, essencialmente quando associados ao uso de cateteres hospitalares, representando 40% das infecções hospitalares no mundo, gerando um custo elevado para os sistemas de saúde pública (FONSECA, 2016). Apresenta flagelos em sua estrutura e em vista disso,

quando cultivada em meio sólido, a movimentação dos flagelos na superfície do meio de cultivo gera a aparência de “véu” (COKER et al., 2000).

Figura 4 - *Proteus mirabilis* em ágar Drigalski.

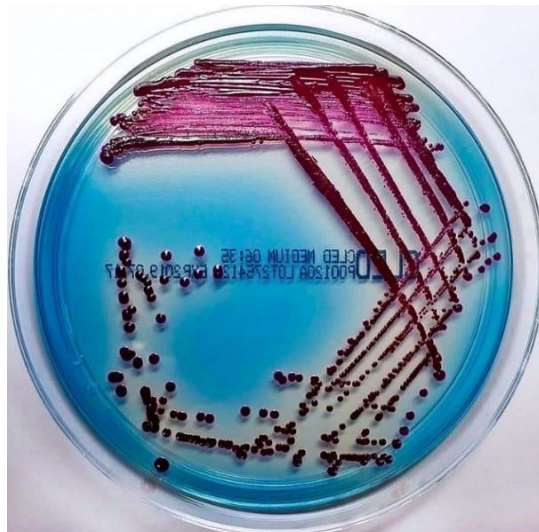


Fonte: Página Microbiologia Aplicada

3.1.5 *Serratia marcescens*

A espécie *Serratia marcescens* (Figura 5) é muito peculiar devido os indivíduos possuírem a capacidade de produzirem pigmentos de coloração vermelha (TORTORA, 2017).

Figura 5 - *Serratia marcescens* em Ágar CLED.



Fonte: Página Microbiologia Aplicada

Essa espécie é comumente encontrada em hospitais contaminando materiais hospitalares como os cateteres, soluções salinas de irrigação e soluções estéreis. Causa uma grande diversidade de infecções que acometem humanos, principalmente em hospitais, como as infecções urinárias e respiratórias (TORTORA, 2017).

3.1.6 *Staphylococcus aureus*

A *Staphylococcus aureus* é uma bactéria Gram-positiva de formato esférico, comumente chamada de coco (Figura 6). Essa bactéria pode ser encontrada comumente em regiões como as fossas nasais e superfície da pele de pessoas saudáveis. Apesar de fazerem parte da microbiota natural dos humanos, podem provocar infecções que podem variar de simples, como espinhas, furúnculos e celulites, a graves como, pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico e septicemia (SANTOS et al., 2007).

Figura 6- *Staphylococcus aureus* em Ágar de Baird-Parker.



Fonte: Página Microbiologia Aplicada

O tratamento inicial para doenças causadas por *S. aureus* era realizado por meio do uso do antibiótico penicilina, o qual atuou de forma eficaz no combate às infecções geradas pelo microrganismo. O uso do medicamento foi feito até a década de 1960 dado ao surgimento de uma nova cepa de *S. aureus*, a qual mostrou-se resistente à forma de ação do antibiótico. A primeira tentativa de solucionar o problema da resistência microbiana, foi por meio do desenvolvimento do beta-lactâmico sintético meticilina. Contudo, logo foram

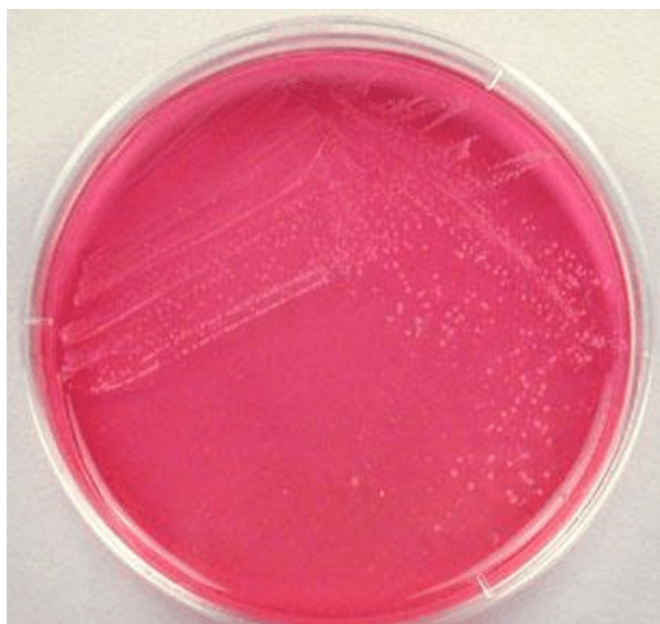
observados o surgimento de cepas resistentes a esse antibiótico. Essas cepas foram intituladas MRSA, *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (GELATTI, et al., 2009).

Atualmente novos estudos foram realizados e é de conhecimento na comunidade científica que as cepas de *S. aureus* são resistentes a todos os β -lactâmicos, pois desenvolveram um mecanismo de resistência que gera a clivagem de anéis β -lactâmicos presentes das moléculas de penicilinas e cefalosporinas (CUSSOLIM, 2021).

3.1.7 *Staphylococcus epidermidis*

A *Staphylococcus epidermidis* é uma bactéria comensal, presente na superfície da pele humana, pertencente ao grupo das gram-positivas (Figura 7). São conhecidas no meio científico como causadoras de infecções hospitalares, essencialmente pela contaminação de dispositivos médicos como o Cateter Venoso Central (CVC), sendo um importante patógeno humano (VUONG et al., 2003).

Figura 7 - *Staphylococcus epidermidis* em ágar sal manitol



Fonte: (EESA et al., 2020)

As células de *S. epidermidis* são esféricas (0,5–1,5 μm de diâmetro). Os cocos se organizam em tétrades e aglomerados. Células únicas são ocasionalmente observadas (SINGLA et al., 2014)

3.1.8 *Streptococcus pneumoniae*

A bactéria *Streptococcus pneumoniae* é pertencente à família Streptococcaceae (Figura 8). Essa espécie é responsável por causar a pneumonia, otite média aguda, além de ser o principal agente infeccioso causador da meningite em crianças (VIEIRA et al., 2007). As infecções causadas por *S. pneumoniae* foram reduzidas de forma drástica após a utilização de antimicrobianos como as sulfonamidas e a penicilina no início do século passado. Contudo, em 1960, pesquisadores descreveram a primeira cepa resistente à penicilina em Nova Guiné (NASCIMENTO-CARVALHO et al., 2003).

Com o avanço das pesquisas relacionadas à resistência microbiana, foi possível verificar a existência de 90 sorotipos de *S. pneumoniae*, os quais foram distinguidos através da análise das diferenças antigênicas dos polissacarídeos capsulares. Esses sorotipos atingem a população de formas diferentes (HAUSDORFF et al., 2000).

Figura 8 - *Streptococcus pneumoniae* em Ágar Sangue.



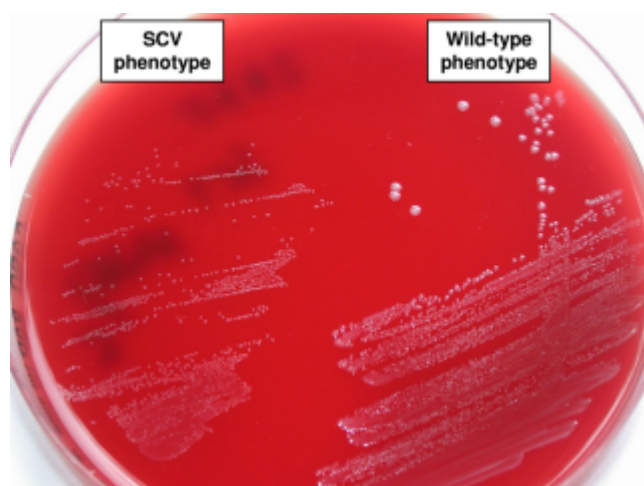
Fonte: UNESP.

3.1.9 *Enterococcus faecalis*

As espécies pertencentes ao gênero *Enterococcus* são bactérias gram-positivas comuns da flora intestinal humana, da vagina e da cavidade bucal. Contudo, algumas espécies são

responsáveis por infecções endodônticas. A espécie *E. faecalis* (Figura 9) possui a habilidade de gerar infecções urinárias e endocardites, além de se alojar em canais de dentes obturados e, assim, são responsáveis por 90% das infecções enterocócicas em humanos (KAYAOGLU et al., 2004).

Figura 9 - *Enterococcus faecalis* em ágar sangue.



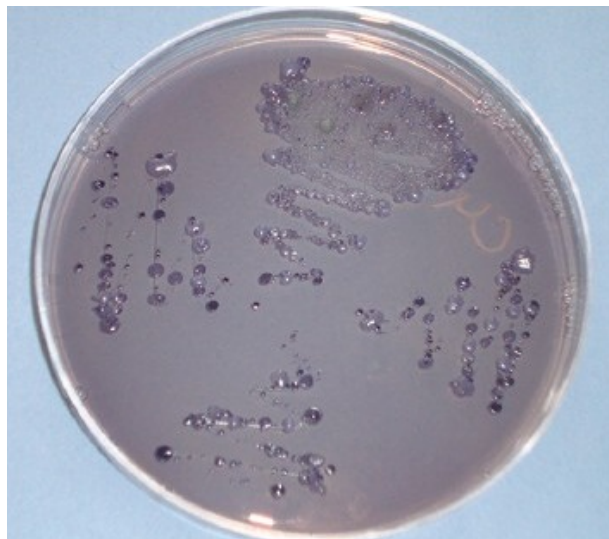
Fonte: (WELLINGHAUSEN et al., 2009)

3.1.10 *Streptococcus mutans*

A bactéria *Streptococcus mutans* (Figura 10) é um microrganismo gram-positivo, pertencente ao grupo das Viridans, agrupam-se em forma de cocos e são catalase-negativa. São bactérias anaeróbicas facultativas, possuem a habilidade de metabolizar açúcares como: glicose, lactose, sacarose, trealose, maltose, manitol, sorbitol, rafinose e melobiose (COYKENDALL, 1989).

A bactéria *S. mutans* é amplamente ligada a doenças cariogênicas, uma vez que possui a capacidade de formar biofilmes, ou seja, formam uma rede de bactérias unidas sobre uma superfície, convertendo os açúcares em ácidos orgânicos que desmineralizam o esmalte dentário (SHEN et al., 2004). Contudo, os biofilmes formados pelas bactérias são comumente associados a uma gama de infecções humanas e são resistentes a antibióticos e às respostas do sistema imune (FLEMING & WINGENDER, 2010).

Figura 10 - *Streptococcus mutans* em Ágar MSB.



Fonte: Journal of Indian Society of Periodontology

3.2 FUNGOS

Diferentemente das bactérias, os fungos apresentam uma estrutura mais complexa, são denominados eucariotos, visto que possuem um núcleo celular bem definido o qual armazena o material genético (DNA), envolvido numa membrana nuclear. Os fungos podem ser unicelulares ou pluricelulares. Os unicelulares são representados por leveduras as quais possuem uma estrutura oval e tamanho maior que as bactérias. Os multicelulares são representados por fungos filamentosos e cogumelos, os quais desenvolvem corpo de frutificação similares às plantas. Além destes, os fungos mais comuns são os bolores, ou filamentosos, os quais são vistos crescendo comumente em pães e formam uma massa de micélio composta por hifas (longos filamentos), as quais podem ser cenocíticas ou septadas (TORTORA et al., 2017).

Os fungos são microrganismos de grande importância alimentícia, como na produção de bebidas fermentadas, pães e *in natura*, como é o caso, por exemplo, da espécie *Agaricus bisporus*, conhecida popularmente como Champignon de Paris. Além disso, apresentam importância biotecnológica na produção de fármacos, biodegradação, tratamento biológico de efluentes, biotransformação, inseticidas e na produção de enzimas de interesse industrial (ABREU et al., 2014).

Os fungos patogênicos que foram avaliados no presente trabalho são: *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *Aspergillus brasiliensis*, descritos a seguir.

3.2.1 *Candida albicans*

A espécie *Candida albicans* é um fungo dimórfico que pode apresentar-se nas formas filamentosa e leveduriforme (Figura 11). Comumente encontrada em mucosas de indivíduos saudáveis, possui uma ampla distribuição na natureza podendo se proliferar em diversos habitats. Contudo, é popularmente conhecida por ser uma espécie oportunista e ocasionar lesões como candidíase, que podem variar de superficiais a disseminadas (ÁLVARES et al., 2007).

Figura 11 – Levedura *Candida albicans*.



Fonte: Página Mundo Micológico

3.2.2 *Candida tropicalis*

A *Candida tropicalis* (Figura 12) é uma levedura oportunista causadora de diversas doenças invasivas como meningite, artrite e infecção urinária, mas, também pode ser encontrada em comensalismo no corpo humano e no meio ambiente (OKAWA; MIYAUCHI; KOBAYASHI, 2008). A *C. tropicalis* é comum em hospitais brasileiros, sendo a segunda espécie mais isolada de candidemias em pacientes adultos e idosos (NUCCI, 2007).

As infecções causadas por *C. tropicalis* são classificadas em candidemia e candidúria, a primeira é dada às infecções sanguíneas, e a candidúria, infecção específica do trato urinário humano (DA SILVA et al., 2007; NUCCI et al., 2013; YISMAW et al., 2013).

A morfologia de *C. tropicalis*, quando observada em microscópio, apresenta-se com células de formato globoso ou elipsoidal, cilindroides ou alongadas. Em seu ciclo de vida podem apresentar a formação de hifas ou pseudohifas (LACHANCE et al., 2011).

Figura 12 – Levedura *Candida tropicalis*.

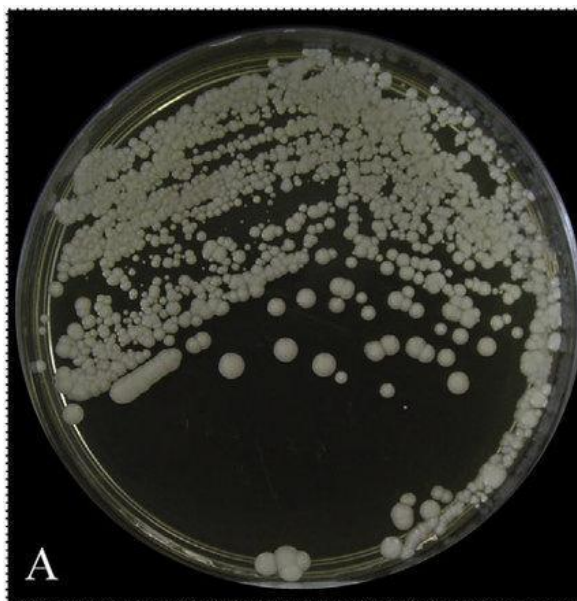


Fonte: Zhai et al., 2021.

3.2.3 *Candida parapsilosis*

O fungo *Candida parapsilosis* (Figura 13) é a segunda espécie mais isolada de pacientes com candidemias como os oncológicos e recém-nascidos (ALMIRANTE et al., 2006; LOCKHART et al., 2008; MEDRANO et al., 2006; TROFA et al., 2008). As principais formas de infecção observadas pelos pesquisadores são as mãos dos profissionais de saúde, infusões e biomateriais (TAY et al., 2009).

Figura 13 – Colônia de *C. parapsilosis* em Sabouraud Dextrose Agar (SDA);



Fonte: GAI et al., 2019.

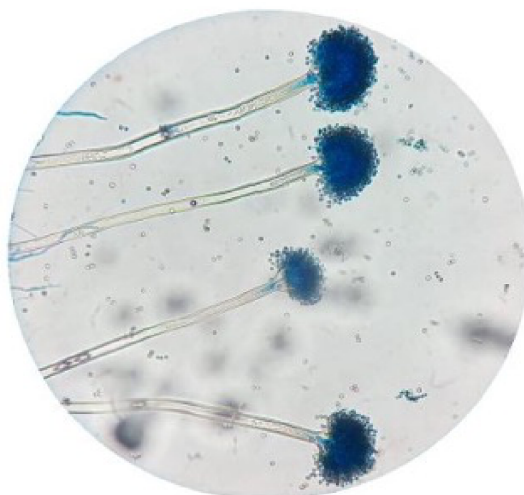
A *C. parapsilosis* pode ser isolada de plantas, água, solo, pele, mucosas de humanos e de animais e não apresenta a formação de hifas. As estruturas formadas pela espécie foram identificadas como pseudo hifas (BEDOUT; GÓMEZ, 2010; SINGH; PARIJA, 2012).

Através de estudos realizados com a espécie *C. parapsilosis*, foi possível observar que a espécie, nada mais é do que a união de três espécies de fungos distintos formando um complexo entre *C. parapsilosis stricto sensu*, *C. orthopsilosis* e *C. metapsilosis* (TAVANTI et al., 2005).

3.2.4 *Aspergillus brasiliensis*

A espécie *Aspergillus brasiliensis* (Figura 14) possui característica filamentosa, suas colônias foram descritas por Varga et al. (2007), assim, caracterizadas por sua coloração branca em seus primeiros dias de crescimento, sendo tonalizado para uma coloração marrom e, por fim, preto.

Figura 14 – Imagem microscópica do microcultivo do fungo *Aspergillus brasiliensis*.



