



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

IVYNNA SUELLEN JUSTINO VIDAL

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *STREPTOMYCES*
ISOLADOS DO SOLO DE CAMPINA GRANDE, PB**

CAMPINA GRANDE
2017

IVYNNA SUELLEN JUSTINO VIDAL

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *STREPTOMYCES*
ISOLADOS DO SOLO DE CAMPINA GRANDE, PB**

Trabalho de Conclusão de Curso em
Bacharelado em Ciências Biológicas da
Universidade Estadual da Paraíba, como
requisito à obtenção do Grau de Bacharel em
Ciências Biológicas

Área de concentração: Microbiologia

Orientadora: Prof. Dr.^a Karlete Vania Mendes
Vieira

CAMPINA GRANDE
2017

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

V648a Vidal, Ivynna Suellen Justino.
Avaliação da atividade antimicrobiana de *Streptomyces* isolados do solo de Campina Grande, PB [manuscrito] / Ivynna Suellen Justino Vidal. - 2017.
56 p. : il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2017.

"Orientação: Profa. Dra. Karlete Vania Mendes Vieira, Departamento de Biologia".

1. *Streptomyces*. 2. Bactérias resistentes. 3. Atividade antimicrobiana. 4. Resistência microbiana. I. Título.

21. ed. CDD 579.378

IVYNNA SUELLEN JUSTINO VIDAL

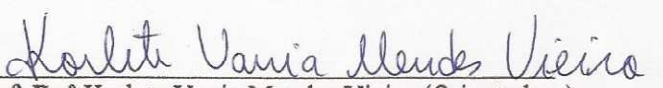
**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *STREPTOMYCES*
ISOLADOS DO SOLO DE CAMPINA GRANDE, PB**

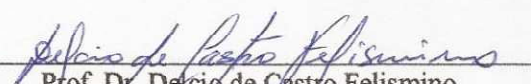
Trabalho de Conclusão de Curso em
Bacharelado em Ciências Biológicas da
Universidade Estadual da Paraíba, como
requisito à obtenção do grau de Bacharel em
Ciências Biológicas

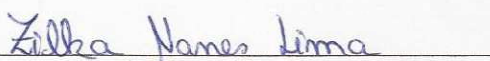
Área de concentração: Microbiologia

Aprovada em: 27/04/2017.

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr.^a Karlete Vania Mendes Vieira (Orientadora)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)


Prof. Dr. Dercio de Castro Felismino
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)


Prof. MSc. Zilka Nanes Lima
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Ao meu pai, mãe e irmã pelo incentivo,
companheirismo e amizade, dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, minha fortaleza!!! Obrigada Senhor por ter me dado força e sabedoria.

À Prof. Dra. Karlete Vânia Mendes Vieira pela orientação, confiança, ensinamentos e amizade.

Aos mais pais Valdete e Nilvan, pelo amor, apoio, inventivo, conselhos, paciência e compreensão durante os meus estudos.

À minha irmã Irla, pelo carinho, amizade e companheirismo.

À minha querida BioG pela amizade, incentivo, força, momentos de desconcentrações, pelas festas (*risos*) e por todos os momentos que passamos juntos durante esses 4 anos de graduação, em especial à minha Dupla (Mayla Aracelli), Fleuriane Lira, Eliene de França, Jaqueline Farias, Raony Jaderson, Mayara e à minha prima de coração (Mikaela Clotilde)!

Às minhas amigas Isabelle e Hyanne, pelo incentivo, força, apoio, e obrigada por estarem há mais de 10 anos presentes em minha vida!

Ao técnico Luiz Augusto do Laboratório de Microbiologia Básica (LMB) da Universidade Estadual da Paraíba, pela amizade, pelas conversas, por ter me acompanhado durante todo o projeto e por estar sempre à disposição.

Ao Prof. Msc. Ivanildo Costa da Silva do Departamento de Geografia da UEPB, pelo auxílio com as Coordenações Geográficas da cidade de Campina Grande, PB.

À Profa. Msc. Roberta Smania Marques pelo auxílio na busca por artigos científicos.

À Prof. Dra. Ana Claudia Dantas de Medeiros por ter cedido o Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos (LABDEM) para o término da pesquisa.

“O desenvolvimento humano depende fundamentalmente da invenção. Ela é o produto mais importante de seu cérebro criativo. Seu objetivo final é o completo domínio da mente sobre o mundo material e o aproveitamento das forças da natureza em favor das necessidades humanas.”

Nikola Tesla

RESUMO

A partir da descoberta das primeiras drogas antimicrobianas, as Sulfas e a Penicilina, iniciou-se uma busca constante para encontrar novos fármacos para o tratamento, pois as bactérias passaram a resistir aos fármacos. Atualmente sabe-se que a automedicação é um dos principais fatores que ocasiona pressão seletiva nas bactérias, favorecendo o surgimento da resistência. Só em 2010, cerca de 70 bilhões de doses de antibióticos foram administrados em todo o mundo. A cada ano nos Estados Unidos, cerca de 2 milhões de pessoas são infectadas por bactérias resistentes. Com o alto índice de infecções no mundo, muitos antibióticos foram desenvolvidos, sendo a maioria deles extraídos das bactérias do gênero *Streptomyces*, que possuem capacidade de liberar metabólitos secundários que mata ou inibe o crescimento microbiano. Elas são Gram positivas, filamentosas e encontradas no solo. Devido ao interesse biotecnológico desse gênero e por possuírem vias biosintéticas conservadas, a presente pesquisa objetiva isolar e testar cepas de *Streptomyces* com atividade antimicrobiana sob bactérias de interesse clínico, na cidade de Campina Grande. Foram coletadas 10 amostras do solo de Campina Grande, em cinco pontos geográficos distintos, as amostras foram submetidas à diluições seriadas (10^{-1} a 10^{-5}), agitadas em vortex e semeadas em placas de Petri com o meio Ágar Kuster-Williams. Após a identificação macromorfológica, as cepas de *Streptomyces* spp. foram isoladas em placas de Petri e posteriormente em tubos inclinados, ambos com o meio Kuster Williams, e em seguida foi realizado o teste de atividade antimicrobiana em 7 cepas de bactérias de interesse clínico. As cepas de *Streptomyces* spp. que apresentaram atividades com halos de inibição igual ou acima de 8 mm foram submetidas à identificação micromorfológica. Foram testadas 21 colônias de *Streptomyces* spp. sob as seguintes bactérias: *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC- 27853), *Escherichia coli* (ATCC-25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC-25923). Foi observado que 9 colônias, ou seja, 42,8% de *Streptomyces* spp. apresentaram atividades antimicrobianas, com halos de inibição entre 8 mm e 17 mm. Uma cepa de *Streptomyces* sp. apresentou atividade em todas as 7 bactérias testadas, possuindo potencial para futuro estudos.