Fonte: Falcão (2020)

Fungos semelhantes ao *A. niger*, como o *A. aculeatus* e o *A. brasiliensis*, são pertencentes à seção nigri, portanto, despertam grande interesse de estudo por motivos científicos e comerciais, visto seu potencial biotecnológico. (VOLKE-SEPÚLVEDA et al., 2016; YANG; LÜBECK; LÜBECK, 2017).

3.3 ANTIBIÓTICOS

De forma acidental, Alexander Fleming, renomado médico e bacteriologista, descobriu o primeiro antibiótico após, por acaso, observar um halo de inibição de coloração clara em placas contaminadas por fungos, inibindo o crescimento bacteriano. O fungo que inibiu o crescimento bacteriano ficou conhecido como *Penicillium chrysogenum* e a substância inibitória produzida pelo fungo foi denominada Penicilina (TORTORA et al., 2017).

A partir do avanço das pesquisas e do aperfeiçoamento de técnicas utilizadas na produção de fármacos antimicrobianos, pode-se compreender que além de possuírem ação de destruição do patógeno, esses fármacos traziam danos ao hospedeiro infectado devido sua alta toxicidade. Para mais, através do estudo desses microrganismos, muitas substâncias químicas puderam ser descobertas e identificadas com alto potencial biotecnológico, os quais puderam ser aplicados no tratamento de efluentes, biorremediação, controle de pragas, de insetos e na terapia gênica (TORTORA et al., 2017).

O artigo intitulado “Microrganismos endofíticos como fonte de compostos de interesse medicinal – uma breve revisão” retrata uma breve revisão bibliográfica referente às atividades biológicas realizadas por microrganismos endofíticos e a produção de compostos bioativos que são fundamentais na busca por moléculas de interesse medicinal (VILLAS BOAS et al., 2020).

A classificação e o mecanismo de ação dos antimicrobianos ocorre através de algumas variáveis, dentre as quais estão os microrganismos susceptíveis, a origem do antimicrobiano, atividade antibacteriana, mecanismo de ação e espectro de ação. Para os microrganismos suscetíveis, utilizam-se β -lactâmicos, griseofulvina, aciclovir e pirimetamina como antibacterianos, antifúngicos, antivirais e antiparasitários, respectivamente. Com relação a origem dos antimicrobianos, os antibióticos são produzidos por microrganismos, como os aminoglicosídeos, enquanto os quimioterápicos são sintetizados em laboratório, as sulfonamidas. Quanto à atividade bacteriana, existem dois tipos, bactericida no qual matam os microrganismos (quinolonas) e bacteriostático no qual inibem o crescimento dos microrganismos, sendo necessária a atuação do sistema imunitário para eliminação do patógeno (macrolídeos). E, por fim, com relação ao espectro de ação existem nove tipos: espectro para gram-positivas, espectro para gram-negativas, amplo espectro, ativo sobre protozoários, ativo sobre fungos, ativo sobre espiroquetas, ativo sobre riquetsias, micoplasma e clamídias, ativo sobre micobactérias e ativo sobre algas (MELO et al., 2012).

3.4 RESISTÊNCIA MICROBIANA

Na atualidade, a resistência microbiana a diversos químicos tem causado grandes impactos na sociedade, pois de acordo com a OMS - Organização Mundial da Saúde - a resistência microbiana será uma das principais causas de óbitos até 2050. Problemas médico-hospitalares estão sendo agravados devido ao uso indiscriminado de antibióticos, visto que em muitos países os antibióticos ainda são vendidos sem a apresentação da receita médica. Além disso, ainda que a medicação esteja prescrita, sua indicação pode ser dispensada em até 50% dos casos clínicos (SILVA et al., 2022).

De acordo com dados publicados pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), atualmente, aproximadamente 700 mil mortes são causadas, ao ano, por doenças anteriormente tratadas por antimicrobianos. Contudo, esses medicamentos já não surtem os efeitos esperados contra o patógeno causador da enfermidade. Caso medidas para a contenção

do problema de resistência microbiana não sejam tomadas, poderá haver doenças mais letais que o câncer até 2050.

Apesar da ciência alertar de antemão os casos de resistência microbiana, jornais de amplo renome internacional como a BBC News, anunciam essa preocupação, a qual tornou-se mais evidente com o surgimento da pandemia de COVID-9, pois, antimicrobianos foram utilizados sem necessidade, visto que ele age inibindo a ação de fungos e bactérias, no tratamento da doença e não no combate ao vírus (ALVIM, 2020). Por isso, estudos de avaliação do perfil de resistência microbiana são essenciais, tanto para o entendimento dos efeitos causados, na busca por estratégias de prevenção, quanto para a abordagem de possíveis soluções para a problemática da resistência microbiana.

Dentre os mecanismos de resistência microbiana existem dois tipos, resistência intrínseca e extrínseca. A resistência intrínseca é uma característica natural do microrganismo o qual consegue expressar o gene que confere resistência a antimicrobianos ou pode fazer parte da composição natural ou do metabolismo da bactéria (ANVISA, 2020). Já a resistência adquirida é aquela na qual a bactéria é capaz de adquirir através da genética, por meio de mutações ou por transferência de outra bactéria. Esse mecanismo está diretamente relacionado com o uso indiscriminado de antibióticos (GRILLO et al., 2013).

Na Tabela 1 estão apresentados os antibióticos que apresentam resistência intrínseca frente a diferentes bactérias.

Tabela 1 - Resistência intrínseca em bactérias frente a diferentes antibióticos comerciais.

BACTÉRIAS	ANTIBIÓTICOS
<i>Staphylococcus aureus</i>	Aztreonam, colistina e ácido nalidíxico
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ampicilina, amoxicilina, amoxicilina/ácido clavulânico, ampicilina/sulbactam, cefalosporinas 1 ^a e 2 ^a gerações, cefotaxima, ceftriaxona, ertapenem, ácido nalidíxico, nitrofurantoína, trimetoprima, tetraciclina (tigeciclina)
<i>Salmonella enterica</i>	Cefuroxima e aminoglicosídeos
<i>Proteus mirabilis</i>	Colistina, polimixina B, nitrofurantoína, tetraciclina, tigeciclina
<i>Serratia marcescens</i>	Ampicilina, amoxicilina, amoxicilina/ácido clavulânico, ampicilina/sulbactam, cefalosporinas 1 ^a geração, cefuroxima, cefoxitina, colistina

<i>Bacillus subtilis</i>	Macrólitos, Lincosamida e Estreptogramina B
<i>Enterococcus faecalis</i>	Carbenicilina, ticarcilina, oxacilina, todas as cefalosporinas aminoglicosídeos, macrolídeos mupirocina, clindamicina, trimetoprima, sulfametoxazol, estreptograminas (quinupristina/dalfopristina).
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Ampicilina, amoxicilina, carbenicilina, ticarcilina
<i>Streptococcus mutans</i>	Aminoglicosídeos e ceftazidima
<i>Streptococcus epidermidis</i>	Aminoglicosídeos e ceftazidima

Fonte: Modificado de ANVISA (2020) e BAPTISTA (2013).

3.5 FUNGOS ENDOFÍTICOS E A PRODUÇÃO DE COMPOSTOS ANTIMICROBIANOS

Muitos microrganismos como fungos e bactérias possuem a capacidade de colonizar o interior de plantas de forma assintomática, ou seja, ocasionando uma interação de simbiose entre ambas as espécies sem causar danos à sobrevivência da espécie vegetal (AZEVEDO, 2014). Ainda que bactérias também possam ser isoladas de tecidos de plantas, os fungos são mais comumente utilizados, pois produzem uma grande quantidade de compostos bioativos (SILVA, 2014).

Ademais, as substâncias produzidas por fungos endofíticos, em sua maioria, são compostos extraídos do metabolismo secundário desses microrganismos, dado que não estão relacionados ao funcionamento das funções vitais do organismo, mas estão envolvidos na adaptação da espécie ao ambiente e garantia da sua sobrevivência. Devido ao uso dos metabólitos secundários, essas substâncias somente são produzidas quando os microrganismos são submetidos ao estresse ou estão sob ameaça, como: modificações bruscas da temperatura, surgimento de um competidor e consequente escassez de nutrientes, entre outras (SILVA 2014; ZHANG et al, 2019).

Com o avanço das pesquisas científicas, pesquisadores puderam observar o potencial antibacteriano dos metabólitos produzidos por fungos endofíticos isolados de vegetais pertencentes a florestas tropicais. Um exemplo disso é o estudo realizado por Banhos e colaboradores (2014), no qual foi utilizado um fungo pertencente ao Gênero *Nectria*, isolado de *Myrcia guianensis*, uma espécie comumente encontrada na Amazônia. Nos resultados obtidos pelo grupo de pesquisa, pode-se observar a atividade antibacteriana frente a ação das espécies de bactéria *S. aureus* e *E. faecalis*.

Em outro estudo, foi possível observar a atividade antibacteriana de duas espécies isoladas de *Euterpe precatoria*, popularmente conhecido como açázeiro, espécie comum da Amazônia. Os pesquisadores observaram que os fungos isolados tinham a capacidade de inibir o crescimento da bactéria *S. aureus* (BATISTA; RAPOSO; SILVA, 2018).

Ramasamy e colaboradores (2010), realizaram a análise dos extratos de 348 fungos endofíticos, após isso, verificaram que 16% dos extratos atuavam na inibição do crescimento de *C. albicans*. Mais recentemente, Moura (2020) analisou fungos endofíticos isolados da folha de *Eucalyptus benthamii*, e a espécie fúngica *Annulohyphoxylon stygium* apresentou ação antifúngica frente à *C. albicans*, verificado através da formação de halos de inibição que de acordo com os autores, apresentavam 18 mm.

Portanto, uma vez que fungos endofíticos isolados de hospedeiros tropicais possuem o potencial de produzir substâncias antimicrobianas, estes microrganismos surgem como uma fonte alternativa de novos compostos com ação antibacteriana e antifúngica.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCAL DE EXECUÇÃO

A pesquisa foi realizada nos laboratórios do Grupo de Pesquisa de Química Aplicada à Tecnologia - QAT, na Escola Superior de Tecnologia – EST, da Universidade do Estado do Amazonas - UEA.

4.2 CEPAS COMERCIAIS

Neste estudo foram utilizadas cepas similares bioquimicamente às cepas ATCC (*American Type Culture Collection*), adquiridas comercialmente da Cefar Diagnóstica Ltda, conforme os pré-requisitos de controle de qualidade, bem como, identidade, pureza e viabilidade. As espécies de microrganismos utilizadas foram: *Escherichia coli* CCCD-E005, *Staphylococcus aureus* CCCD-S009, *Pseudomonas aeruginosa* CCCD-P004, *Staphylococcus epidermidis* CCCD-S010, *Streptococcus pneumoniae* CCCD-S011, *Proteus mirabilis* CCCD-P001, *Enterococcus faecalis* CCCD-E002, *Salmonella enterica* CCCD-S003, *Serratia marcescens* CCCD-S005, *Candida albicans* CCCD-CC001, *Candida tropicalis* CCCD-CC002, *Candida parapsilosis* CCCD-CC004 e *Aspergillus brasiliensis* CCCD-AA001.

4.3 ANTIMICROBIANOS COMERCIAIS

Os antibióticos comerciais utilizados nos antibiogramas frente aos microrganismos padrão estão apresentados na Tabela 2. As soluções preparadas com os antifúngicos comerciais (Fluconazol, Cetoconazol, Terbinafina e Itraconazol) estão ilustradas na Figura 15.

Tabela 2 – Classificação dos antimicrobianos comerciais utilizados e seus respectivos códigos.

ANTIBIÓTICOS β-LACTÂMICOS		
ANTIBIÓTICO	CÓDIGO	CLASSIFICAÇÃO
AMOXICILINA/AC.CL.AMC 20/10 μg	AMC 30	PENICILÍNICOS E INIBIDORES DE BETA LACTAMASES
AMPICILINA-AMP-10 μg	AMP 10	PENICILÍNICOS E INIBIDORES DE BETA LACTAMASES
AMPICILINA/SUB.-ASB-10/10 μg	ASB 20	PENICILÍNICOS E INIBIDORES DE BETA LACTAMASES
PIPERACILINA/TAZOBACTAM 110 μg	PPT 110	PENICILÍNICOS E INIBIDORES DE BETA LACTAMASES
CEFACLOR-CFC-30 μg	CFC 30	CEFALOSPORINAS
CEFAZOLINA-CFZ-30 μg	CFZ 30	CEFALOSPORINAS
CEFEPIME-CPM-30 μg	CPM 30	CEFALOSPORINAS
CEFOTAXIMA-CTX-30 μg	CTX 30	CEFALOSPORINAS
CEFOXITINA-CFO-30 μg	CFO 30	CEFALOSPORINAS

CEFTAZIDIMA-CAZ-30 µg	CAZ 30	CEFALOSPORINAS
CEFTRIAXONA-CRO-30 µg	CRO 30	CEFALOSPORINAS
CEFUROXIMA-CRX-30 µg	CRX 30	CEFALOSPORINAS
IMIPENEM-IPM-10 µg	IPM 10	CARBAPENEMAS
MEROPENEM-MER-10 µg	MER 10	CARBAPENEMAS
AZTREONAM-ATM-30 µg	ATM 30	MONOBACTAM
AMICACINA-AMI-30 µg	AMI 30	AMINOGLICOSÍDEOS
ESTREPTOMICINA-EST-10 µg	EST 10	AMINOGLICOSÍDEOS
GENTAMICINA-GEN-10 µg	GEN 10	AMINOGLICOSÍDEOS
TOBRAMICINA-TOB-10 µg	TOB 10	AMINOGLICOSÍDEOS
DOXICICLINA-DOX-30 µg	DOX 30	TETRACICLINAS
MINOCICLINA-MIN-30 µg	MIN 30	TETRACICLINAS
TETRACICLINA-TET-30 µg	TET 30	TETRACICLINAS
CIPROFLOXACIN-CIP-5 µg	CIP 5	FLUOROQUINOLONAS E QUINOLONAS
LEVOFLOXACIN-LVX-5 µg	LVX 5	FLUOROQUINOLONAS E QUINOLONAS
NORFLOXACIN-NOR-10 µg	NOR 10	FLUOROQUINOLONAS E QUINOLONAS
OFLOXACINO-OFX-5µg	OFX 5	FLUOROQUINOLONAS E QUINOLONAS
ÁCIDO NALIDÍXICO-NAL-30 µg	NAL 30	FLUOROQUINOLONAS E QUINOLONAS
TRIMETOPRIM-TRI-5 µg	TRI 5	INIBIDORES DE FOLATO
SULFAZOTRIM-SUT-25 µg	SUT 25	INIBIDORES DE FOLATO
CLORANFENICOL-CLO-30 µg	CLO 30	FENICÓIS
NITROFURANTOÍNA-NIT-300 µg	NIT 300	NITROFURANTOÍNAS
AZITROMICINA-AZI-15 µg	AZI 15	MACROLÍDEOS
POLIMIXINA B-POL-300 UI	POL 300	POLIMIXINAS

Fonte: CLSI (2022).

Figura 15 - Antifúngicos comerciais utilizados nos antibiogramas.



Fonte: Acervo pessoal (2023).

4.4 COLORAÇÃO DE GRAM

Para a realização da coloração de Gram, as lâminas com cepas bacterianas foram preparadas e, posteriormente, coloridas com uma solução de cristal violeta por 1 minuto. Após esse período, foi realizada a lavagem das lâminas com água corrente. Após a lavagem, o esfregaço foi coberto pela solução de lugol (solução iodo-iodetada) por 1 minuto. Após esse período, as lâminas foram novamente lavadas com água corrente. Decorrido esse tempo, foi adicionada uma solução de álcool 70% por 30 segundos para descorar as lâminas. E, por último, o esfregaço foi colorido com fucsina por 30 segundos e novamente lavado com água corrente (FIOCRUZ, 2009). Após a coloração das lâminas, estas foram observadas em microscópio óptico composto, o qual permite a visualização de amostras muito pequenas e seus detalhes devido possuir uma série de lentes e luz visível para a iluminação (TORTORA, 2017).

4.5 ENSAIOS ANTIMICROBIANOS

Foi utilizada a metodologia de difusão em ágar, segundo as recomendações do *Clinical Laboratory Standards Institute* – CLSI (2011), onde as cepas adquiridas comercialmente foram testadas frente ao painel de antimicrobianos comerciais.

Foram utilizadas culturas bacterianas de 24 h, incubadas em temperatura de 37 °C. Após o crescimento das bactérias em seus respectivos meios de cultivo, foi feita uma suspensão em solução salina 0,85% até alcançar a marca 0,5 na escala de McFarland, que equivale a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Com auxílio de alça de Drigalski, as suspensões foram semeadas em ágar Mueller Hinton, onde posteriormente foram inseridos os discos de antimicrobianos na superfície do ágar. As placas foram incubadas nas mesmas condições descritas anteriormente e após 24 h foi observado se houve formação de halos de inibição, os quais foram medidos com o auxílio de um paquímetro.

Para as leveduras e fungo filamentosos foi utilizado o ágar Sabouraud, sendo que o filamentosos permaneceu incubado por aproximadamente 5 dias a 28 °C e as leveduras por 48 h a 37 °C. Para o filamentosos foi preparada uma suspensão de conídios de valor 1,0 na escala de McFarland e para as leveduras 0,5, equivalente a 3×10^8 UFC/mL e $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, respectivamente, ambos em solução salina a 0,85%. As soluções foram comparadas para a verificação da turbidez. Essas suspensões foram semeadas em placas de Petri contendo ágar Sabouraud e os discos com antifúngicos inseridos, antes da incubação nas condições supracitadas. Após a incubação foi observado se houve formação de halos de inibição, os quais foram medidos com o auxílio de um paquímetro.

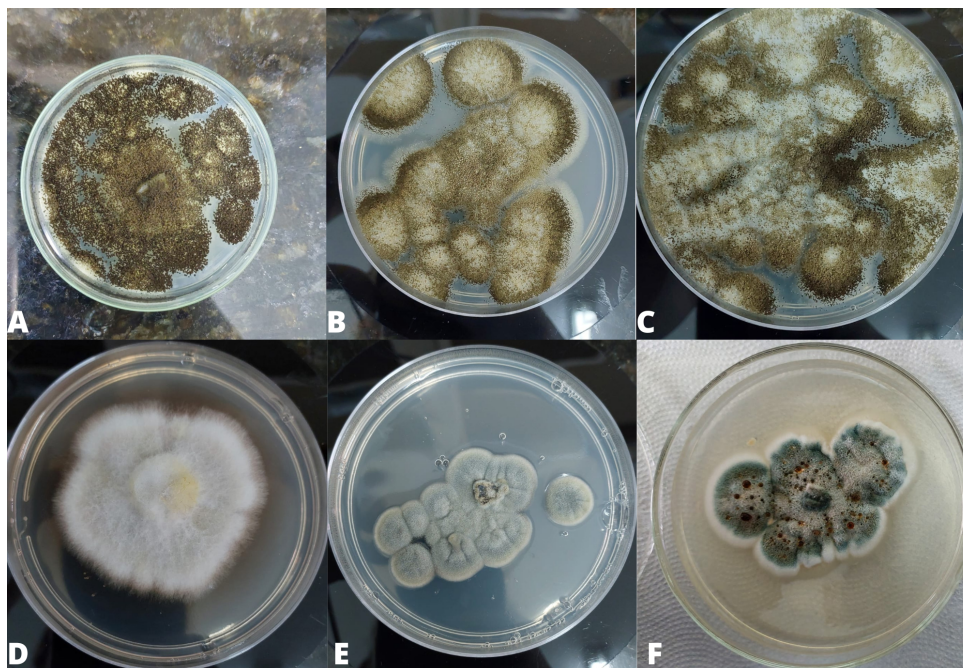
Após a medição dos halos, foi verificado se os valores obtidos se classificam como Sensíveis (S), Intermediários (I) ou Resistentes (R), conforme descrição do CLSI para cada tipo de microrganismo testado. A classificação sensível engloba microrganismos que causam infecções que podem ser tratadas com a dose do antimicrobiano conhecido para essa patologia, com exceção dos casos de contraindicação. A intermediária refere-se aos microrganismos que apresentam o CIMs (Concentração Inibitória Mínima) frente ao antimicrobiano, nos quais as taxas de respostas podem ser inferiores às de microrganismos sensíveis. E, por fim, as resistentes são aquelas cepas que não formam halos de inibição quando submetidas às concentrações sistêmicas dos agentes antimicrobianos (CLSI, 2022).

4.6 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS

Foram avaliados os metabólitos de cinco fungos endofíticos isolados de espécies amazônicas, previamente selecionados por Gurgel (2020) como produtores de moléculas com atividade antimicrobiana. Os isolados de *Myrcia guianensis* - *Aspergillus niger* Mg-F2 e

Aspergillus niger Mg-Re231; o isolado de *Piper hispidum* - *Aspergillus niger* Ph-174; o isolado de *Euterpe precatória* - *Alternaria* sp. Ep-C26; e o isolado de *Aniba canelilla* - *Fusarium continuum* Ag-G4-5B e foram utilizados para a produção de extratos (Figura 16).

Figura 16 - Fungos endofíticos isolados de plantas Amazônicas. A = *Aspergillus niger* MgF2; B = *Aspergillus niger* MgRE231; C = *Aspergillus niger* Ph174; D = *Fusarium continuum* Ag4-5B; E = *Alternaria* sp. C26; F = *Phyllosticta fallopiae* Ag2-5.



Fonte: Acervo pessoal (2023).

Os fungos endofíticos foram inoculados em placas de Petri contendo Ágar Batata Dextrose (BDA). Foram incubados em estufa microbiológica (BOD) à 28 °C por 5 a 7 dias. Três fragmentos da cultura fúngica de aproximadamente 5x5 mm de diâmetro foram inoculados em Erlenmeyers de 50 mL com 30 mL de meio líquido com a seguinte composição: batata portuguesa (200 g/L); dextrose (10 g/L); extrato de levedura (2,0 g/L); e NaCl (5,0 g/L); pH 5,0. Os cultivos foram realizados em duplicata, sob condições estáticas à 30 °C durante 14 dias (Figura 17). Após o cultivo, o líquido metabólico foi filtrado em membrana Milipore com poro de 0,45 µm (BOSE, GOWRIE, CHATHURDEVI, 2019) e armazenado em freezer (-18 °C).

Figura 17 - Crescimento de fungos endofíticos isolados de plantas Amazônicas para obtenção dos metabólitos.



Fonte: Acervo pessoal (2023).

O caldo metabólico foi extraído 3 vezes em funil de separação com acetato de etila 1:1(v/v), sendo em seguida concentrados em rotaevaporador (GURGEL, 2020), conforme ilustrado na Figura 18. Os extratos secos obtidos foram armazenados a 4°C para posterior utilização nos testes antimicrobianos, frente às cepas comerciais que se mostraram resistentes a pelo menos três dos antimicrobianos comerciais testados.

Figura 18 – Rotaevaporação do solvente acetato de etila para obtenção do extrato seco.



Fonte: Acervo pessoal (2023).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. REATIVAÇÃO DAS CEPAS PADRÃO

As cepas padrão foram reativadas e cultivadas em meios de cultura sólido, sendo: Ágar nutriente, Ágar Macconkey, EMB (*Eosin Methylene Blue*), Ágar Sabouraud e Ágar Triptona de Soja (TSA). As cepas bacterianas comerciais reativadas estão apresentadas na Figura 19. As cepas fúngicas comerciais reativadas estão apresentadas na Figura 6. As culturas foram semeadas e incubadas em estufa tipo B.O.D (*Biochemical Oxygen Demand*) a 37 °C por 24 h.

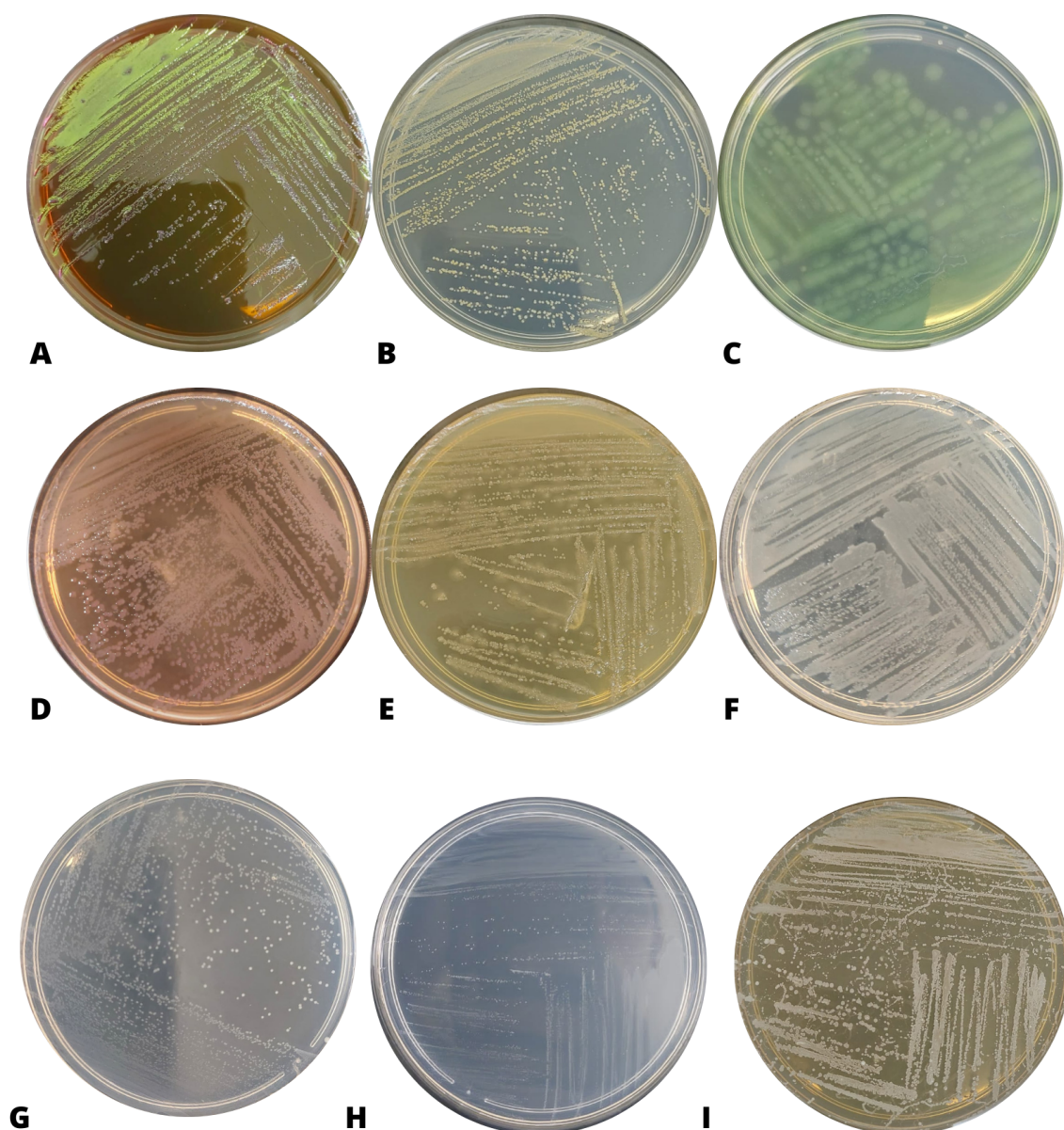
A cepa de *E. coli* foi semeada em EMB que, de acordo com dados disponibilizados pela LABOCLIN (2019), é um meio de cultura seletivo e diferencial que é comumente utilizado no cultivo de bactérias gram-negativas. As cepas de *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. marcescens*, *E. faecalis* e *S. mutans* foram semeadas em ágar nutriente. Esse meio é bastante utilizado em laboratórios microbiológicos devido ser de fácil preparo, de baixo custo e possuir uma vasta aplicabilidade como em análises de água, alimentos e leite, além de ser um meio preliminar para culturas que serão submetidas a testes microbiológicos e isolamento de microrganismos para a obtenção de culturas puras (ANVISA, 2004).

A cepa de *S. enterica* foi semeada em meio Ágar Macconkey visto que este é um meio seletivo que inibe o crescimento de bactérias gram-positivas, isolando o crescimento de bactérias gram-negativas (ANVISA, 2004). E, por fim, as bactérias *P. mirabilis* e *S. epidermidis* foram semeadas em meio TSA, meio bastante utilizado para o isolamento e cultivo de microrganismos não fastidiosos e fastidiosos, para avaliar contaminações microbiológicas do ar e de fluidos (LABORCLIN, 2018).

Os fungos *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* e *Aspergillus brasiliensis* foram reativados em meio BDA que, de acordo com dados da LABOCLIN, é um meio específico para o cultivo e contagem de fungos. Os fungos reativados estão apresentados na Figura 20.

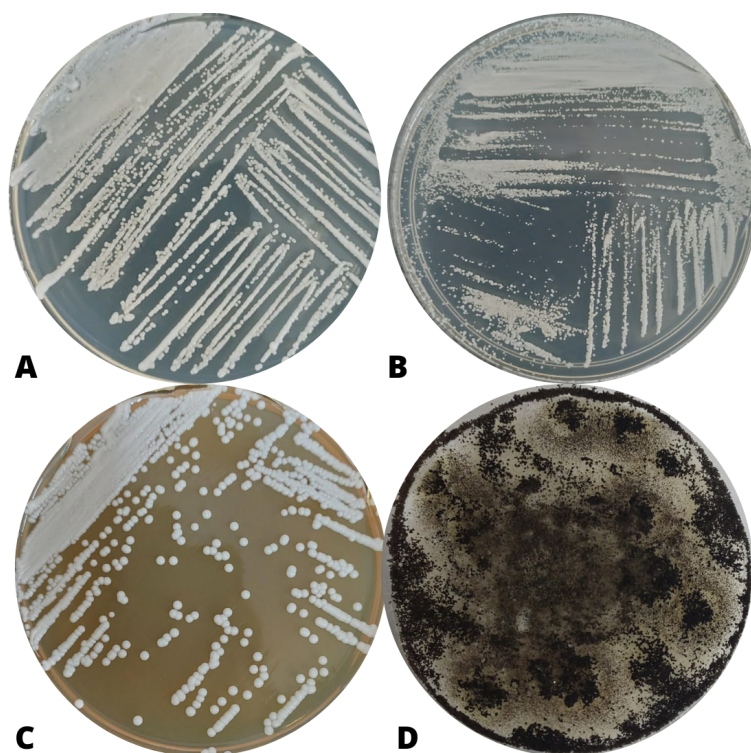
Figura 19 - Reativação das cepas bacterianas comerciais. A = *Escherichia coli*; B = *Staphylococcus aureus*; C = *Pseudomonas aeruginosa*; D = *Salmonella enterica*; E = *Proteus*

mirabilis; F = *Serratia marcescens*; G = *Enterococcus faecalis*; H = *Streptococcus mutans*; I = *Staphylococcus epidermidis*.



Fonte: Acervo pessoal (2023).

Figura 20 - Reativação das cepas fúngicas comerciais. A = *Candida albicans*; B = *Candida parapsilosis*; C = *Candida tropicalis*; D = *Aspergillus brasiliensis*.



Fonte: Acervo pessoal (2023).

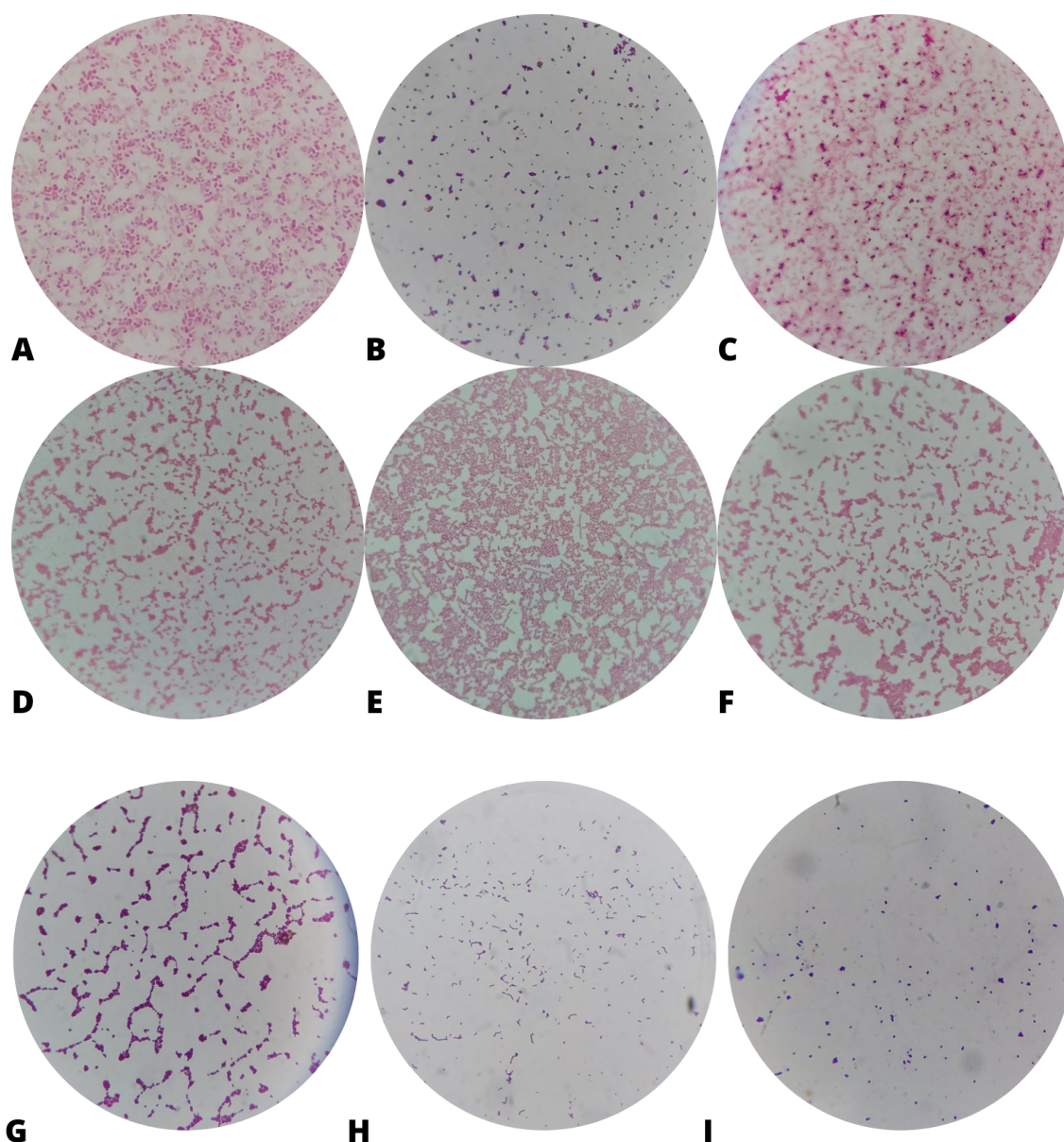
5.2. COLORAÇÃO DE GRAM

As cepas bacterianas comerciais foram submetidas à coloração de Gram para a caracterização morfológica e classificação inicial das bactérias. Os resultados estão apresentados na Figura 21.