Palavras-Chave: *Streptomyces*. Bactérias resistentes. Atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

From the discovery of the first antimicrobial drugs, Sulfas and Penicillin, a constant search began to find new drugs for the treatment, since the bacteria began to resist the drugs. It's now known that self-medication is one of the main factors that causes selective pressure in bacteria, favoring the emergence of resistance. In 2010 alone, around 70 billion doses of antibiotics were administered worldwide. Each year in the United States, about 2 million people are infected with resistant bacteria. With the autoinfection index in the world, many antibiotics have been developed, most of them being extracted from bacteria of the genus *Streptomyces*, which have the ability to release secondary metabolites that kill or inhibit microbial growth. They are Gram positive, filamentous and found in soil. Due to the biotechnological interest of this genus and having conserved biosynthetic pathways, the present research aims to isolate and test strains of *Streptomyces* with antimicrobial activity under bacteria of clinical interest, in the city of Campina Grande. Samples were submitted to serial dilutions (10^{-1} to 10^{-5}), vortexed and seeded in Petri dishes with the Kuster-Williams Agar medium. After macromorphological identification, strains of *Streptomyces* spp. Were isolated in Petri dishes and then in sloped tubes, both with the Kuster Williams medium, and then the antimicrobial activity test was performed on 7 strains of bacteria of clinical interest. *Streptomyces* spp. Which presented activities with inhibition halos equal to or greater than 8 mm were submitted to micromorphological identification. Twenty-one colonies of *Streptomyces* spp. Under the following bacteria: *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-27853), *Escherichia coli* (ATCC-25922) and *Staphylococcus aureus* (ATCC-25923). It was observed that 9 colonies, that is, 42.8% of *Streptomyces* spp. Presented antimicrobial activities, with inhibition halos between 8 mm and 17 mm. A strain of *Streptomyces* sp. Presented activity in all 7 bacteria tested, possessing potential for future studies.

Keywords: *Streptomyces*. Bacteria resistant. Antimicrobial activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Antibióticos que foram desenvolvidos até os anos 2000 e suas respectivas fontes de extração	21
Figura 2 - Ano da introdução dos antibióticos e identificação das resistências	25
Figura 3 - Colônia de <i>Streptomyces</i> sp.....	31
Figura 4 - Ciclo de vida dos <i>Streptomyces</i> spp.....	32
Figura 5 - Colônias com características de <i>Streptomyces</i> spp. isolados da cidade de Campina Grande - PB, no Bairro do Velame	40
Figura 6 - Colônias com características de <i>Streptomyces</i> spp. isolados da cidade de Campina Grande - PB, no Bairro da Liberdade	41
Figura 7 - Colônias com características de <i>Streptomyces</i> spp. isolados da cidade de Campina Grande - PB, no Bairro de Santa Terezinha.....	41
Figura 8 - Colônias com características de <i>Streptomyces</i> spp. isolados da cidade de Campina Grande - PB, no Bairro Três Irmãs	42
Figura 9 - Colônias com características de <i>Streptomyces</i> spp. isolados da cidade de Campina Grande - PB, no Bairro das Nações.	42
Figura 10 - Teste da avaliação antimicrobiana de <i>Streptomyces</i> spp.	43
Figura 11 - Micromorfologia dos <i>Streptomyces</i> spp. com atividade antimicrobiana.....	46

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Composição do meio Kuster-Williams.....36
- Tabela 2** - Distribuição das amostras de solo em Campina Grande, por orientações geográficas, bairro, quantidade das amostras (Nº), código, temperatura e horário.....38
- Tabela 3** - Crescimento das colônias características de *Streptomyces* spp. isolados da cidade de Campina Grande - PB, de acordo com código, diluição, quantidade de colônias encontradas, a respectiva identificação e a pigmentação.....39
- Tabela 4** - Teste da atividade antimicrobiana, com identificação das colônias de *Streptomyces* spp. isolados da cidade de Campina Grande - PB com atividade, os respectivos halos de inibição e o controle positivo.....47
- Tabela 5** - Colônias de *Streptomyces* spp. isolados da cidade de Campina Grande - PB com melhores taxas de inibição microbiana.....48

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1** - Caracterização dos agentes antimicrobianos e suas principais fontes.....18
- Quadro 2** - Principais antibióticos inibidores de síntese e proteica, regiões ribossomais, e mecanismos de ação.....23
- Quadro 3** - Bactérias resistentes encontradas em infecções decorrentes de cirurgias ou de inserção de cateteres nos EUA.....28
- Quadro 4** - Microrganismos resistentes reportados à ANVISA, encontrados em IPCSL com associação a CVC.....29
- Quadro 5** - Principais antimicrobianos extraídos dos *Streptomyces* spp.33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CVC	Cateter Venoso Central
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DSTs	Doenças Sexualmente Transmissíveis
ESBL	Espectro Prolongado a β -lactamase
HC-UFPE	Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco
IPCSL	Infecções Primárias de Corrente Sanguínea Confirmada Laboratorialmente
LABDEM	Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio em Medicamentos
LMB	Laboratório de Microbiologia Básica
mRNA	Ácido ribonucleico mensageiro
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à meticilina
NCBI	National Center for Biotechnology Information
OMS	Organização Mundial da Saúde
PABA	Ácido para-aminobenzóico
PLP	Proteínas Ligadoras de Penicilina
RNA	Ácido ribonucleico
tRNA	Ácido ribonucleico transportador
UEPB	Universidade Estadual da Paraíba
UTI	Unidade de Terapia Intensiva

LISTA DE SÍMBOLOS

β	Beta
cm	Centímetro
°C	Grau Celsius
g	Gramma
mL	Mililitro
mm	Milímetro
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	Geral	17
2.2	Específicos	17
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
3.1	Antibióticos	18
3.1.1	Breve histórico: descobertas das primeiras drogas antimicrobianas	18
3.1.2	Modo de ação	22
3.1.2.1	Inibidores de síntese de parede celular	22
3.1.2.2	Inibidores de síntese proteica	22
3.1.2.3	Dano a membrana plasmática	23
3.1.2.4	Inibidores da síntese de ácidos nucleicos (DNA/RNA).....	24
3.1.2.5	Inibidores competitivos da síntese de metabolitos essenciais	24
3.2	Resistência microbiana	24
3.3	Mecanismos de resistências	26
3.3.1	Destruição ou inativação enzimática da droga	26
3.3.2	Alteração de permeabilidade	27
3.3.3	Alterações no sítio-alvo da droga	27
3.3.4	Efluxo rápido (ejeção) do antibiótico	27
3.4	Epidemiologia	28
3.5	<i>Streptomyces</i>	30
3.5.1	Características.....	30
3.5.2	Metabólitos secundários.....	32
4	METODOLOGIA	34