A bactéria *E. coli* apresentou forma de bacilos curtos e foi corada em rosa avermelhado, cor típica impregnada em parede celular de bactérias gram-negativas. A bactéria *S. aureus* apresentou cocos agrupados em forma de cachos de uva, a coloração impregnada foi a roxa, coloração comum a bactérias gram-positivas. A *P. aeruginosa* apresentou característica morfológica em forma de colônias redondas, lisas e de coloração avermelhada (gram-negativo). A *S. enterica* apresentou forma de bastões curtos e de coloração avermelhada, característica do microrganismo gram-negativo. A bactéria *P. mirabilis* apresentou caráter morfológico de bacilos curtos com coloração rosa avermelhados (gram-negativos). A bactéria *S. marcescens* apresentou bacilos curtos com coloração rosa avermelhada, também gram-negativa.

Figura 21 – Coloração de Gram das cepas bacterianas comerciais. A = *Escherichia coli*; B = *Staphylococcus aureus*; C = *Pseudomonas aeruginosa*; D = *Salmonella enterica*; E = *Proteus*

mirabilis; F = *Serratia marcescens*; G = *Enterococcus faecalis*; H = *Streptococcus mutans*; I = *Staphylococcus epidermidis*.



Fonte: Acervo pessoal (2023).

A *E. faecalis* apresentou cocos agrupados em forma de cachos de uva, de coloração roxa, caracterizando a espécie como gram-positiva. A bactéria *S. mutans* apresentou cocos agrupados e coloração roxa, classificada como gram-positiva. A bactéria *S. epidermidis* apresentou cocos com coloração roxa, alguns agrupados em cachos gram-positivos.

De acordo com Molinaro et al. (2010), as bactérias possuem afinidade por uma grande quantidade de corantes, como: azul de metileno, violeta de genciana, tionina e a fucsina básica. Ao utilizar-se apenas um corante para a observação da coloração bacteriana, dá-se o

nome de coloração simples, quando se utiliza mais de um corante ou reagente para a identificação das características gerais das bactérias, chama-se coloração diferencial ou seletiva.

A coloração de Gram é uma metodologia diferencial ou seletiva e está relacionado ao fato de as bactérias serem coradas por derivados de rosalina como: violeta genciana, cristal-violeta, metilvioleta. Contudo, após passarem pelo tratamento com soluções iodetadas formam um composto chamado iodopararosalina que possui uma cor escura. Esse composto fica fortemente aderido nas bactérias gram-positivas, ou seja, sua remoção é muito difícil portanto não é removida facilmente pelo tratamento com o álcool, já nas bactérias gram-negativas, esse composto é removido facilmente. Após o tratamento com álcool, as bactérias são coradas com fucsina diluída, fazendo com que as bactérias gram-negativas fiquem coradas em vermelho (MOLINARO et al., 2010).

Molinaro e colaboradores (2010) formularam duas regras simples quanto a identificação de bactérias, sendo: os cocos geralmente são gram-positivos, exceto bactérias do gênero *Neisseria* (gonococos e meningococos) e os bastonetes geralmente são gram-negativos, exceto os gêneros *Corynebacterium*, *Listeria* (cocobacilo), *Bacillus* e *Clostridium*. Ao comparar os dados desta pesquisa, é possível afirmar que as características morfológicas e a coloração apresentada pelas bactérias estão de acordo com o que consta na literatura.

5.3 ENSAIOS ANTIBACTERIANOS

5.3.1 *Escherichia coli*

A partir da realização do teste de atividade antimicrobiana, foi possível perceber que a bactéria *E. coli* mostrou-se resistente (R) ao efeito de 23 antibióticos: Amoxicilina/Ác. Clavulânico, Amicacina, Ampicilina, Ampicilina/Sulbactam, Aztreonam, Cefazidima, Cefaclor, Cefalotina, Cefazolina, Claritromicina, Cloranfenicol, Cefepime, Ceftriaxona, Estreptomicina, Imipenem, Levofloxacina, Meropenem, Moxifloxacina, Ofloxacina, Optoquina-o-pneumococo, Oxacilina, Penicilina, Polimixina B, Sulfonamidas, Teicoplanina, Tobramicina e Trimetoprima.

Além disso, a bactéria mostrou-se sensível (S) a 7 antimicrobianos: Azitromicina, Cefuroxima, Doxiciclina, Eritromicina, Gentamicina, Minociclina e Rifampicina; e formou halos entre os limites aceitáveis ou Intermediário (I) para 7 antimicrobianos: Cefoxitina,

Ciprofloxacina, Cefotaxima, Ác. nalidíxico, Nitrofurantoína, Norfloxacina, Piperacilina/Tazobactam (Tabela 3).

Tabela 3 – Resultados do antibiograma realizado para a bactéria *Escherichia coli*.

Antimicrobiano	DH (mm)	CIM (µg/mL)	Classificação (R < I > S)	Antimicrobiano	DH (mm)	CIM (µg/mL)	Classificação (R < I > S)
AMC 30	18	18-24	R	GEN-10	26	19-26	S
AMI-30	19	19-26	R	IPM-10	24	26-32	R
AMP-10	-	15-22	R	LVX-5	25	29-37	R
ASB 20	15	19-24	R	MER-10	25	28-35	R
ATM-30	27	28-26	R	MXF-5	27	28-35	R
AZI-15	15	-	S	MIN-30	19	14-19	S
bac	-	-	R	NAL-30	24 CM	22-28	I
CAZ-30	25	25-32	R	NIT-300	24	20-25	I
CFC-30	20 CM	23-27	R	NOR-10	26	28-35	I
CFL-30	13 CM	15-21	R	OFX-5	25	29-33	R
CFO-30	26	23-29	I	OPT	-	<14>	R
CFZ-30	17	21-27	R	OXA-1	-	-	R
CIP-5	35	29-38	I	PEN-10	-	-	R
CLA-15	-	-	R	POL-300	13	13-19	R
CLO-30	2	21-27	R	PPT 110	25	24-30	I
CPM-30	-	31-37	R	RIF-5	10	8-10	S
CRO-30	29	29-35	R	SUT-25	22	23-29	R
CRX-30	26	20-26	S	TEC-30	-	-	R
CTX-30	30 CM	29-35	I	TET-30	23	18-25	I
DOX-30	25	18-24	S	TOB-10	18	18-26	R
ERI-15	14	-	S	TRI-5	-	21-28	R
EST-10	-	12-20	R	VAN-30	-	-	R

DH = Diâmetro do halo de inibição. CIM = Concentração Inibitória Mínima, de acordo com a CLSI (2022).

R = Resistente. I = Intermediário. S = Sensível. CM = Clones Multirresistentes.

A resistência desenvolvida pela bactéria *E. coli* frente aos antimicrobianos Amoxicilina/Ác. Clavulânico, Cefalotina e Ampicilina também foram observados no estudo realizado por Alves e colaboradores (2016), em que avaliaram infecções comunitárias do trato urinário, indicando a prevalência e a susceptibilidade aos antimicrobianos na cidade de

Florianópolis. Os autores avaliaram 4.603 amostras obtidas de pacientes com infecções no trato urinário e 1.035 tiveram resultados positivos para a presença da bactéria. Ao contrário do que foi observado no presente estudo, Alves e colaboradores (2016) observaram que a cepa se mostrou resistente ao fármaco Ácido Nalidíxico. Além disso, os dados de sensibilidade obtidos frente ao antimicrobiano Gentamicina estão de acordo com dados obtidos pelos autores, mas divergem quanto às informações sobre os antibióticos Nitrofurantoína, Norfloxacino e Ciprofloxacino (Tabela 3), uma vez que a bactéria se mostrou resistente no estudo de Alves et al. e, neste estudo, observou-se que a *E. coli* apresentou níveis intermediários quando submetida à ação desses antimicrobianos.

No estudo de Santos Porcy e Oliveira Menezes (2019), sobre a etiologia e perfil de resistência bacteriana em uroculturas de pacientes atendidos em um hospital público de Macapá-Amapá, Brasil, foram analisadas 2.078 amostras e destas 289 tiveram resultado positivo para a presença de *E. coli*, que se mostrou resistente frente aos antimicrobianos Amicacina, Norfloxacino, Ciprofloxacino e Meropenem. Os dados obtidos no teste de sensibilidade e resistência frente aos antimicrobianos avaliados no presente estudo estão de acordo com os dados observados pelos autores, visto que foi possível observar resistência da *E. coli* frente aos antimicrobianos Amicacina e Meropenem. Contudo, divergem quanto aos antimicrobianos Norfloxacino e Ciprofloxacino que ficaram entre os números relacionados ao perfil intermediário (Tabela 3).

De acordo com dados da ANVISA (2008), é importante que haja um controle rigoroso quanto à realização da técnica, visto que as diferenças observadas nos testes de resistência e sensibilidade podem ter sido influenciadas por fatores como: o preparo dos meios de cultura, o controle do pH do meio, o tempo, a temperatura e a atmosfera de incubação, concentração do inóculo, o estoque adequado dos discos de sensibilidade, além do rigor na execução da técnica.

5.3.2 *Staphylococcus aureus*

No antibiograma realizado frente à cepa de *Staphylococcus aureus*, foi possível verificar que ela se apresentou resistente (R) a 14 antimicrobianos: Ampicilina/Sulbactam, Aztreonam, Bacitracina, Cefoxitina, Claritromicina, Cefepime, Levofloxacina, Moxifloxacino, Nitrofurantoína, Optoquina-o-pneumococo, Sulfazotrim, Tetraciclina, Tobramicina, Trimetoprima e Vancomicina; sensível (S) a 10 antibióticos, como: Amoxicilina/Ác. Clavulânico, Ampicilina, Azitromicina, Cefaclor, Cefazolina, Ceftriaxona,

Cefuroxima, Cefotaxima, Minociclina e Polimixina B; e intermediária para 16 antimicrobianos: Amicacina, Ceftazidima, Cefalotina, Ciprofloxacina, Cloranfenicol, Doxiciclina, Eritromicina, Gentamicina, Meropenem, Norfloxacina, Ofloxacina, Oxacilina, Penicilina, Piperacilina/Tazobactam, Rifampicina e Teicoplanina (Tabela 4).

Tabela 4 – Resultados do antibiograma realizado frente à bactéria *Staphylococcus aureus*.

Antimicrobiano	DH (mm)	CIM (µg/mL)	Classificação (R < I > S)	Antimicrobiano	DH (mm)	CIM (µg/mL)	Classificação (R < I > S)
AMC 30	37	28-36	S	GEN-10	20	19-27	I
AMI-30	23	20-26	I	IPM-10	30	-	S
AMP-10	36	27-35	S	LVX-5	-	25-30	R
ASB 20	25	29-37	R	MER-10	34	29-37	I
ATM-30	-	-	R	MFX-5	27	28-35	R
AZI-15	26	21-26	S	MIN-30	24	14-19	S
bac	-	-	R	NAL-30	11	-	S
CAZ-30	19	16-20	I	NIT-300	18	18-22	R
CFC-30	33	27-31	S	NOR-10	23	17-28	I
CFL-30	34	29-37	I	OFX-5	25	24-28	I
CFO-30	3	23-29	R	OPT	10	<14>	R
CFZ-30	37	29-35	S	OXA-1	21	18-24	I
CIP-5	24	22-30	I	PEN-10	32	26-37	I
CLA-15	22	26-32	R	POL-300	11	-	S
CLO-30	22	19-26	I	PPT 110	33	27-36	I
CPM-30	19	23-29	R	RIF-5	29	26-34	I
CRO-30	31	22-28	S	SUT-25	23	24-32	R
CRX-30	35	27-35	S	TEC-30	16	15-21	I
CTX-30	34	25-31	S	TET-30	16	24-30	R
DOX-30	28	23-29	I	TOB-10	-	19-29	R
ERI-15	25	22-30	I	TRI-5	13	19-26	R
EST-10	19	14-22	I	VAN-30	17	17-21	R

DH = Diâmetro do halo de inibição. CIM = Concentração Inibitória Mínima, de acordo com a CLSI (2022).

R = Resistente. I = Intermediário. S = Sensível.

De acordo com Narciso et al. (2011), dentre os mecanismos de resistência desenvolvidos pelas bactérias, o mais preocupante é o que ocorreu nos estafilococos que causam infecções hematogênicas em hospitais, visto que atualmente são resistentes a uma

grande diversidade de antimicrobianos disponíveis. Ademais, atualmente é amplamente conhecido o mecanismo de resistência desenvolvido por *S. aureus* a alguns β -lactâmicos, dado que produzem a enzima β -lactamase e a proteína β -lactâmica de ligação a qual gera resistência à Meticilina.

Além disso, sabe-se que a bactéria *S. aureus*, pode desenvolver resistência a diversos outros antimicrobianos, dentre eles: Ciprofloxacina, Cloranfenicol, Estreptomicina, Norfloxacin, Rifampicina e Sulfonamidas (CUSSOLIM et al., 2021). Contudo, neste estudo observou-se que a cepa de *S. aureus* utilizada atingiu níveis intermediários de resistência para os antimicrobianos Ciprofloxacina, Cloranfenicol, Norfloxacin e Rifampicina (Tabela 4).

5.3.3 *Pseudomonas aeruginosa*

Após a realização do antibiograma foi possível perceber que a bactéria *Pseudomonas aeruginosa* mostrou-se resistente (R) aos efeitos de 23 antibióticos: Amicacina, Amoxicilina/Ác. Clavulânico, Ampicilina, Ampicilina/Sulbactam, Aztreonam, Ceftazidima, Cefaclor, Cefalotina, Cefazolina, Cloranfenicol, Cefepime, Ceftriaxona, Estreptomicina, Imipenem, Levofloxacina, Meropenem, Moxifloxacina, Minociclina, Ofloxacina, Optoquina-o-pneumococo, Polimixina B, Sulfonamidas, Tobramicina e Trimetoprima. Além disso, mostrou-se sensível (S) a 6 antimicrobianos: Azitromicina, Claritromicina, Cefuroxima, Doxiciclina, Gentamicina e Rifampicina. E, formou halos entre os limites aceitáveis ou Intermediário (I) para 7 antimicrobianos: Amicacina, Aztreonam, Ciprofloxacina, Cefepime, Gentamicina, Polimixina B e Piperacilina/Tazobactam (Tabela 5).

Os dados obtidos se assemelham aos resultados das análises feitas no estudo de Da Mata e Abegg (2007), onde descrevem o caso de resistência a antibióticos por *P. aeruginosa* em um paciente com problemas no trato urinário. Os autores descrevem que em determinado momento alguns antibióticos surtiram efeito no tratamento do paciente, dentre os quais estão: Aztreonam, Polimixina B, Ceftazidima, Imipenem, Ceftriaxona, Cefepime, Meropenem e Piperacilina/Tazobactam. Contudo, no presente estudo, foi observado que a *P. aeruginosa* mostrou-se resistente a todos os antimicrobianos testados. Além disso, os dados diferem de Da Mata e Abegg (2007) quanto a resistência e a sensibilidade desta bactéria frente à Polimixina B e Piperacilina/Tazobactam, que no presente estudo, apresentaram níveis intermediários.

Tabela 5 – Resultados do antibiograma realizado frente à bactéria *Pseudomonas aeruginosa*.

Antimicrobiano	DH (mm)	CIM (µg/mL)	Classificação (R < I > S)	Antimicrobiano	DH (mm)	CIM (µg/mL)	Classificação (R < I > S)
AMC 30	-	-	R	GEN-10	21	17-23	I
AMI-30	23	20-26	I	IPM-10	20	20-28	R
AMP-10	-	-	R	LVX-5	27	19-26	S
ASB 20	-	-	R	MER-10	33	27-33	S
ATM-30	24	23-29	I	MFX-5	25	17-25	S
AZI-15	-	-	R	MIN-30	8	14-19	R
bac	-	-	R	NAL-30	-	-	R
CAZ-30	29	22-29	S	NIT-300	-	-	R
CFC-30	-	-	R	NOR-10	31	22-29	S
CFL-30	-	-	R	OFX-5	22	17-21	S
CFO-30	-	-	R	OPT	-	<14>	R
CFZ-30	-	-	R	OXA-1	-	-	R
CIP-5	32	25-33	I	PEN-10	-	-	R
CLA-15	-	-	R	POL-300	17	14-18	I
CLO-30	-	-	R	PPT 110	28	25-33	I
CPM-30	29	25-31	I	RIF-5	-	-	R
CRO-30	23	17-23	S	SUT-25	-	-	R
CRX-30	-	-	R	TEC-30	-	-	R
CTX-30	23	18-22	S	TET-30	-	-	R
DOX-30	-	-	R	TOB-10	27	20-26	S
ERI-15	-	-	R	TRI-5	-	-	R
EST-10	14	-	S	VAN-30	-	-	R

DH = Diâmetro do halo de inibição. CIM = Concentração Inibitória Mínima, de acordo com a CLSI (2022).

sensível (S) R = Resistente. I = Intermediário. S = Sensível.