5.1	Local do trabalho	34
5.2	Amostras do solo	34
5.2.1	Coleta	34
5.2.2	Processamento das amostras do solo	34
5.3	Isolamento e identificação de <i>Streptomyces</i>	35
5.3.1	Estudo da Macro e Micromorfologia	35
5.4	Obtenção de <i>Streptomyces</i> em blocos de Ágar.....	35
5.4.1	<i>Streptomyces</i> em blocos de Ágar	35
5.5	Ensaio microbiológico.....	36
5.5.1	Microrganismos	36
5.5.2	Meios de culturas	37
5.5.3	Blocos de ágar	36
5.5.4	Teste da avaliação antimicrobiana	37
5.5.5	Incubação e Leitura.....	37
5	RESULTADOS.....	38
5.1	Obtenção das amostras	38
5.2	Isolamento e identificação de <i>Streptomyces</i>	38
5.3	Teste da atividade antimicrobiana	43
6	DISCUSSÃO.....	49
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
	REFERÊNCIAS.....	52

1. INTRODUÇÃO

O uso indiscriminado de antibióticos visando o controle de infecções em animais e seres humanos criou um ambiente favorável para selecionar os patógenos resistentes a esses medicamentos (ANDERSSON et al., 2011). Esses patógenos, principalmente as bactérias, surgiram de início em ambientes hospitalares, apresentando uma alta sobrevivência e facilitando a disseminação dos genes antimicrobianos de resistência (FURUYA; LOWY, 2006).

Práticas como o uso de drogas com concentrações inadequadas às enfermidades, o desrespeito aos horários e tempo de prescrição dos remédios e o uso do mesmo conjunto de princípios ativos por muitos anos, para uma mesma comunidade, favorecem a proliferação das bactérias mais resistentes (LIPSITCH; SAMORE, 2002).

Tais práticas levaram à um controle mais rigoroso da prescrição de antibióticos (LIPSITCH; SAMORE, 2002; FURUYA; LOWY, 2006). Contudo, os microrganismos resistentes estão se dispersando mais rápido que a introdução de novos compostos clínicos (LING et al., 2015). Estudos de sequenciamentos de genomas mostram que determinados microrganismos apresentam a capacidade de desenvolverem metabólitos secundários em grandes quantidades, que podem ser usados para combater os microrganismos resistentes à antibióticos (WEZEL; MCDOWALL, 2011).

Muitos desses antibióticos e substâncias bioativas foram desenvolvidos a partir do método de cultivo microbiano. Essas atividades contribuem no conhecimento atual de interações moleculares e em novos métodos de tratamento. Porém, atualmente ocorreu um decréscimo na descoberta de novos antibióticos em cultura microbiana, assim, é mostrado urgência e necessidade em encontrar novas drogas através dessa técnica (UEDA; BEPPU, 2016).

As bactérias, por exemplo, possuem uma excelente atividade antimicrobiana, sendo caracterizadas como fontes ricas de produtos naturais, e são utilizadas em indústrias agroquímicas e farmacêuticas como fontes de extração dos produtos bioativos (MIYADOH, 1993; KUMAR, et al., 2014).

A maioria dos antibióticos comerciais são extraídos de metabólitos liberados pelas bactérias do gênero *Streptomyces* (MIYADOH, 1993; KUMAR, et al., 2014), que passaram a ser estudadas por apresentarem uma alta e rápida capacidade de adaptação ao meio, e por possuírem um alto índice de competição, liberando metabólitos secundários contra possíveis ameaças (BOSSO et al., 2010).

O gênero *Streptomyces* é composto por bactérias Gram positivas, filamentosas (BENTLEY et al., 2002), aeróbias, com um elevado número de espécies descritas, com seus representantes encontrados no solo (KUMAR et al., 2014) e em ambientes extremos (WANG T. et al., 2012). Sua morfologia é semelhante à dos fungos filamentosos, seus esporos reprodutivos são formados em seus filamentos aéreos, e cada um deles pode originar uma nova colônia (KUMAR et al., 2014).

Os metabólitos secundários do gênero *Streptomyces* podem gerar inúmeras moléculas bioativas, a exemplo dos agentes antimicrobianos e antitumorais. Além disso, foram encontradas evidências de que esses metabólitos secundários podem ser utilizados como fontes antiparasitícticas, herbicidas (BÉRDY, 2012; WANG L. et al., 2015), antifúngicos, antivirais, anti-hipertensivos, imunossupressores e anti-hipercolesterolêmico (ŌMURA et al., 2001) sendo sintetizadas nas indústrias farmacêuticas e utilizadas na medicina humana e veterinária para o tratamento de infecções causadas por microrganismos resistentes (BENTLEY et al., 2002).

Apesar do avanço, ainda há muito a ser feito nas áreas medicinais com *Streptomyces*, principalmente em relação às investigações bioquímicas que podem levar a descrição de novos metabólitos secundários, devido a presença de vias biossintéticas conservadas (HWANG et al., 2014).

De acordo com o contexto supracitado propõe-se analisar *Streptomyces* spp. que apresente atividade antimicrobiana sobre bactérias de interesse clínico.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

- Isolar e testar a atividade antimicrobiana de *Streptomyces*.

2.2. Específicos

- Isolar *Streptomyces* do solo de Campina Grande, Paraíba;
- Testar a atividade antimicrobiana de *Streptomyces* sobre *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-27853), *Serratia marcescens*, *Escherichia coli* (ATCC- 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC-25923).
- Selecionar as cepas de *Streptomyces* com melhor atividade antimicrobiana;

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. Antibióticos

De acordo com o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (do inglês *Centers for Disease Control and Prevention - CDC*) (2016), antibiótico é uma droga responsável por matar ou inibir o crescimento de bactérias, já um agente antimicrobiano mata ou inibe o crescimento de bactérias, vírus, fungos e parasitas. Devido a maioria dos compostos bioativos serem originados de bactérias, o termo “antibiótico” acabou tonando sinônimo de agentes antimicrobianos (PROBHAVATHI, 2006). Dependendo da forma de aquisição, eles podem ser caracterizados como naturais, semissintéticos e sintéticos, detalhados no Quadro 1.