5.3.4 *Salmonella enterica*

A bactéria *Salmonella enterica* apresentou resistência (R) a 8 antibióticos, sendo: Aztreonam, Bacitracina, Cefoxitina, Claritromicina, Cefepime, Estreptomicina, Oxacilina, Rifampicina, Teicoplanina, Sulfazotrim e Vancomicina. Ainda, mostrou-se ao Ácido Nalidíxico, Amoxicilina/Ác. Clavulânico, Amicacina, Ampicilina, Ampicilina/Sulbactam,

Azitromicina, Cefaclor, Cefalotina, Cefoxitina, Cefazolina, Ciprofloxacina, Cloranfenicol, Ceftriaxona, Cefuroxima, Cefotaxima, Doxiciclina, Gentamicina, Imipenem, Levofloxacina, Minociclina, Moxifloxacina, Nitrofurantoína, Optoquina-o-pneumococo, Norfloxacina, Ofloxacina, Penicilina, Polimixina B, Tetraciclina, Tobramicina e Trimetoprima. E, resultado intermediário (I) para: Eritromicina, Meropenem e Piperacilina/Tazobactam (Tabela 6).

Tabela 6 – Resultados do antibiograma realizado frente à bactéria *Salmonella enterica*.

Antimicrobiano	DH (mm)	CIM (µg/mL)	Classificação (R < I > S)	Antimicrobiano	DH (mm)	CIM (µg/mL)	Classificação (R < I > S)
AMC 30	37	13-18	S	GEN-10	31	12-15	S
AMI-30	27	14-17	S	IPM-10	28	19-23	S
AMP-10	23	13-17	S	LVX-5	11	-	S
ASB 20	22	11-15	S	MER-10	20	19-23	I
ATM-30	-	17-21	R	MFX-5	39	<22>	S
AZI-15	26	10-16	S	MIN-30	21	12-16	S
bac	-	-	R	NAL-30	29	13-19	S
CAZ-30	16	17-21	R	NIT-300	23 CM	14-17	S
CFC-30	33 CM	14-18	S	NOR-10	37 CM	12-17	S
CFL-30	25	14-18	S	OFX-5	36 CM	-	S
CFO-30	30	14-18	S	OPT	25 CM	<14>	S
CFZ-30	30	14-15	S	OXA-1	-	10 -13	R
CIP-5	39 CM	20-31	S	PEN-10	26	14-15	S
CLA-15	-	-	R	POL-300	15	-	S
CLO-30	30	12-18	S	PPT100	23	20-25	I
CPM-30	11	18-25	R	RIF-5	9	16-20	R
CRO-30	35 CM	19-23	S	SUT-25	-	10-16	R
CRX-30	35 CM	14-18	S	TEC-30	-	10-14	R
CTX-30	42 CM	22-26	S	TET-30	25	11-15	S
DOX-30	19	10-14	S	TOB-10	29	12-15	S
ERI-15	15	13-23	I	TRI-5	33 CM	10-16	S
EST-10	11	11-15	R	VAN-30	-	9-12	R

DH = Diâmetro do halo de inibição. CIM = Concentração Inibitória Mínima, de acordo com a CLSI (2022).

R = Resistente. I = Intermediário. S = Sensível. CM = Clones Multirresistentes.

Os dados obtidos após a realização da leitura do antibiograma estão em concordância com o estudo de Figueirêdo (2008), que delineou o perfil de sensibilidade e de resistência das

cepas de *Salmonella* isoladas de amostras de água do rio Jaguaribe no Estado do Ceará e verificou que a cepa de *S. enterica* mostrou-se sensível aos antimicrobianos Ampicilina, Ác. Nalidíxico, Ciprofloxacina, Cloranfenicol, Ceftriaxona, Gentamicina, Imipenem, Nitrofurantoína e Tetraciclina. Entretanto, no presente estudo, a cepa de *S. enterica* utilizada mostrou-se resistente ao Sulfazotrim, enquanto no estudo de Figueirêdo, apresentou sensibilidade.

5.3.5 *Proteus mirabilis*

No antibiograma realizado frente à cepa de *Proteus mirabilis*, observou-se que houve resistência (R) aos antibióticos: Ampicilina, Bacitracina, Cefalotina, Cefepime, Cefotaxima, Claritromicina, Doxiciclina, Eritromicina, Minociclina, Ác. Nalidíxico, Nitrofurantoína e Polimixina B, Teicoplanina, Rifampicina e Vancomicina. Além disso, a bactéria apresentou sensibilidade (S) quando submetida aos efeitos dos antibióticos: Amicacina, Ampicilina/Sulbactam, Aztreonam, Azitromicina, Ceftazidima, Cefaclor, Cefoxitina, Cefazolina, Cloranfenicol, Ceftriaxona, Cefuroxima, Estreptomicina, Gentamicina, Imepenem, Levofloxacino, Meropenem, Moxifloxacina, Norfloxacina, Ofloxacina, Optoquina-o-pneumococo, Oxacilina, Penicilina. E, resultado intermediário frente a: Amoxicilina/Ác. Clavulânico, Ciprofloxacina e Tetraciclina (Tabela 7).

Os resultados obtidos nos testes foram comparados com os estudos realizados por Delgado (2020), que avaliou o perfil de resistência de *P. mirabilis*. O autor constatou que a cepa apresenta uma alta sensibilidade frente aos antibióticos: Cefuroxima, Gentamicina, Fosfomicina, Cefotaxima, Ceftazidima, Cefalotina, Amoxicilina/Ác. clavulânico e Cefoxitina. Ainda, seus estudos mostram que a cepa tem uma elevada taxa de resistência frente à Ampicilina e a Ciprofloxacina. Ademais, citou a resistência intrínseca frente à Nitrofurantoína. Contudo neste estudo, verificou-se que a cepa mostrou nível intermediário de resistência frente à Amoxicilina/Ác. Clavulânico e resistência à Cefalotina. Os resultados obtidos no presente estudo estão de acordo quanto à resistência de *P. mirabilis* à Ampicilina reportada por Delgado, mas diferem quanto aos resultados frente ao antibiótico Ciprofloxacino. No estudo de Delgado, *P. mirabilis* resiste aos seus efeitos, enquanto neste estudo, a cepa se mostra com resistência intermediária.

Tabela 7 – Resultados do antibiograma realizado frente à bactéria *Proteus mirabilis*.

Antimicrobiano	DH (mm)	CIM (µg/mL)	Classificação (R < I > S)	Antimicrobiano	DH (mm)	CIM (µg/mL)	Classificação (R < I > S)
AMC 30	15	13-18	I	GEN-10	21	12-15	S
AMI-30	22	14-17	S	IPM-10	24	19-23	S
AMP-10	-	13-17	R	LVX-5	33	-	S
ASB 20	29	11-15	S	MER-10	25	19-23	S
ATM-30	32 CM	17-21	S	MFX-5	25	<22>	S
AZI-15	17	10-16	S	MIN-30	-	12-16	R
bac	-	-	R	NAL-30	9	13-19	R
CAZ-30	25	17-21	S	NIT-300	12	14-17	R
CFC-30	22 CM	14-18	S	NOR-10	34	12-17	S
CFL-30	10	14-18	R	OFX-5	30	-	S
CFO-30	21	14-18	S	OPT	9	<14>	R
CFZ-30	22 CM	14-15	S	OXA-1	-	10-13	R
CIP-5	30	20-31	I	PEN-10	16 CM	14-15	S
CLA-15	-	-	R	POL-300	-	-	R
CLO-30	29	12-18	S	PPT100	28	20-25	S
CPM-30	-	18-25	R	RIF-5	15	16-20	R
CRO-30	28 CM	19-23	S	SUT-25	29 CM	10-16	S
CRX-30	25	14-18	S	TEC-30	-	10-14	R
CTX-30	22	22-26	R	TET-30	12	11-15	I
DOX-30	-	10-14	R	TOB-10	20	12-15	S
ERI-15	9	13-23	R	TRI-5	29	10-16	S
EST-10	17	11-15	S	VAN-30	-	9-12	R

DH = Diâmetro do halo de inibição. CIM = Concentração Inibitória Mínima, de acordo com a CLSI (2022).

R = Resistente. I = Intermediário. S = Sensível. CM = Clones Multirresistentes.

5.3.6 *Serratia marcescens*

A bactéria *S. marcescens* apresentou resistência (R) quando submetida aos efeitos dos antibióticos Amoxicilina/Ác. Clavulânico, Ampicilina, Ampicilina/Sulbactam, Bacitracina, Cefaclor, Cefalotina, Cefazolina, Cefuroxima, Nitrofurantoína, Optoquina-o-pneumococo, Oxacilina, Penicilina, Rifampicina, Teicoplanina e Vancomicina. Apresentou sensibilidade (S) à Amicacina, Aztreonam, Azitromicina, Cefoxitina, Ceftazidima, Cefepime, Ceftriaxona, Cefotaxima, Ciprofloxacina, Claritromicina, Doxiciclina, Estreptomicina, Gentamicina, Imipenem, Levofloxacina, Meropenem, Minociclina, Moxifloxacino, Ác. Nalidíxico,

Norfloxacina, Ofloxacina, Piperacilina/Tazobactam, Sulfazotrim, Polimixina B, Tobramicina e Trimetoprima. E, por fim, intermediário (I) para Cloranfenicol e Tetraciclina (Tabela 8).

Tabela 8 – Resultados do antibiograma realizado frente à bactéria *Serratia marcescens*.

Antimicrobiano	DH (mm)	CIM (µg/mL)	Classificação (R < I > S)	Antimicrobiano	DH (mm)	CIM (µg/mL)	Classificação (R < I > S)
AMC 30	9	13-18	R	GEN-10	31	12-15	S
AMI-30	30	14-17	S	IPM-10	27	19-23	S
AMP-10	-	13-17	R	LVX-5	40	-	S
ASB 20	-	11-15	R	MER-10	39	19-23	S
ATM-30	38 CM	17-21	S	MFX-5	37	<22>	S
AZI-15	20	10-16	S	MIN-30	20	12-16	S
bac	-	-	R	NAL-30	33 CM	13-19	S
CAZ-30	35 CM	17-21	S	NIT-300	-	14-17	R
CFC-30	-	14-18	R	NOR-10	43	12-17	S
CFL-30	-	14-18	R	OFX-5	37	-	S
CFO-30	23	14-18	S	OPT	-	<14>	R
CFZ-30	-	14-15	R	OXA-1	-	10-13	R
CIP-5	37	20-31	S	PEN-10	-	19-28	R
CLA-15	15	-	S	POL-300	18	-	S
CLO-30	13	12-18	I	PPT 110	37	20-25	S
CPM-30	40	18-25	S	RIF-5	12	16-20	R
CRO-30	30	19-23	S	SUT-25	40	10-16	S
CRX-30	-	14-18	R	TEC-30	-	10-14	R
CTX-30	35	22-26	S	TET-30	14	11-15	I
DOX-30	19	10-14	S	TOB-10	27	12-15	S
ERI-15	19	13-23	I	TRI-5	28	10-16	S
EST-10	26	11-15	S	VAN-30	-	9-12	R

DH = Diâmetro do halo de inibição. CIM = Concentração Inibitória Mínima, de acordo com a CLSI (2022).

R = Resistente. I = Intermediário. S = Sensível. CM = Clones Multirresistentes.

Ao comparar-se os dados obtidos no presente estudo com os de Parente (2020), que realizaram a análise do perfil de resistência a antibióticos e da ação antimicrobiana da terapia fotodinâmica em isolados ambientais, orais e extra-orais de *S. marcescens*, pôde-se perceber que houve contradição em relação aos dados obtidos referentes ao antibiótico Doxiciclina. No estudo de Parente foram isoladas 55 cepas, dentre as quais 13 apresentaram resistência

intermediária à Doxiciclina, mas os dados entram em acordo quando mostra-se que todas as cepas de *S. marcescens* foram sensíveis ao Imipenem.

Carvalho e colaboradores (2010) observaram em seus estudos sobre a caracterização fenotípica e genotípica de *S. marcescens* que as 22 culturas da bactéria apresentaram resistência a Ampicilina, Ampicilina-Sulbactam, Gentamicina e Cefalotina. Esses resultados também podem ser observados no presente estudo, com exceção do antibiótico Gentamicina, frente ao qual a cepa mostrou-se sensível. Ainda no estudo de Carvalho et al., não foi verificada a resistência a outros antimicrobianos como: Ciprofloxacina, Imipenem, Ertapenem e Meropenem. Contudo, no presente estudo, foi percebida sensibilidade da cepa quando submetida aos efeitos desses fármacos, com exceção do Ertapenem que não foi testado.

5.3.7 *Enterococcus faecalis*

No antibiograma, a bactéria *Enterococcus faecalis*, apresentou resistência (R) à Aztreonam, Bacitracina, Ceftazidima, Cefoxitina, Cefepime, Ceftriaxona, Optoquina-o-pneumococo e Oxacilina. Além destes, mostrou sensibilidade (S) à Amoxicilina/Ác. Clavulânico, Amicacina, Ampicilina, Ampicilina/Sulbactam, Cefalotina, Ceftazidima, Ciprofloxacino, Claritromicina, Cloranfenicol, Cefuroxima, Cefotaxima, Doxiciclina, Estreptomicina, Gentamicina, Imipenem, Levofloxacino, Meropenem, Minociclina, Moxifloxacina, Nitrofurantoína, Norfloxacino, Ofloxacino, Penicilina, Polimixina B, Piperacilina/tazobactam, Rifampicina, Sulfazotrim, Teicoplanina, Tetraciclina, Tobramicina, Trimetoprima e Vancomicina. Estão entre os níveis de resistência intermediária: Azitromicina, Cefaclor e Eritromicina (Tabela 9).

Tabela 9 – Resultados do antibiograma realizado frente à bactéria *Enterococcus faecalis*.

Antimicrobiano	DH (mm)	CIM (µg/mL)	Classificação (R < I > S)	Antimicrobiano	DH (mm)	CIM (µg/mL)	Classificação (R < I > S)
AMC 30	43	13-18	S	GEN-10	30 CR	12-15	S
AMI-30	23 CM	14-17	S	IPM-10	41	19-23	S
AMP-10	19	13-17	S	LVX-5	34	-	S
ASB 20	41	11-15	S	MER-10	32	19-23	S
ATM-30	-	17-21	R	MFX-5	44	<22>	S
AZI-15	13	10-16	I	MIN-30	35	12-16	S
bac	-	-	R	NAL-30	-	13-19	R

CAZ-30	-	17-21	R	NIT-300	41	14-17	S
CFC-30	15	14-18	I	NOR-10	30	12-17	S
CFL-30	19	14-18	S	OFX-5	27	-	S
CFO-30	-	14-18	R	OPT	14	<14>	R
CFZ-30	25	14-15	S	OXA-1	-	10-13	R
CIP-5	34	20-31	S	PEN-10	34	19-28	S
CLA-15	23	-	S	POL-300	13	-	S
CLO-30	26	12-18	S	PPT 110	40	20-25	S
CPM-30	-	18-25	R	RIF-5	28	16-20	S
CRO-30	19	19-23	R	SUT-25	31	10-16	S
CRX-30	35	14-18	S	TEC-30	23	10-14	S
CTX-30	45	22-26	S	TET-30	24	11-15	S
DOX-30	31	10-14	S	TOB-10	21	12-15	S
ERI-15	19	13-23	I	TRI-5	42	10-16	S
EST-10	18	11-15	S	VAN-30	21	9-12	S

DH = Diâmetro do halo de inibição. CIM = Concentração Inibitória Mínima, de acordo com a CLSI (2022).

R = Resistente. I = Intermediário. S = Sensível. CM = Clones Multirresistentes.

Os resultados obtidos a partir da análise do antibiograma frente à bactéria *E. faecalis* divergem dos resultados encontrados por Vilela (2009), que verificou que quatro isolados de Enterococos apresentam um perfil de sensibilidade semelhante entre eles quando expostos aos mesmos antibióticos (Cloranfenicol, Penicilina, Eritromicina, Teicoplanina, Ciprofloxacina e Tetraciclina). O autor ainda afirma que os isolados apresentam sensibilidade à Ampicilina, concordando com o resultado apresentado no presente estudo.

Segundo Campos (2012), a bactéria *E. faecalis* apresenta resistência intrínseca à classe dos antibióticos Ceftazidima e Cefalotina. Contudo, no presente estudo pôde-se observar que o microrganismo mostrou-se sensível às dosagens utilizadas desses antimicrobianos.

5.3.8 *Streptococcus mutans*

A bactéria *S. mutans* mostrou-se sensível à Amoxicilina/Ác. Clavulânico, Amicacina, Ampicilina, Ampicilina/Sulbactam, Azitromicina, Ceftazidima, Cefaclor, Cefazolina, Ciprofloxacina, Claritromicina, Cloranfenicol, Cefepime, Ceftriaxona, Cefotaxima, Doxiciclina, Eritromicina, Estreptomicina, Gentamicina, Imipenem, Levofloxacina, Meropenem, Moxifloxacina, Minociclina, Norfloxacina, Ofloxacina, Oxacilina, Polimixina B, Piperacilina/Tazobactam, Rifampicina, Sulfazotrim, Teicoplanina, Tetraciclina, Tobramicina,

Trimetoprima e Vancomicina. Mostrou-se resistente (R) aos antibióticos Aztreonam, Bacitracina, Cefoxitina, Ác. Nalidíxico e Optoquina-o-pneumococo. E, por fim, obteve resistência intermediária (I) à Cefalotina, Nitrofurantóina e Penicilina (Tabela 10).

A bactéria *S. mutans* é comumente conhecida em consultórios odontológicos, visto que bactéria coloniza cavidades orais por meio do mecanismo de adesão formando um biofilme bacteriano. Esses microrganismos podem metabolizar o açúcar e formar ácidos que corroem o mineral dentário causando lesões superficiais iniciais (KRZYŚCIAK et al., 2014).

Chaves et al. (2022) estudaram a presença de *S. mutans* resistente a antimicrobianos em mulheres com obesidade/sobrepeso atendidas em um núcleo de odontologia, onde foram analisadas amostras de 16 mulheres em unidade de atendimento odontológico. Os autores confirmaram a presença da bactéria em três pacientes, das quais o microrganismo foi isolado e apenas uma amostra apresentou resistência aos antibióticos Cefotaxima, Ceftriaxona e Clindamicina. Estes resultados divergem dos obtidos no presente estudo, uma vez que a cepa de *S. mutans* utilizada mostrou-se sensível sob os efeitos desses antimicrobianos.

Tabela 10 – Resultados do antibiograma realizado frente à bactéria *Streptococcus mutans*.

Antimicrobiano	DH (mm)	CIM (µg/mL)	Classificação (R < I > S)	Antimicrobiano	DH (mm)	CIM (µg/mL)	Classificação (R < I > S)
AMC 30	37	13-18	S	GEN-10	24	12-15	S
AMI-30	30	14-17	S	IPM-10	37	13-16	S
AMP-10	35	28-29	S	LVX-5	31	13-17	S
ASB 20	38	-	S	MER-10	23	-	S
ATM-30	-	15-22	R	MFX-5	39	-	S
AZI-15	40	13-18	S	MIN-30	25	14-19	S
bac	-	8-13	R	NAL-30	-	13-19	R
CAZ-30	23	14-18	S	NIT-300	15	14-17	I
CFC-30	22	14-18	S	NOR-10	15	12-17	S
CFL-30	16	14-18	I	OFX-5	26	12-16	S
CFO-30	11	14-18	R	OPT	-	13-17	R
CFZ-30	20	14-18	S	OXA-1	37	10-13	S
CIP-5	27	15-21	S	PEN-10	24	19-28	I
CLA-15	32	16-21	S	POL-300	12	8-12	S
CLO-30	24	17-21	S	PPT 110	39	-	S
CPM-30	25	21-24	S	RIF-5	39	16-20	S
CRO-30	35	24-27	S	SUT-25	15	-	S

CRX-30	33	14-18	S	TEC-30	25	10-14	S
CTX-30	28	25-28	S	TET-30	24	14-19	S
DOX-30	38	12-16	S	TOB-10	15	12-15	S
ERI-15	40	15-21	S	TRI-5	20	10-16	S
EST-10	17	11-15	S	VAN-30	12	9-12	S

DH = Diâmetro do halo de inibição. CIM = Concentração Inibitória Mínima, de acordo com a CLSI (2022).

R = Resistente. I = Intermediário. S = Sensível.

5.3.9 *Staphylococcus epidermidis*

A bactéria *S. epidermidis* mostrou-se resistente (R) à Aztreonam, Azitromicina, Bacitracina, Cefoxitina, Cefepime, Ceftriaxona, Cefotaxima, Eritromicina, Minociclina, Ác. Nalidíxico, Optoquina-o-pneumococo, Oxacilina e Penicilina. E mostrou sensibilidade (S) para Amoxicilina/Ác. Clavulânico, Amicacina, Ampicilina, Ampicilina/Sulbactam, Cefaclor, Cefalotina, Cefazolina, Ciprofloxacina, Claritromicina, Cloranfenicol, Cefuroxima, Doxiciclina, Estreptomicina, Gentamicina, Imipenem, Levofloxacino, Moxifloxacino, Meropenem, Moxifloxacina, Nitrofurantoína, Norfloxacina, Ofloxacina, Polimixina B, Piperacilina/Tazobactam, Rifampicina, Sulfazotrim, Teicoplanina, Tetraciclina, Tobramicina, Trimetoprima e Vancomicina. E, por fim, apresentou resistência intermediária frente à Ceftazidima (Tabela 11).

Tabela 11 – Resultados do antibiograma realizado frente à bactéria *Staphylococcus epidermidis*.

Antimicrobiano	DH (mm)	CIM (µg/mL)	Classificação (R < I > S)	Antimicrobiano	DH (mm)	CIM (µg/mL)	Classificação (R < I > S)
AMC 30	31	13-18	S	GEN-10	40	12-15	S
AMI-30	30	14-17	S	IPM-10	21	13-16	S
AMP-10	22	28-29	S	LVX-5	32	13-17	S
ASB 20	21	-	S	MER-10	27	-	S
ATM-30	-	15-22	R	MFX-5	28	-	S
AZI-15	-	13-18	R	MIN-30	13	14-19	R
bac	-	8-13	R	NAL-30	-	13-19	R
CAZ-30	15	14-18	I	NIT-300	26	14-17	S
CFC-30	26	14-18	S	NOR-10	30	12-17	S
CFL-30	31	14-18	S	OFX-5	26	12-16	S

CFO-30	-	14-18	R	OPT	-	13-17	R
CFZ-30	40	14-18	S	OXA-1	13	10-13	R
CIP-5	25	15-21	S	PEN-10	16	19-28	R
CLA-15	35 CM	16-21	S	POL-300	15	8-12	S
CLO-30	32	17-21	S	PPT 110	38	-	S
CPM-30	-	21-24	R	RIF-5	26	16-20	S
CRO-30	-	24-27	R	SUT-25	34	-	S
CRX-30	29	14-18	S	TEC-30	22	10-14	S
CTX-30	25	25-28	R	TET-30	30	14-19	S
DOX-30	26	12-16	S	TOB-10	37	12-15	S
ERI-15	12	15-21	R	TRI-5	25	10-16	S
EST-10	25	11-15	S	VAN-30	20	9-12	S

DH = Diâmetro do halo de inibição. CIM = Concentração Inibitória Mínima, de acordo com a CLSI (2022).

R = Resistente. I = Intermediário. S = Sensível. CM = Clones Multirresistentes.

Os estudos realizados por Serafim et. al. (2018), mostram que a bactéria *S. epidermidis* apresentou 100% de resistência frente aos antimicrobianos Penicilina e Ampicilina; Oxacilina - 80%; Eritromicina - 69,57%; Sulfametoxazol/Trimetoprim – 68%; e Clindamicina - 58,33%. Os resultados encontrados no presente estudo estão de acordo com os dados de Serafim et al. para os antibióticos Penicilina, Oxacilina e Eritromicina. Já em relação aos testes de sensibilidade, os autores relataram que a cepa se mostrou sensível frente à: Linezolida, Minociclina e Tetraciclina - 100%; Vancomicina - 92%; Daptomicina - 84%; e Rifampicina - 80%. Esses dados corroboram os resultados obtidos no presente estudo, visto que a bactéria também se mostrou sensível à Tetraciclina, Rifampicina e Vancomicina. Contudo, os estudos divergem quanto ao antimicrobiano Minociclina, que no estudo de Serafim et al. (2018), a bactéria mostrou certa sensibilidade e neste presente estudo mostrou-se resistente.

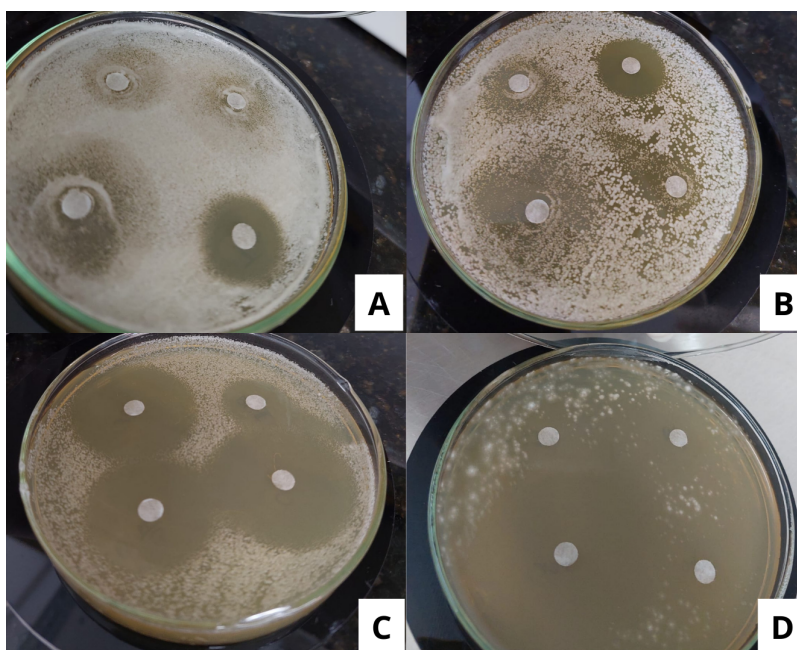
5.4 ENSAIOS ANTIFÚNGICOS

Nos testes utilizando antifúngicos comerciais, as espécies fúngicas *C. parapsilosis* e *A. brasiliensis* mostraram-se sensíveis a todos os antimicrobianos testados (Figura 22). Já os fungos *C. tropicalis* e *C. albicans* mostraram-se resistentes a pelo menos dois dos antifúngicos testados. *C. albicans* e *C. tropicalis* mostraram-se sensíveis ao Fluconazol e apresentaram resistência frente ao Itraconazol, Terbinafina e Cetoconazol.

Alves et al. (2010) verificaram a sensibilidade a antifúngicos de isolados clínicos vaginais de *Candida sp.* e observaram que todos mostraram-se sensíveis ao antifúngico Fluconazol, com concentrações inibitórias mínimas para 50% das amostras de 0,5 µg/mL e para 90% das amostras de 0,4 µg/mL. Este resultado está de acordo com o observado no presente estudo, onde a sensibilidade frente a este antifúngico também foi observada para leveduras desse gênero.

De acordo com o estudo de Menezes et al. (2009), onde avaliou-se a resistência a antifúngicos de cepas de *C. tropicalis* isoladas no Estado do Ceará, algumas cepas mostram-se resistentes ao Fluconazol e a outros antifúngicos comerciais. Contudo, o estudo avaliou 188 cepas de *C. tropicalis* isoladas de candidemias e somente uma mostrou-se resistente ao Fluconazol

Figura 22 - Testes com antifúngicos comerciais frente à *Candida albicans* (A); *Candida tropicalis* (B); *Candida parapsilosis* (C); e *Aspergillus brasiliensis* (D).



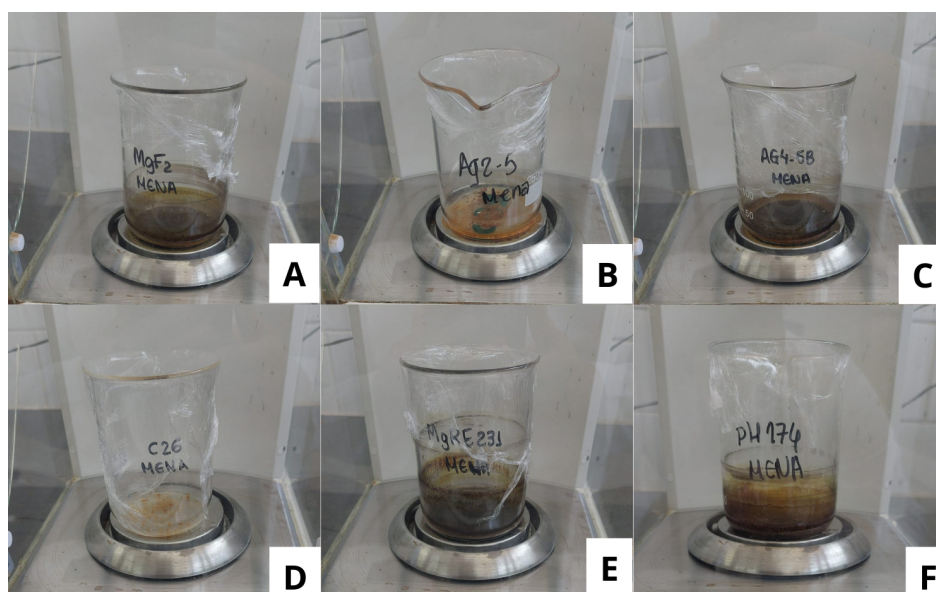
Fonte: Acervo pessoal (2023).

5.5. OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS

Após o cultivo dos fungos endofíticos *Aspergillus niger* MgF2; *Phyllosticta fallopiae* Ag2-5; *Fusarium continuum* Ag4-5B; *Alternaria sp.* C26; *Aspergillus niger* MgRE231 e

Aspergillus niger Ph174, foram obtidos os extratos fúngicos (Figura 23), cujos rendimentos estão apresentados na Tabela 13.

Figura 23 - Extratos de fungos endofíticos isolados de plantas Amazônicas. A = *Aspergillus niger* MgF2; B = *Phyllosticta fallopiae* Ag2-5; C = *Fusarium continuum* Ag4-5B; D = *Alternaria* sp. C26; E = *Aspergillus niger* MgRE231; F = *Piper hispidum* Ph174.



Fonte: Acervo pessoal (2023).

Tabela 12 - Rendimento dos extratos de fungos endofíticos isolados de plantas amazônicas.

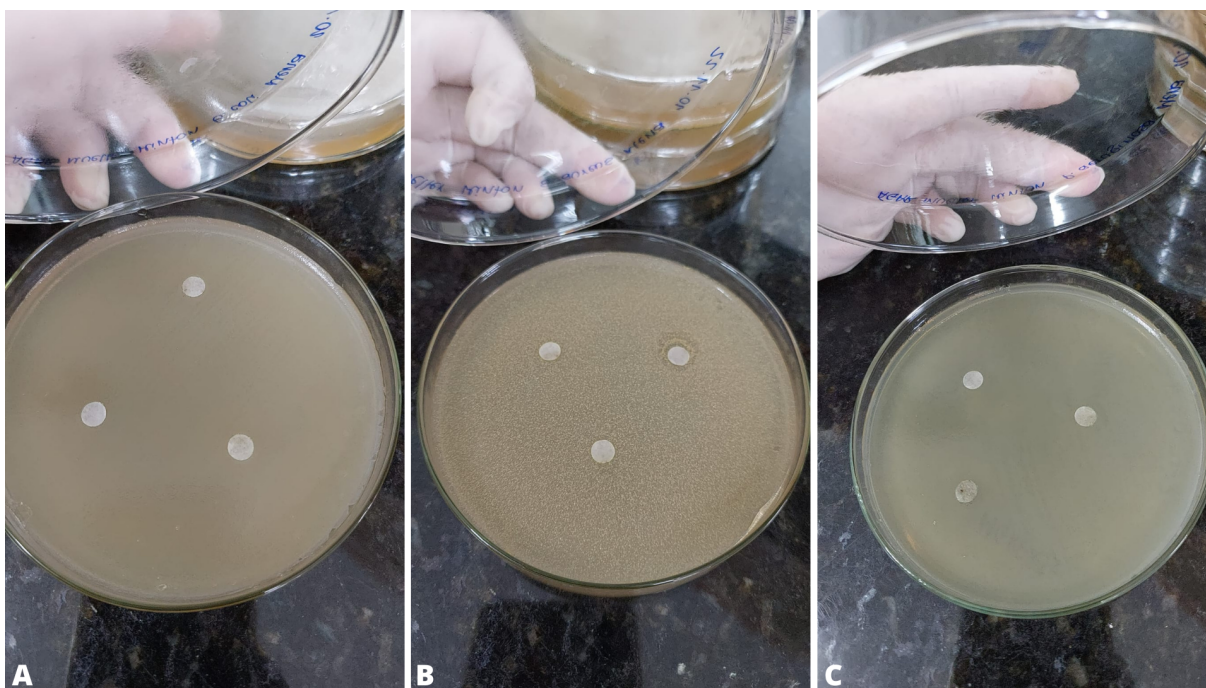
Fungos Endofíticos	Rendimento (mg)
<i>Alternaria</i> sp. C26	640
<i>Fusarium continuum</i> Ag4-5B	740
<i>Aspergillus niger</i> MgF2	680
<i>Aspergillus niger</i> MgRE231	770
<i>Phyllosticta fallopiae</i> Ag2-5	560
<i>Piper hispidum</i> Ph174.	480

5.6. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS EXTRATOS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS CONTRA CEPAS RESISTENTES

Nos testes de atividade antimicrobiana dos extratos de fungos endofíticos foram utilizadas as cepas padrão *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* e *Candida tropicalis*, uma vez que estes microrganismos apresentaram resistência a pelo menos 3 dos antimicrobianos comerciais avaliados nos antibiogramas.

Após a realização dos testes de atividade antimicrobiana dos extratos de fungos endofíticos isolados de plantas Amazônicas, pôde-se observar que os extratos não apresentaram os efeitos esperados na inibição do crescimento das cepas comerciais, visto que os halos de inibição não foram formados (Figuras 24 e 25).

Figura 24 - Teste de atividade antimicrobiana dos extratos de fungos endofíticos frente às cepas bacterianas comerciais resistentes. A = *Escherichia coli*; B = *Staphylococcus aureus*; C = *Pseudomonas aeruginosa*.