Quadro 1 – Caracterização dos agentes antimicrobianos e suas principais fontes.

Antibióticos e/ou Agentes antimicrobianos	Fonte
Naturais	Liberados pelos microrganismos
Semissintéticos	Alterações químicas ou genéticas feitas nos antibióticos naturais
Sintéticos	Desenho racional de drogas; Síntese de combinação baseada em um modelo ou totalmente sintética

Fonte: Adaptado de BÉRDY, 2012

3.1.1. Breve histórico: descobertas das primeiras drogas antimicrobianas

O primeiro composto conhecido de uso médico foi de origem europeia, a partir de um extrato da casca de uma árvore na América do Sul, retirado pelos conquistadores espanhóis, denominado de *quinina*, usado no tratamento da malária. (TORTORA et al., 2012).

Em 1900, o médico alemão, Paul Ehrlich, desenvolveu o conceito de toxicidade seletiva, que é a capacidade de inibir ou matar os microrganismos patogênicos, sem prejudicar o hospedeiro. Sendo assim, ele foi o primeiro a idealizar as drogas sintéticas, e iniciou a busca pela “bala mágica”: Drogas capazes de tratar as enfermidades, agindo apenas no combate e na destruição do patógeno, sem efeitos adversos ao hospedeiro (MADIGAN et al., 2010).

Em 1910, Ehrlich descobriu um agente antimicrobiano derivado do arsênico, o *Salvarsan*, que apresentou efeito contra a sífilis. Devido a essa descoberta várias outras drogas sintéticas começaram a ser pesquisadas, muitas delas derivadas principalmente de corantes, pois eles eram testados em relação a atividade antimicrobiana, na procura da “bala mágica” (TORTORA et al., 2012).

Em 1928, Alexander Fleming, um médico e bacteriologista escocês, trabalhava com placas de culturas de *Staphylococcus aureus*, quando acidentalmente algumas dessas placas foram expostas ao ar, sendo assim contaminadas, o que fez com que ele percebesse a formação de um bolor, e ao redor foi observado a inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus*. Esse bolor foi identificado como *Penicillium notatum*, porém mais tarde foi caracterizado como *Penicillium chrysogenum*, e o composto responsável pela inibição foi nomeado de Penicilina. (FLEMING, 1929; TORTORA et al., 2012). Em 1930, Gerhard Domagk descobriu novas drogas sintéticas e as nomeou de Sulfas, que foram eficazes no tratamento de infecções estreptocócicas (TORTORA et al., 2012). No entanto, devido à grande quantidade das Sulfas na década de 30, a descoberta de Fleming não gerou interesse na comunidade científica (MADIGAN et al., 2016).

Ainda na década de 30, algumas doenças microbianas apresentavam um difícil controle na população e as bactérias passaram a resistir à sulfanilamida (uma sulfa mais simples que bloqueia a síntese do ácido fólico), desenvolvendo uma forma de captar ácido fólico do ambiente assim como os outros animais fazem. Devido a essa resistência, pesquisas foram realizadas em larga escala, com outros compostos químicos antimicrobianos (MADIGAN et al., 2016).

Apenas em 1940, um grupo de cientistas da Universidade de Oxford, liderado por Howard Florey e Ernst Chain, apresentou interesse na descoberta de Fleming (1928), chegando à produzir e desenvolver a Penicilina clinicamente, através de um consórcio de cinco empresas farmacêuticas (Abbott, Lederle, Merck, Chas. Pfizer e ER Squibb & Sons) e do Departamento de Agricultura dos EUA, sendo caracterizado como primeiro antibiótico de utilidade clínica, usado inicialmente em militares da Segunda Guerra Mundial, com eficácia contra infecções estafilocócicas e pneumocócicas, apresentando melhor controle das infecções do que os agentes sintéticos (Sulfas) (PROJAN; SHLAES, 2004).

Em 1941, Selman Waksman utilizou pela primeira vez a palavra “antibiótico”, para descrever qualquer molécula pequena produzida por um micróbio que apresente a capacidade de inibir o crescimento de outros microrganismos (CLARDY et al., 2009). Dois anos mais tarde,

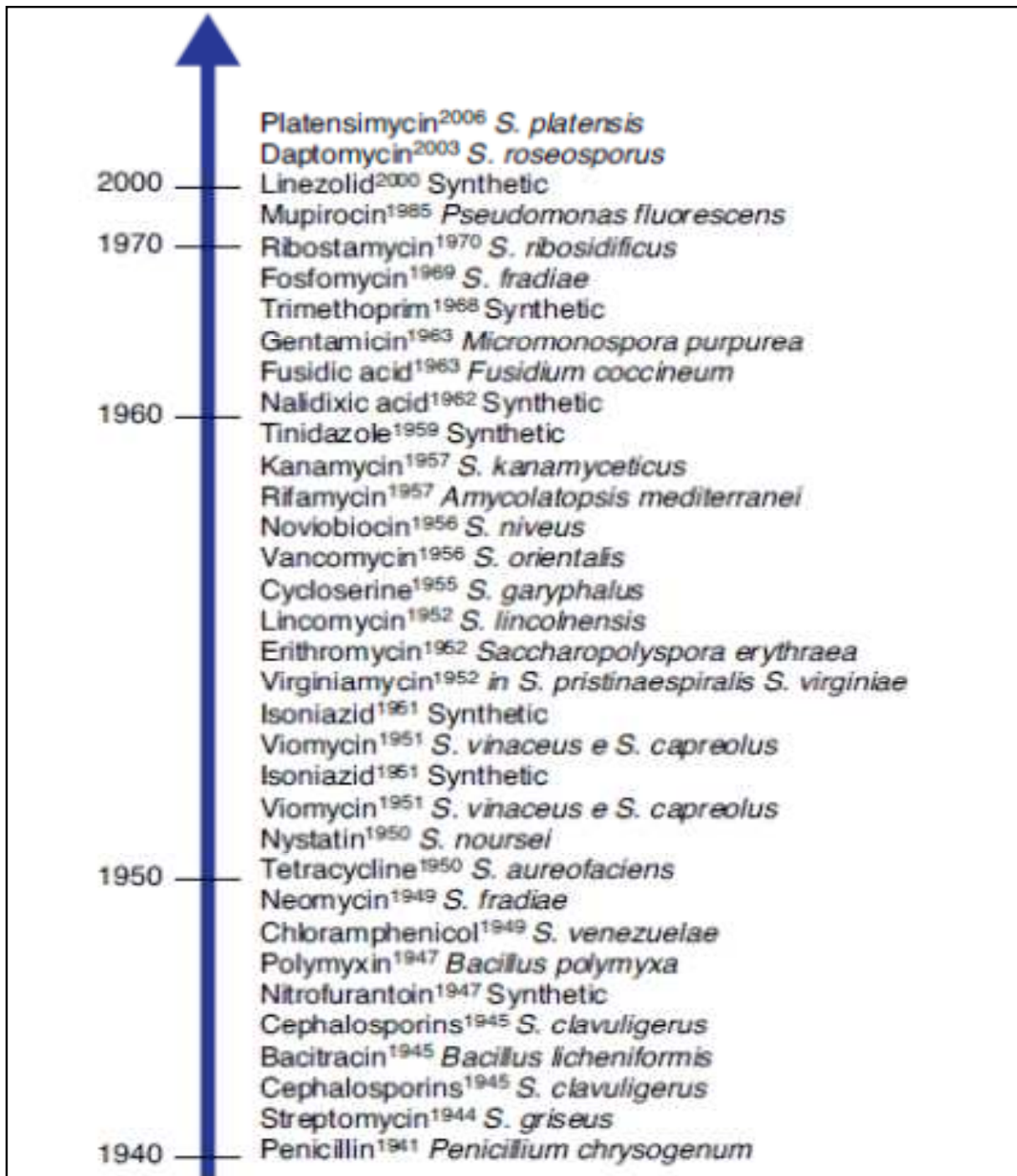
Waksman e seus colegas descobriram a estreptomicina: composto liberado por bactérias de solo *Streptomyces griseus*, eficaz contra a tuberculose (LEDERBERG, 2000).