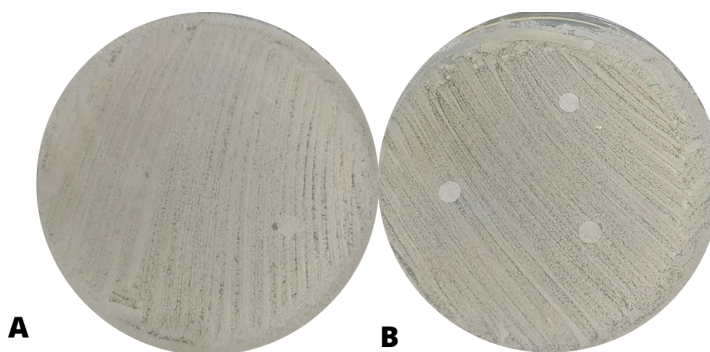


Fonte: Acervo pessoal (2023).

De acordo com Chapla e colaboradores (2013), fungos endofíticos geram produtos naturais que apresentam um amplo espectro de atividades biológicas, como: antimicrobiana, antiparasitária, neuroprotetora, antioxidante, antidiabética, propriedades imunossupressoras, antiviral, anticolinesterásica, antineoplásicos e citotóxicos.

Nos estudos de Souza et al. (2021), com a avaliação da atividade antimicrobiana de fungos isolados de *Ampelozizyphus amazonicus* Ducke (saracura mirá), notou-se que os extratos de linhagens de fungos endofíticos F14, F15 e F16, testadas frente aos microrganismos patogênicos *E. coli*, *S. aureus* e *C. albicans* formaram halos de inibição.

Figura 25 - Teste de atividade antimicrobiana dos extratos de fungos endofíticos frente às cepas fúngicas comerciais resistentes. A = *Candida albicans*; B = *Candida tropicalis*;



Fonte: Acervo pessoal (2023).

Souza et al. (2004), avaliaram a atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da Amazônia: *Palicourea longiflora* e *Strychnos cogens* Bentham. Dentre as 79 linhagens de fungos endofíticos selecionadas para a realização dos testes, 19 apresentam efeitos contrários ao esperado contra um ou mais organismos-teste e as espécies *C. albicans* e *Trichoderma sp.* não foram inibidos quando submetidos aos efeitos de metabólitos de linhagens fúngicas. Além disso, foi verificado que, em alguns casos, os efeitos sob os fungos patogênicos tiveram efeitos contrários, quando no lugar de inibir o crescimento fúngico, causaram sua maior propagação.

E, por fim, nos estudos realizados por Batista et al. (2018) com o isolamento e avaliação da atividade antimicrobiana de fungos endofíticos de açaizeiro, verificou-se a atividade antimicrobiana dos endófitos R13 e C4, frente a bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, sendo consideradas pelo autor como atividades de alta intensidade, dado que os halos formados apresentavam 20 e 14 mm, respectivamente.

O fato de que os extratos de fungos endofíticos avaliados no presente estudo não apresentaram atividade frente às cepas patogênicas avaliadas pode ser explicado por diferentes fatores, como o método utilizado para o cultivo fúngico e para a obtenção do extrato, além do fato de que as cepas se mostraram resistentes a antibióticos comerciais e, portanto, são menos susceptíveis à ação de substâncias antimicrobianas.

6 CONCLUSÕES

A partir da realização deste estudo, pôde-se observar a presença de três bactérias patogênicas (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*) e dois fungos patogênicos (*Candida albicans* e *Candida tropicalis*) resistentes aos fármacos comerciais.

Os extratos de fungos endofíticos isolados de plantas amazônicas avaliados (*Aspergillus niger* MgF2, *Phyllosticta fallopiae* Ag2-5, *Fusarium continuum* Ag4-5B, *Alternaria sp.* C26, *Aspergillus niger* MgRE231 e *Piper hispidum* Ph174) não apresentaram os efeitos esperados na inibição do crescimento das cepas comerciais resistentes.

Os fungos endofíticos utilizados para a produção dos extratos com atividade antimicrobiana ficaram armazenados por muito tempo e, possivelmente, perderam a capacidade de produzir a substância.

Os antimicrobianos que mostraram-se menos eficientes frente às cepas bacterianas testadas foram Vancomicina, Oxacilina e Teicoplanina.

Estes resultados contribuem para a verificação do grau de vulnerabilidade em que os microrganismos patogênicos se encontram quando submetidos à ação dos fármacos, além de ser uma ótima maneira para monitorar a evolução da resistência bacteriana.

REFERÊNCIAS

Artigo:

ALMIRANTE, B. Epidemiology, risk factors, and prognosis of *Candida parapsilosis* bloodstream infections: case-control population-based surveillance study of patients in Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 5, p. 1681-5, 2006.

Artigo:

ÁLVARES, C. A.; SVIDZINSKI, T. I. E.; CONSOLARO, M. E. L.; CANDIDÍASE VULVOVAGINAL: FATORES PREDISPOONENTES DO HOSPEDEIRO E VIRULÊNCIA DAS LEVEDURAS. Centro Universitário de Maringá. Curso de Especialização em Análises Clínicas. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v. 43, n. 5, p. 319-327. Outubro, 2007.

Artigo:

ALVES, I. A.; DE CAMARGO, F. P.; GOULART, L. S. Identificação por PCR e sensibilidade a antifúngicos de isolados clínicos vaginais de *Candida sp.* **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 43(5):575-579, set-out, 2010.

Artigo:

ALVES, D. M., EDELWEISS, M. K., & Botelho, L. J. (2016). Infecções comunitárias do trato urinário: prevalência e susceptibilidade aos antimicrobianos na cidade de Florianópolis. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**, 11(38), 1-12.

Texto da internet:

ANTUNES, R. M. P.; LIMA, E. O.; PEREIRA, M. S.V.; CAMARA, C. A.; ARRUDA, T. A.; CATÃO, R. M. R.; BARBOSA, T. P.; BACILLUS SUBTILIS: O QUE É E QUAIS OS BENEFÍCIOS PARA A SAÚDE HUMANA. COANA. Probióticos, Saúde humana. 2021. Disponível em: <<https://coana.com.br/bacillus-subtilis/>> Acesso em: 18/11/2021.

Texto da internet:

BACTÉRIAS MAIS RESISTENTES: O PERIGOSO EFEITO COLATERAL DA PANDEMIA DE CORONAVÍRUS. BBC News Brasil. São Paulo, 2020. Disponível em: <<https://www.bbc.com/portuguese/internacional-55558176>> Acesso em: 09/11/2021.

Monografia, Tese, Dissertação:

BARBEDO, L. S. COMPARAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES APLICADOS AO COMPLEXO *Candida parapsilosis*. Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas. Tese de Doutorado. Rio de Janeiro, 2015.

Artigo:

BATISTA, B. N.; RAPOSO, N. V. de M.; SILVA, I. R. da. Isolamento e avaliação da atividade antimicrobiana de fungos endofíticos de açaizeiro. Universidade do estado do Amazonas. Escola Superior de Tecnologia. **Revista Fitos**. Manaus, Am, Brasi. 2018.

Artigo:

CHAVES, D. S.; FONTES, M. A.; DIAS, K. S. P. A.; AMORIM, A.T.; PORTELA, F. S. Presença de *Streptococcus mutans* resistente a antimicrobianos em mulheres com obesidade/sobrepeso atendidas em um núcleo de odontologia. Faculdade Independente do Nordeste. Vitória da Conquista - BA. 2022

Texto da internet:

CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. m100-s21th. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA., 2011.

Artigo:

COBERLINNI, L.G. Aborto por *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus niger* em bovinos no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Pesquisa Veterinária**. v. 23., Rio de Janeiro, RJ., 2003,

Artigo:

COKER, C; POORE CA, LI X, M. HLT. Pathogenesis of *Proteus mirabilis* Urinary Tract Infection. **Journal Microbes and Infection** . 2000 Oct 2(12:1497-505.

Artigo:

COYKENDALL, A. L. Classification and identification of the viridans streptococci. **Clinical Microbiology Reviews**, 3: 315-328, 1989.

Artigo:

CUSSOLIM, P. A.; SALVI JUNIOR, A.; MELO, A. L.; DE MELO, A. Mecanismos de resistência do *Staphylococcus aureus* a antibióticos. **Revista Faculdades do Saber**, 06(12):831-843, 2021.

Monografia, Tese, Dissertação:

DA FONSECA, M. R. B.; Caracterização do fenótipo mutador de isolados de *Proteus mirabilis*. Universidade de São Paulo. Dissertação de Mestrado. Instituto de Ciências Biomédicas. São Paulo, 2016.

Monografia, Tese, Dissertação:

DA MATA, P. T. G.; ABEGG, M. A. Descrição de caso de resistência a antibióticos por *Pseudomonas aeruginosa*. Universidade Paranaense. Programa de Especialização em Microbiologia Aplicada. Porto Alegre, Toledo, 2007.

Artigo:

DE ABREU, J. A. S.; ROVIDA, A. F. da S.; PAMPHILE, J. A.. FUNGOS DE INTERESSE: APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS. **Revista UNINGÁ Review**. Universidade Estadual de Maringá - UEM. Vol.21,n.1,pp.55-59. Maringá - PR, Brasil, 2014.

Monografia, Tese, Dissertação:

DE CAMPOS, A. C. F. B.; SOUZA, N. R.; DA SILVA, P. H.C.; SANTANA, Â. P. RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA EM ENTEROCOCCUS FAECALIS E ENTEROCOCCUS FAECIUM ISOLADOS DE CARÇAÇAS DE FRANGO. Universidade de Brasília. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. Brasília-DF, 2012.

Monografia, Tese, Dissertação:

DELGADO, V. S. R. Evolução do perfil de suscetibilidade aos antibióticos de isolados bacterianos em uroculturas do laboratório da Cintramédica em dois períodos distintos (2014 e

2018). Universidade de Lisboa. Faculdade de Ciências. Departamento de Biologia Vegetal. Mestrado em Microbiologia Aplicada. Lisboa, Portugal, 2020.

Monografia, Tese, Dissertação:

DE OLIVEIRA, F. H. P. C.; FISILOGIA DE *Bacillus subtilis* R14: CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE LIPOPEPTÍDEOS EM CULTIVOS DESCONTÍNUOS. Universidade Federal de Pernambuco. Pós-graduação em Biotecnologia de Produtos Bioativos. Dissertação de Mestrado. Recife, 2006.

Monografia, Tese, Dissertação:

DE OLIVEIRA, J. S.. SENSIBILIDADE A ANTIFÚNGICOS, ATIVIDADE EXOENZIMÁTICA E PRODUÇÃO DE BIOFILME POR CEPAS DE *Candida tropicalis* DE ORIGEM ANIMAL. Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Médica. Dissertação de Mestrado. Fortaleza, 2013.

Monografia, Tese, Dissertação:

DE PAULA, P. L. M. CARACTERIZAÇÃO TECNOLÓGICA DE *Enterococcus faecium* ISOLADOS DE QUEIJOS ARTESANAIS. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de pós-graduação em Tecnologia de Alimentos. Dissertação de Mestrado. Londrina, 2019.

Monografia, Tese, Dissertação:

DE SOUZA, A. Q. L.; DE SOUZA, A. D. L.; ASTOLFI FILHO, S; BELÉM PINHEIRO, Maria Lúcia; SARQUIS, Maria Inez de Moura; PEREIRA, José Odair. Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da amazônia: *Palicourea longiflora* (aubl.) rich e *Strychnos cogens* bentham. Acta Amazônica. Universidade Federal do Amazonas. Fundação Oswaldo Cruz – RJ. Manaus, Am. 2004.

Legislação:

DESCRIÇÃO DOS MEIOS DE CULTURA EMPREGADOS NOS EXAMES MICROBIOLÓGICOS. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Módulo IV. 1ª edição – 2010.

Monografia, Tese, Dissertação:

DOS SANTOS, A. L.; SANTOS, D.; DE FREITAS, C. C.; FERREIRA, B. L A.; AFONSO, I.

F.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C.; STAPHYLOCOCCUS AUREUS: VISITANDO UMA CEPA DE IMPORTÂNCIA HOSPITALAR. Universidade Federal Fluminense. Programa de Pós-graduação em Patologia da Faculdade de Medicina. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v. 43, n 6, p. 413-423. Dezembro, 2007.

Artigo:

EESA, M. S.; NOOMI, B. S.; ADEE, S. A. Diagnostic study of skin lesions and bacterial wound infections in sheep. **EurAsian Journal of BioSciences**. March, 2020.

Texto da internet:

EMB TEAGUE AGAR. Laboclin. Disponível em:
<https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2019/05/EMB_Teague_Agar_540149.pdf>
> Acesso em: 22 de Fevereiro de 2023.

Monografia, Tese, Dissertação:

FIGUEREDO, Ana Catarina Fernandes; DE FREITAS, Natália Lopes; DALMOLIN, Tanise Vendruscolo; BRANDÃO, Fabiana; PSEUDOMONAS AERUGINOSA: PANORAMA DO PERFIL DE RESISTÊNCIA AOS CARBAPENÊMICOS NO BRASIL. Universidade de Brasília. Departamento de Farmácia. Faculdade de Saúde. Brasília, 2021.

Monografia, Tese, Dissertação:

FIGUEIRÊDO, Francileide Vieira. SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS E RESISTÊNCIA PLASMIDIAL DE CEPAS DE SALMONELLA spp ISOLADAS DE DOIS ESTUÁRIOS DO ESTADO DO CEARÁ - BRASIL. Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho. Centro de Agricultura da UNESP. Jaboticabal, São Paulo, 2008.

Artigo:

FLEMMING, H. C.; WINGENDER, J. The biofilm matrix. **Nature Reviews Microbiology**, 8: 623-633, 2010.

Artigo:

FURLANETO M.C.; ROTA J.F., QUESADA R.M.B.; FURLANETO-MAIA L.; RODRIGUES R. O. DA S; OLIVEIRA M.T.; SERPA R.;FRANÇA E.J.G; Species distribution and in vitro fluconazole susceptibility of clinical Candida. *Rev Patol Trop*. Vol. 42

(1): 49-55. jan.-mar. 2013 55 isolates in a Brazilian tertiary-care hospital over a 3-year period. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 44:595-599, 2011.

Monografia, Tese, Dissertação:

GELATTI, L. C.; BONAMIGO, R. R.; BECKER, A. P.; D'AZEVEDO, P. .. STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTES À METICILINA: DISSEMINAÇÃO EMERGENTE NA COMUNIDADE. Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre - UFCSPA. Anais Brasileiros de Dermatologia. Porto Alegre, 2009.

Texto da internet:

GÊNERO *Streptococcus*. UNESP. Disponível em: <https://www1.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/MicrobiologiaeImunologia/aula_streptococcus.pdf> Acesso em: 25 de Fevereiro de 2023.

Artigo:

GHINI, R.; KIMATI, H.; RESISTÊNCIA DE FUNGOS A FUNGICIDAS. 2 Edição. **Editora Franco Ferreira de Moraes**. Embrapa Meio Ambiente. Jaguariúna - SP, 2002.

Artigo:

GOMES C. L.; CAVALCANTE J.E., CUNHA F.A.; AMORIM, L.N.; MENEZES, E. A. Identificação e perfil de sensibilidade de *Candida* spp. isoladas de urina de pacientes com candidúria em Iguatu-Ceará. **Revista brasileira de análises clínicas**. 42: 223-225, 2010.

Artigo:

GOULART, T. D.; DA SILVA, J. L. A. Perfil de sensibilidade e resistência antimicrobiana para infecção de trato urinário em idosos institucionalizados. Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC. 2015.

Monografia, Tese, Dissertação:

GURGEL, R. S. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA, ANTIOXIDANTE E CITOTÓXICA DE METABÓLITOS DE FUNGOS ENDOFÍTICOS ISOLADOS DE ESPÉCIES AMAZÔNICAS. Universidade do Estado do Amazonas. Programa de PósGraduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia. Manaus - AM, 2020.

Artigo:

HAUSDORFF W. P.; BRYANT J.; PARADISO P. R.; SIBER G.R. Which pneumococcal serogroups cause the most invasive disease: implications for conjugate vaccine formulation and use, Part I. **Clinical Infectious Diseases**. 2000;30:100-21.

Artigo:

KAMEL, F. H.; JARJES, S. F. Essentials of Bacteriology and Immunology. Hawler Polytechnic University. Hawler Technical Health College. 2015.

Livro:

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; SCHRECKENBERGER, Paul C.; **DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO: TEXTO E ATLAS COLORIDO**. 5a Edição. MEDSI Editora Médica Científica Ltda. Belo Horizonte, 2001.

Artigo:

KRZYŚCIAK, W., JURCZAK, A., KOŚCIELNIAK, D., BYSTROWSKA, B., & SKALNIAK, A. (2014). The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology, 33(4), 499–515. <https://doi.org/10.1007/s10096-013-1993-7>.

Artigo:

LIMA NETO, G. A.; KAFFASHI, S.; LUIZ, W.T.; FERREIRA, W. R.; DIAS DA SILVA, Y. S. A.; PAZIN, G. V.; VIOLANTE, I. M. P. QUANTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE DE ALGUMAS PLANTAS SELECIONADAS DO CERRADO DE MATO GROSSO. Universidade de Cuiabá. Faculdade de Farmácia. Mato Grosso. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** , Campinas, v.17, n.4, supl. III, p.1069-1077, 2015.