Apenas no fim da Segunda Guerra Mundial (1945) as indústrias produziram a Penicilina em escala global, sendo disponibilizadas para o tratamento de infecções da população mundial (MADIGAN et al., 2016).

O período datado entre 1940 a 1960 foi considerado a “idade de ouro dos antibióticos”, devido a rápida industrialização da penicilina, e ao desenvolvimento de vários compostos naturais, que passaram a representar a base do desenvolvimento de muitos medicamentos. A Organização Mundial da Saúde – OMS lista os antibióticos como medicamentos essenciais para a humanidade (SEIPLE et al., 2016; PROBHAVATHI, 2006).

Devido a esses conhecimentos iniciais a respeito dos antibióticos e seus benefícios à humanidade, milhares de novos agentes antimicrobianos foram desenvolvidos no decorrer dos anos, como discrimina a Figura 1 (TORTORA et al., 2012).

Figura 1 - Antibióticos que foram desenvolvidos até os anos 2000 e suas respectivas fontes de extração



Fonte: PROCÓPIO, 2012

3.1.2. Modo de ação

3.1.2.1. Inibidores de síntese de parede celular

Nesse modo de ação encontram-se os antibióticos que apresentam em sua configuração química o anel β -lactâmico e os antibióticos Glicopeptídeos (ANVISA, 2016).

Os principais antibióticos β -lactâmicos são as penicilinas, os carbapenemos, a cefalosporina e os monobactamos. No geral, eles penetram na bactéria através das porinas (proteínas transmembranas), na qual se ligará à Proteínas Ligadoras de Penicilina - PLP (do inglês *penicillin-binding protein* – PBP) levando à inibição delas, e como consequência irá interferir na síntese do peptidoglicano, que está ligada a integridade da parede bacteriana (ANVISA, 2016). Eles apresentam pouca toxicidade à células humanas, pois não apresentam peptidoglicano na conformação de suas paredes celulares (TORTORA et al., 2012).

As penicilinas recebem destaque entre os antibióticos β -lactâmicos, que agem depois da ligação com as PLP, impedindo a ligação cruzada entre peptidoglicanos principalmente em bactérias gram-positivas. Devido a sua ótima atividade antimicrobiana, mais de 50 antibióticos foram produzidos com estrutura química relacionada a Penicilina, sendo divididos em quatro categorias: penicilinas naturais ou benzilpenicilinas; penicilinas semissintéticas ou aminopenicilinas; penicilinas resistentes às penicilinases e penicilinas de amplo espectro (desenvolvidas para evitar a resistência bacteriana) (TORTORA et al., 2012).

Os Glicopeptídeos, a exemplo da Vancomicina e Teicoplanina, no geral, possuem um mecanismo de ação múltiplo que inibem a síntese de peptidoglicano, alteram a permeabilidade da membrana, e interferem a síntese de RNA citoplasmático, levando à inibição da síntese de parede celular bacteriana (ANVISA, 2016).

3.1.2.2. Inibidores de síntese proteica

Esses antibióticos ligam-se à subunidades dos ribossomos (50S ou 30S) das bactérias, inibindo a síntese proteica ou produzindo proteínas defeituosas (TORTORA et al., 2012). No Quadro 2, é possível visualizar os principais antibióticos, os locais de ligação ribossomal e o modo de ação.

Os ribossomos também são encontrados em células eucarióticas, porém enquanto as células eucarióticas possuem ribossomo 80S, as procarióticas possuem ribossomos 70S (dividido em uma subunidade 50S, e outra 30S) então a toxicidade dos antibióticos com essa

ação é seletiva para as células procarióticas, devido a conformação estrutural dos ribossomos. No entanto, as mitocôndrias (organelas eucarióticas), possui ribossomos 70S, podendo apresentar reações a esses tipos de antibióticos (TORTORA et al., 2012).

Quadro 2 -Principais antibióticos inibidores de síntese e proteica, regiões ribossomais, e mecanismos de ação

Antibióticos	Subunidades ribossomal	Mecanismo de ação
Aminoglicosídeos	30S	Bloqueia o funcionamento do complexo de iniciação e provoca a leitura incorreta do mRNA
Tetraciclínas	30S	Bloqueia a ligação do tRNA ao ribossomo
Glicilciclínas	30S	Bloqueia a entrada de moléculas aminoacil tRNA no sítio do ribossomo.
Macrolídeos	50S	Impede as reações de transpeptidação e translocação.
Estreptograminas	50S	Causa liberação prematura da cadeia peptídica
Cloranfenicol	50S	Bloqueia a peptidiltransferase
Linosaminas	50S	Altera a superfície bacteriana, facilitando a fagocitose
Oxazolidinonas	50S	Apresenta um alvo único, liga-se a subunidade 50S em um ponto próximo a subunidade 30S

Fonte: Adaptado de LEVINSON, 2010; ANVISA, 2016

3.1.2.3. Dano à membrana plasmática

Os principais grupos de antibióticos com esse modo de ação são as Polimixinas e o Daptomicina, que causam danos à membrana por possuírem um agrupamento básico (NH_3^4) e uma cadeia de ácidos graxo. Ao chegar na membrana plasmática bacteriana, o ácido graxo penetra na parte lipídica, e o agrupamento básico permanece na superfície da membrana levando à uma desorganização (TRABULSI, 2004). As Polimixinas desorganizam a membrana através da retirada do cálcio e magnésio da membrana externa (bactérias gram-negativas), resultando em um aumento de permeabilidade da membrana, com rápida perda de conteúdo

celular. Já o Daptomicina despolariza o potencial da membrana, na qual ocorre um extravasamento do conteúdo citoplasmático (ANVISA, 2016).

3.1.2.4. Inibidores da síntese de ácidos nucleicos (DNA/RNA)

Esse modo de ação pode ser dividido de acordo com o ácido nucléico que o antibiótico inibirá. Antibióticos do grupo Quilonolonas, por exemplo, bloqueiam a síntese de DNA bacteriano pela inibição da DNA girase (topoisomerase II). Já as Rifamicinas bloqueiam a síntese de mRNA pela RNA polimerase bacteriana, sem afetar a RNA polimerase das células humanas (LEVINSON, 2010).

3.1.2.5. Inibidores competitivos da síntese de metabólitos essenciais

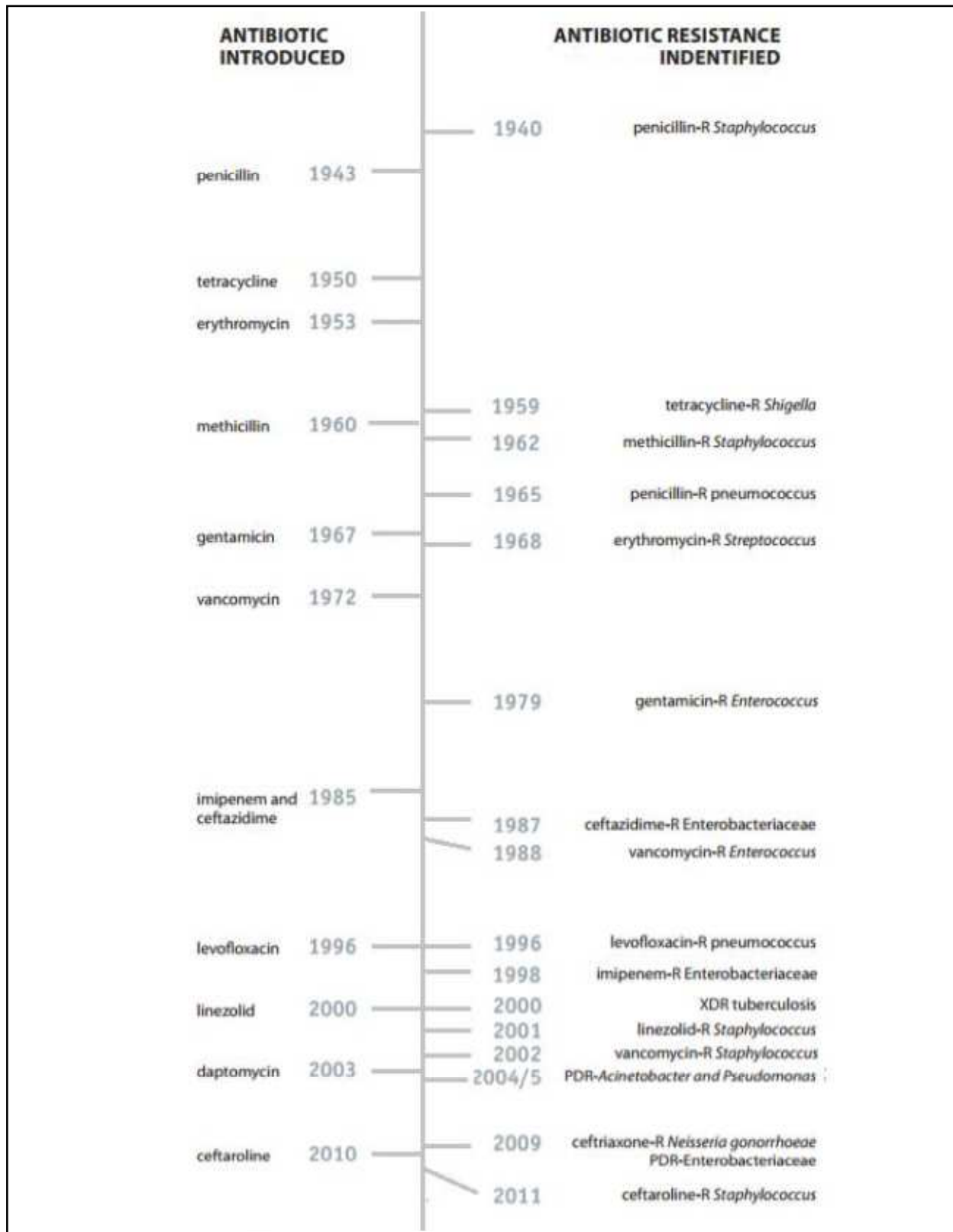
O principal representante é o agente antimicrobiano Sulfa, o primeiro a ser usado para inibir o crescimento bacteriano. As Sulfonamidas são sulfas mais simples inibem o metabolismo do ácido fólico através da competição com o ácido para-aminobenzóico (PABA) pelo sítio ativo da enzima di-hidropteroato sintetase (MADIGAN et al., 2016).

O Sulfametoxazol, outra sulfa que é bastante comercializada é empregada em associação com o Trimetoprim, e apresenta o efeito de inibi a síntese do ácido tetra-hidrofólico, o sulfametoxazol inibe um passo intermediário da reação e o trimetoprim inibe a formação do metabólito ativo do ácido tetra-hidrofólico no final do processo (LEVISON, 2010; ANVISA, 2016).

3.2. Resistência microbiana

A eficácia dos antibióticos é ameaçada em diversos lugares do mundo, com destaque para os países de baixa renda que apresentam precariedade no saneamento básico e na saúde pública, os que são utilizados com mais frequência levam as bactérias à uma pressão seletiva, podendo expressar vários mecanismos de resistências, complicando as formas de tratamento e gerando um aumento na mortalidade humana (TENOVER, 2006; LAXMINARAYAN, 2014; BAYM et al., 2016). Na Figura 2, é possível visualizar o ano de introdução dos antibióticos e o ano em que foi detectada as respectivas resistências antimicrobianas.