Artigo:

LOCKHART, S. R. et al. Geographic distribution and antifungal susceptibility of the newly described species *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* in comparison to the closely related species *Candida parapsilosis*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 46, n. 6, p. 2659-64,2008.

Livro:

MADIGAN, M. T; MARTINKO, J. M; DUNLAP, P. V; CLARK, D. P. MICROBIOLOGIA DE BROCK. 12 Edição. **Editora Artmed**. Porto Alegre - Rio Grande do Sul, 2010.

Artigo:

MEDRANO, D. J. A. et al. Candidemia in a Brazilian hospital: the importance of *Candida parapsilosis*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**. S. Paulo, v. 48, n. 1, p. 17-20, 2006.

Livro:

MELO, V. V.; DUARTE, I. de P.; SOARES, A. Q. Guia de Antimicrobianos. Universidade Federal de Goiás. Hospital das Clínicas. Coordenação de Farmácia. Residência Multiprofissional em Saúde. Goiânia, 2012.

Artigo:

MENEZES, E. A.; JÚNIOR, A. A. de V.; CUNHA, F. A.; CUNHA, M. C. dos S. O.; BRAZ, B. H. L.; CAPELO, L. G.; SILVA, C. L. F.; IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E SUSCETIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE CANDIDA PARAPSILOSIS ISOLADAS NO CEARÁ, BRASIL. Universidade Federal do Ceará. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 48, n. 6, p. 415-420. Dezembro, 2012.

Artigo:

MACHIDA, M.; GOMI, K.; *Aspergillus*: molecular biology and genomics. **Caister Academic Press**, 2010.

Artigo:

MENEZES E. A.; MARINHO J. A. S.; ÂNGELO M. R. F.; CUNHA M. C. S. O; CUNHA F. A.; VASCONCELOS A. A. Isolation and Antifungal Susceptibility Testing of *Trichosporon asahii* In Ceará, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**. São Paulo 54: 1-3, 2012.

Artigo:

MENEZES E. A.; MENDES L. G., CUNHA F. A. Resistência a antifúngicos de *Candida tropicalis* isoladas no Estado Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 42: 1-2, 2009.

Livro:

MOLINARO, E. M.; CAPUTO, L. F. G; AMENDOEIRA, M. R. R. CONCEITOS E MÉTODOS PARA A FORMAÇÃO DE PROFISSIONAIS EM LABORATÓRIOS DE SAÚDE. Volume 1. Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio. Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, 2009.

Artigo:

MORATO E.P.; LEOMIL L; BEUTIN L; KRAUSE G; MOURA R.A; CASTRO P. A. F; DOMESTIC CATS CONSTITUTE A NATURAL RESERVOIR OF HUMAN ENTEROPATHOGENIC ESCHERICHIA COLI TYPES. **Zoonoses Public Health**. 2009 Jun; 56(5):229-37.

Monografia, Tese, Dissertação:

MORAES, M. H. D.; MENTEN, J. O. M. ; J. C. G. & C. A. Alves; CONTROLE QUÍMICO DE FUSARIUM MONILIFORME EM SEMENTES DE MILHO: METODOLOGIA DE AVALIAÇÃO E EFEITOS SOBRE A QUALIDADE FISIOLÓGICA. Universidade do Estado de São Paulo. Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola. Piracicaba, 2003.

Artigo:

MOREIRA, J. L. Bezzerra; DE CARVALHO, C. B. M.; FROTA, C. C. VISUALIZAÇÃO BACTERIANA E COLORAÇÕES. **Imprensa Universitária**, 2015.

Artigo:

MOTTA A. L., ALMEIDA G. M.D; ALMEIDA-JÚNIOR J. N.; BURATTINI M. N.; ROSSI F. Candidemia epidemiology and susceptibility profile in the largest Brazilian teaching hospital complex. **Brazilian Journal of Infectious Diseases** . 14:441-448, 2010.

Artigo:

MOTTA, M. C. da; SPINELLI, M. O.; DE GODOY, C. M. dos S. C.; DA CRUZ; R. J; BORTOLATTO, J.. DETECÇÃO DE PROTEUS MIRABILIS NAS FEZES DE CAMUNDONGOS SPF. Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Laboratório de Controle de Qualidade Genética e Sanitária Animal. **RESBICAL**. São Paulo, v.1 n.3, p. 246-250, 2012.

Monografia, Tese, Dissertação:

MOURA R. A. ESTUDO DAS RELAÇÕES CLONAIAS ENTRE AMOSTRAS DE ESCHERICHIA COLI ATÍPICA DE ORIGEM ANIMAL E HUMANA [tese]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas; 2009. 152 p.

Artigo:

NARCISO, A. et al. Susceptibilidade aos antibióticos de bactérias responsáveis por cistites não complicadas: estudo comparativo dos isolados de 2008 e 2010. **Acta Urológica**, v. 1, n. Março, p. 16–21, 2011.

Artigo:

NASCIMENTO-CARVALHO CM, FREITAS-SOUZA LS, MORENO-CARVALHO OA, ALVES NN, CALDAS RM, BARBERINO MG, ET AL. Cepas invasivas de pneumococo isoladas de crianças e adolescentes em Salvador. **Jornal de Pediatria (Rio J)**. 2003;79:209-14.

Artigo:

NATARO JP, KAPER JB. DIARRHEAGENIC ESCHERICHIA COLI. **Clinical Microbiology Reviews**. 1998 Jan;11(1):142-201.

Artigo:

NEVES, P. R.; MAMIZUKA, E. M.; LEVY, C. E.; LINCOPAN, N.; PSEUDOMONAS AERUGINOSA MULTIRRESISTENTE: UM PROBLEMA ENDÊMICO NO BRASIL. Universidade de São Paulo. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial** .v. 47,n. 4,p. 409-420. Agosto, 2011.

Artigo:

NGUYEN TV, LE VP, LE HC, GIA KN, WEINTRAUB A. DETECTION AND CHARACTERIZATION OF DIARRHEAGENIC ESCHERICHIA COLI FROM YOUNG CHILDREN IN HANOI, VIETNAM. **Journal of Clinical Microbiology**. 2005 Feb;43(2):755-60.

Artigo:

NUCCI M, COLOMBO AL. Candidemia due to *Candida tropicalis*: clinical, epidemiologic, and microbiologic characteristics of 188 episodes occurring in tertiary care hospitals. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease** 58: 77-82, 2007

Artigo:

NUNES, X. P.; DIAS, C. S.; SILVA, Tânia M. Sarmiento. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA “IN VITRO” E DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) DE FITOCONSTITUINTES E PRODUTOS SINTÉTICOS SOBRE BACTÉRIAS E FUNGOS LEVEDURIFORMES. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Paraíba, 2006.

Livro:

OLIVEIRA, S. J. Microbiologia Veterinária, Guia Bacteriológico Prático. Canoas: ULBRA, 2ª Edição, 2000.

Texto da internet:

OMS MOBILIZA PAÍSES CONTRA RESISTÊNCIA MICROBIANA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa, 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2020/oms-mobiliza-paises-contrar-resistencia-microbiana>> Acesso em: 09/11/2021.

Livro:

OPLUSTIL, C. P.; ZOCCOLI, C. M.; TOBOUTI, N. R.; SINTO, S Ikura. PROCEDIMENTOS BÁSICOS EM MICROBIOLOGIA CLÍNICA. 2ª Edição. Editora Sarvier. São Paulo, 2004.

Artigo:

PAMPHILE, J. A.; COSTA, A. T.; ROSSETO, P.; POLONIO, J. C.; PEREIRA, J. D.; AZEVEDO, J. L. Aplicações biotecnológicas de metabólitos secundários extraídos de fungos endofíticos: O caso do *Colletotrichum* sp. **Revista UNINGÁ**. v. 53, n. 1, p. 113-119, 2017.

Artigo:

PFALLER MA, MESSER SA, MOET GJ, JONES RN, CASTANHEIRA M. *Candida bloodstream* infections: comparison of species distribution and resistance to echinocandin and

azole antifungal agents in Intensive Care Unit (ICU) and non-ICU settings in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2008–2009). **International Journal of Antimicrobial Agents**. v. 38, p. 65-69, 2011.

Monografia, Tese, Dissertação:

PARENTE, T. M. L. Análise do perfil de resistência a antibióticos e da ação antimicrobiana da terapia fotodinâmica em isolados ambientais, orais e extra-orais de *Serratia marcescens*. Universidade Federal do Ceará. Curso de Medicina - Campus Sobral. Pós-Graduação em Biotecnologia. Sobral, CE. 2010.

Texto da internet:

POTATO DEXTROSE AGAR. Laborclin. Disponível em: <https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2019/05/POTATO_DEXTROSE_AGAR_12042019.pdf> Acesso em: 25 de Fevereiro de 2023.

Texto da internet:

RESISTÊNCIA MICROBIANA: SAIBA O QUE É E COMO EVITAR. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa, 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2020/resistencia-microbiana-saiba-o-que-e-e-como-evitar>> Acesso em: 09/11/2020.

Artigo:

SANTOS, M. J. A., PORCY, C., & DE OLIVEIRA MENEZES, R. A. Etiologia e perfil de resistência bacteriana em uroculturas de pacientes atendidos em um hospital público de Macapá-Amapá, Brasil. Um estudo transversal. **Revista Diagnóstico e Tratamento**, v. 24. Ed 4, 135. 2019.

Artigo:

SANTOS, N. de Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. Universidade Federal de Santa Catarina. Centro de Ciências Biológicas. Departamento de Microbiologia e Parasitologia. Florianópolis - SC, 2004.

Artigo:

SHEN, S.; SAMARNAYAKE, L. P.; YIP, H. K. In vitro growth, acidogenicity and cariogenicity of predominant human root caries flora. **Journal of Dentistry**, v. 37, p. 667-678, 2004.

Artigo:

SILVA, I. P. Fungos endofíticos: Fonte alternativa a metabólitos secundários de plantas. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, n. 18, p. 3888-3905, 2014.

Artigo:

SILVA, A. A. D. S.; SARAIVA, A. D. S.; DOS SANTOS, D. P. D. C.; DE OLIVEIRA, J. N. Q.; FELIX, M. L. D. S. O USO INDISCRIMINADO DE ANTIMICROBIANOS NO ÂMBITO HOSPITALAR. **Digital Editora**. 2022.

Artigo:

SINGLA, N.; ACHARYA, S.; MARTENA, S.; SINGLA, R. Effect of oil gum massage therapy on common pathogenic oral microorganisms - A randomized controlled trial. **Journal of Indian of Society of Periodontology**. 2014.

Artigo:

SPECIANA, V.; ORLANDELLIA, R. C.; FELBERA, A. C.; AZEVEDO, J. L.; PAMPHILE, J. A.; Metabólitos secundários de interesse farmacêutico produzidos por fungos endofíticos. Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Biotecnologia, Biologia Celular e Genética. Paraná, Brasil, 2014.

Artigo:

SOUZA, C. de O.; MELO, T. R. B.; MELO, C. do S. B.; MENEZES, Ê. M.; DE CARVALHO, A. C.; MONTEIRO, L. C. R.; ESCHERICHIA COLI ENTEROPATOGÊNICA: UMA CATEGORIA DIARREIOGÊNICA VERSÁTIL. REVIEW ARTICLE. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, 2016;

Artigo:

STAHL ML, WILLIAMS FD. Immunofluorescent Evidence of *Proteus mirabilis* Swarm Cell Formation on Sterilized Rat Feces. **Applied and Environmental Microbiology** v. 41, n. 3, p. 801-806, 1981.

Artigo:

TAY, S. T.; NA, S. L.; CHONG, J. Molecular differentiation and antifungal susceptibilities of *Candida parapsilosis* isolated from patients with blood stream infections. **Journal of Medical Microbiology**, v. 58, n. 3, p. 185-91, 2009.

Artigo:

TENG LJ, HSUEH PR, LIAW SJ, HO SW, TSAI JC. Genetic detection of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from children with sporadic diarrhea. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 37, n. 6, p. 327-334, 2004.

Texto da internet:

TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS. Anvisa. Disponível em: <https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controlere/rede_rm/cursos/boas_praticas/modulo5/interpretacao2.htm> Acesso em: 23 de Fevereiro de 2023.

Monografia, Tese, Dissertação:

THEISEN, J. Suscetibilidade De *Staphylococcus epidermidis* à Vancomicina, Rifampicina, Azitromicina e Eritromicina. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Farmácia. Porto Alegre - RS, 2010.

Texto da internet:

TOLEDO, P.; Resistência Microbiana Foi Tema de Mesa Redonda no INCQS. FIOCRUZ: Fundação Oswaldo Cruz, 2019. Disponível em: <<https://portal.fiocruz.br/noticia/resistencia-microbiana-foi-tema-de-mesa-redonda-no-incqs>> Acesso em: 03/11/2021.

Livro:

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 12 Edição. Editora Artmed. Porto Alegre, 2017.

Texto da internet:

TRICHES, G.; Avaliação do Teste de Suscetibilidade ao Antibiótico. Jaleko artmed. 2019. Disponível em:

<<https://blog.jaleko.com.br/avaliacao-do-teste-de-susceptibilidade-ao-antibiotico/>> Acesso em: 08 de Novembro de 2021.

Texto da internet:

TRYPTIC SOY AGAR. Laboclin. Disponível em: <<https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2019/07/TSA.pdf>> Acesso em: 22 de Fevereiro de 2023.

Artigo:

TROFA, D.; GACSER, A.; NOSANCHUK, J. D. *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. **Clinical Microbiology Reviews** , v. 21, n. 4, p. 606-25, 2008.

Texto da internet:

VAIANO, B; **As 12 bactérias mais letais do mundo, segundo a OMS**. Revista Super Interessante. Janeiro de 2020. Disponível em:<<https://super.abril.com.br/saude/as-12-bacterias-mais-letais-do-mundo-segundo-a-oms/>> Acesso em: 19/11/2021.

Artigo:

VARGA, J.; KOCSUBÉ, S.; TÓTH, B.; FRISVAD, J. C.; PERRONE, G.; SUSCA, A.; MEIJER, M.; SAMSON, R. A.; *Aspergillus brasiliensis* sp. nov., a biseriata black A. species with worldwide distribution. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. v. 57, p. 1925-1932. 2007.

Monografia, Tese, Dissertação:

VIANA, P. H. dos R. Resistência Antimicrobiana de *Bacillus subtilis* em Forma Esporulada e Germinativa. Universidade Federal de Uberlândia. Faculdade de Medicina Veterinária. Uberlândia - MG, 2022.

Artigo:

VIEIRA, Ataiza C.; GOMES, Marizoneide C.; FILHO, Maurício Rolo; FILHO, João Eudes; BELLO, Edson José M.; DE FIGUEIREDO, Rosane B.; *Streptococcus pneumoniae*: estudo das cepas isoladas de liquor. **Jornal de Pediatria**. Sociedade Brasileira de Pediatria. Rio de Janeiro, 2007.

Livro:

VIEIRA, D. A. de P.; FERNANDES, N. C. de A. Q. **Microbiologia Geral**. Universidade Federal de Santa Maria. Inhumas - Goiânia, 2012.

Artigo:

VILLAS BOAS, D. F.; LUIZ, J. H. H.; MALPASS, G. R. P.; OKURA, M. H.; DE SOUZA, C. P.; GRANATO, A. C. Microrganismos endofíticos como fonte de compostos de interesse medicinal – uma breve revisão. **Revista Brasileira de Ciência, Tecnologia e Inovação**. 2020.

Monografia, Tese, Dissertação:

VILELA, M. A. Caracterização molecular de isolados bacterianos apresentando mecanismos de resistência a antimicrobianos que atuam na parede celular. Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas. Departamento de Genética. Programa de Pós-graduação em Genética. Recife, 2009.

Artigo:

VOLKE-SEPULVEDA, T.; SALGADO-BAUTISTA, D.; BERGMANN, C.; WELLS, L.; GUTIERREZ-SANCHEZ, G.; FAVELA-TORRES, E. Secretomic insight into glucose metabolism of *Aspergillus brasiliensis* in solid-state fermentation. **Journal of Proteome Research**, v. 15, n. 10, p. 3856-3871, 2016.

Artigo:

VUONG, D., GERKE, C., SOMERVILE, G. A., FISCHER, E. R., OTTO, M. Quorum-Sensing Control of Biofilm Factors in *Staphylococcus epidermidis*. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 188, p. 706-718, 2003.

Artigo:

WELLINGHAUSEN, N.; CHATTERJEE, I.; BERGER, A.; NIEDERFUEHR, A.; PROCTOR, R. A.; KAHL, B. C. Characterization of Clinical *Enterococcus faecalis* Small-Colony Variants. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 47, n. 9, 2009.

Livro:

Winn WJ, Alves S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schrecherberger P, et al. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO: TEXTO E ATLAS COLORIDO. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008. p. 208-25.

Artigo:

YANG, L.; LÜBECK, M.; LÜBECK, P. S. *Aspergillus* as a versatile cell factory for organic acid production. **Fungal Biology Reviews**, v. 3, n. 1, p. 33-49, 2017.

Artigo:

ZHANG, X. Y.; LI, X.; HAN, M. M.; CAI, Z. Y.; GAO, X.; PANG, M. X.; QI, J. H.; WANG, F. Separating and purifying of endophytic fungi from *Ginkgo biloba* and screening of flavonoid-producing strains. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 371, p. 1-6, 2019.