Figura 2 - Ano da introdução dos antibióticos e identificação das resistências



Fonte: CDC,2015

Alexander Fleming em 1945, durante seu discurso de aceitação do prêmio Nobel (descoberta da Penicilina, 1928), alertou a comunidade científica sobre a evolução da resistência microbiana durante a prática clínica (BLASER, 2016), em decorrência de que o metabolismo bacteriano possui um mecanismo capaz de prevenir e corrigir erros genéticos, mantendo a estabilidade do genoma (CHOPRA et al., 2003).

A resistência microbiana aos antibióticos é um fenômeno natural (HOLMES et al., 2015), e não é um fato novo. Alguns determinantes de resistência foram encontrados recentemente em bactérias datadas há milhões de anos atrás, em ambientes separados das atividades humanas (BHULLAR et al., 2012 e ZOWAWI et al., 2015).

Os principais fatores de propagação das bactérias resistentes são as exposições repetidas à concentrações de um mesmo antibiótico, práticas de prescrição inadequada, vendas não regulamentadas de antibióticos e o uso de antibióticos como promotores de crescimento animal (FURUYA; LOWY, 2006; ANVISA, 2016).

Foram identificadas algumas mutações naturais em *Escherichia coli* patogênica, *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria meningitidis*, *Helicobacter pylori* e *Streptococcus pneumoniae*, que conferem às cepas capacidade superior a resistir aos tratamentos (CHOPRA et al., 2003).

A OMS (2001) lançou uma estratégia global para conter a resistência antimicrobiana, estabelecendo um conjunto de recomendações específicas incluindo a capacitação, apoio à escolha de tratamentos levando em consideração os melhores serviços de diagnóstico, formas de tratamento e implementação de regulamentos para a qualidade, a promoção e a distribuição dos medicamentos.

3.3. Mecanismos de resistências

As bactérias possuem mecanismos de resistência naturais e mecanismos decorrentes de mutações que conferem alteração nos seus processos celulares (VINCENT et al., 2013).

3.3.1. Destruição ou inativação enzimática da droga

Afeta principalmente os antibióticos naturais como as penicilinas, pois os antibióticos sintéticos e semissintéticos possuem alterações químicas, tornando as estruturas menos familiar para as bactérias, porém elas desenvolveram outras formas de resistirem à esses antibióticos (TORTORA et al., 2012).

As bactérias liberam enzimas denominadas β -lactamases, que têm como função hidrolisar a ligação amida do anel β -lactâmico, destruindo o local onde os antibióticos se ligam às PLPs (ANVISA, 2016).

3.3.2. Alteração de permeabilidade

A alteração de permeabilidade está presente nas bactérias Gram-negativas, devido à conformação da parede celular: Elas apresentam uma membrana externa composta de lipopolissacarídeo que restringe a absorção de moléculas e de movimento através de proteínas especiais, as porinas. As bactérias alteram a abertura das porinas, modificando a permeabilidade de forma que os antibióticos não entrem no espaço periplasmático (ANVISA, 2016; TORTORA et al., 2012).

3.3.3. Alterações no sítio-alvo da droga

Ocorrem geralmente em antibióticos que inibem a síntese proteica bacteriana, podendo ser neutralizadas por genes produzidos pelas bactérias que substituem ou modificam o sítio-alvo na qual a droga se ligará (ANVISA, 2016).

Um do exemplo de maior interesse nessa área é o mecanismo do *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina - MRSA, que atua contra antibióticos β -lactâmicos principalmente sobre a Meticilina. O MRSA possui genes que modificam o sítio-alvo da droga (as PLPS) gerando uma ligação fraca entre o antibiótico e a PLP (modificada), mas permitindo ao MRSA a síntese de parede celular dentro dos parâmetros aceitáveis para a sua sobrevivência (TORTORA et al., 2012).

3.3.4. Efluxo rápido ou ejeção do antibiótico

Certas proteínas da membrana externa (bactérias Gram negativas), bombeiam ativamente vários tipos de compostos, incluindo os antibióticos do meio intracelular bacteriano para o meio extracelular, reduzindo a concentração de antibiótico no interior celular da bactéria (PIDDOCK, 2006; TORTORA et al., 2012).

3.4. Epidemiologia

Só em 2010, cerca de 70 bilhões de doses de antibióticos foram administradas em todo o mundo, perfazendo uma média de 10 doses (comprimidos, capsulas ou colheres de chá) de antibiótico por indivíduo uma taxa que está aumentando cada vez mais (BLASER, 2016).

A OMS (2016), estabeleceu novas diretrizes de tratamentos para três Doenças Sexualmente Transmissíveis (DSTs), a Clamídia, Gonorreia e Sífilis, todas causadas por bactérias. Ainda segundo a OMS (2016), elas desenvolveram resistência aos antibióticos de forma crescente, estimando que a cada ano cerca de 131 milhões de pessoa são acometidas por Clamídia, 78 milhões por Gonorreia e 5,6 milhões por Sífilis.

Das três DSTs, a Gonorreia apresentou uma maior resistência, a OMS (2016) identificou cepas de *Neisseria gonorrhoeaem* que não reagem a nenhum antibiótico existente, sendo assim solicitaram aos países que atualizem as terapias nacionais envolvendo o tratamento da Gonorreia, que monitorem os casos de diferentes cepas de *N. gonorrhoeae* da população de seu país e evitem o tratamento das demais cepas com a classe de antibiótico Quinolonas, pois acarretam maior resistência (OPAS/OMS, 2016).

Segundo o CDC (2016), nos Estados Unidos a cada ano cerca de 2 milhões de pessoas são infectadas por bactérias resistentes, e dessas 23.000 morrem. O CDC ainda identificou que nos EUA, 1 a cada 4 casos de infecções decorrentes de cirurgias ou de colocação de cateteres, estão relacionadas a seis tipos de bactérias (Quadro 3) resistentes a antibióticos, sendo caracterizadas como ameaças urgentes ou graves.

Quadro 3 – Bactérias resistentes encontradas em infecções decorrentes de cirurgias ou de inserção de cateteres nos EUA.

<i>Enterobacteriaceae</i> resistentes aos carbapenem (CRE)
<i>Acinetobacter</i> multi-resistente à drogas
<i>Enterobacteriaceae</i> de espectro prolongado à β -lactamase (ESBL)
<i>Enterococos</i> resistentes à vancomicina (VRE)
<i>Pseudomonas</i> resistentes à múltiplas drogas
<i>Staphylococcus aureus</i> resistentes à meticilina (MRSA)

Fonte: CDC, 2016

No Brasil, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (2015), entre janeiro e dezembro de 2014, a Agência recebeu notificação de 1.692 hospitais brasileiros, sobre os principais microrganismos resistentes às drogas antimicrobianas, encontrados em Infecções Primárias de Corrente Sanguínea Confirmada Laboratorialmente (IPCSL) com associação à Cateter Venoso Central (CVC). Foram confirmadas 15.434 IPCS associados a CVC em UTI adultos, 1.687 em UTI pediátrica e 5.868 em UTI neonatal, no Quadro 4 é discriminada os microrganismos que foram mais frequentes.

Quadro 4 – Microrganismos resistentes reportados a ANVISA, encontrados em IPCSL com associação a CVC

UTI adultos	UTI pediátrica	UTI neonatal
<i>Staphylococcus coagulase negativo</i> (17%)	<i>Candida</i> spp. (20,8%)	<i>Staphylococcus coagulase negativo</i> (33,9%)
<i>Staphylococcus aureus</i> (14,5%)	<i>Staphylococcus coagulase negativo</i> (18,7%)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (15,2%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (14,2%)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (13,8%)	<i>Staphylococcus aureus</i> (11,9%)
<i>Acinetobacter</i> spp. (12,9%)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (10,6%)	<i>Candida</i> spp. (9,3%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (10,8%)	<i>Staphylococcus aureus</i> (9,8%)	<i>Enterobacter</i> spp. (8,9%)
<i>Escherichia coli</i> (7,4%)	<i>Acinetobacter</i> spp. (5,6%)	<i>Escherichia coli</i> (5,3%)
<i>Candida</i> spp. (6,6%)	<i>Enterobacter</i> spp. (5,3%)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (4%)
<i>Enterobacter</i> spp. (5,2%)	<i>Enterococcus</i> spp. (5,2%)	<i>Enterococcus</i> spp. (3,5%)
<i>Enterococcus</i> spp. (4,8%)	<i>Escherichia coli</i> (4,2%)	<i>Acinetobacter</i> spp. (3,2%)
Outras enterobactérias (4,4%)	<i>Serratia</i> spp. (3,2%)	<i>Serratia</i> spp. (2,9%)

(Continuação)

UTI adultos	UTI pediátrica	UTI neonatal
<i>Serratia</i> spp. (2,2%)	Outras bactérias (3%)	Outras enterobactérias (1,9%)

Fonte: ANVISA, 2015

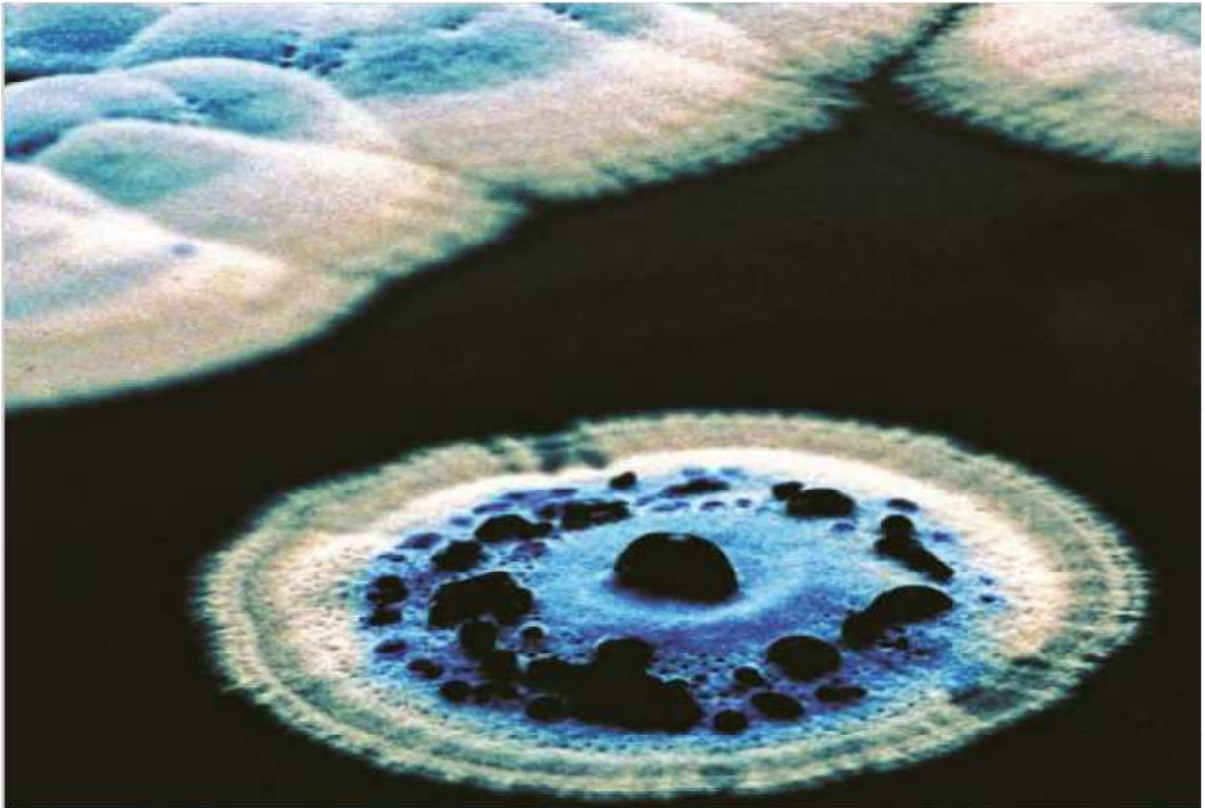
3.5. Gênero *Streptomyces*

3.5.1. Características

Segundo o National Center for Biotechnology Information - NCBI (2016), taxonomicamente *Streptomyces* é um gênero de bactérias inseridas, no Dominio *Bacteria*, Filo *Actinobacteria*, Classe *Actinobacteria*, Ordem *Streptomycetales*, Família *Streptomycetaceae*, Gênero *Streptomyces*, com mais de 500 espécies descritas.

Streptomyces é um gênero de bactérias (Figura 3) Gram-positivas, filamentosas, isolados a partir do solo, principalmente nos mais drenados (solos rochosos, calcários e arenosos), pois solos mais alagadiços podem se tornar anóxicos. A partir de seu metabolismo eles produzem e secretam enzimas extracelulares (celulose e hemicelulose), e adsorvem certos produtos, a exemplo do amido e caseína. Vivem em constante concorrência por pertencerem a um ambiente com elevadas concentrações de outras bactérias, fungos e protistas. Produzem o composto geosmina, o que conferem ao solo o odor característico de “terra molhada” (HODSON, 2000; HOPWOOD, 2007; MADIGAN, et al., 2016; TORTORA et al., 2012).

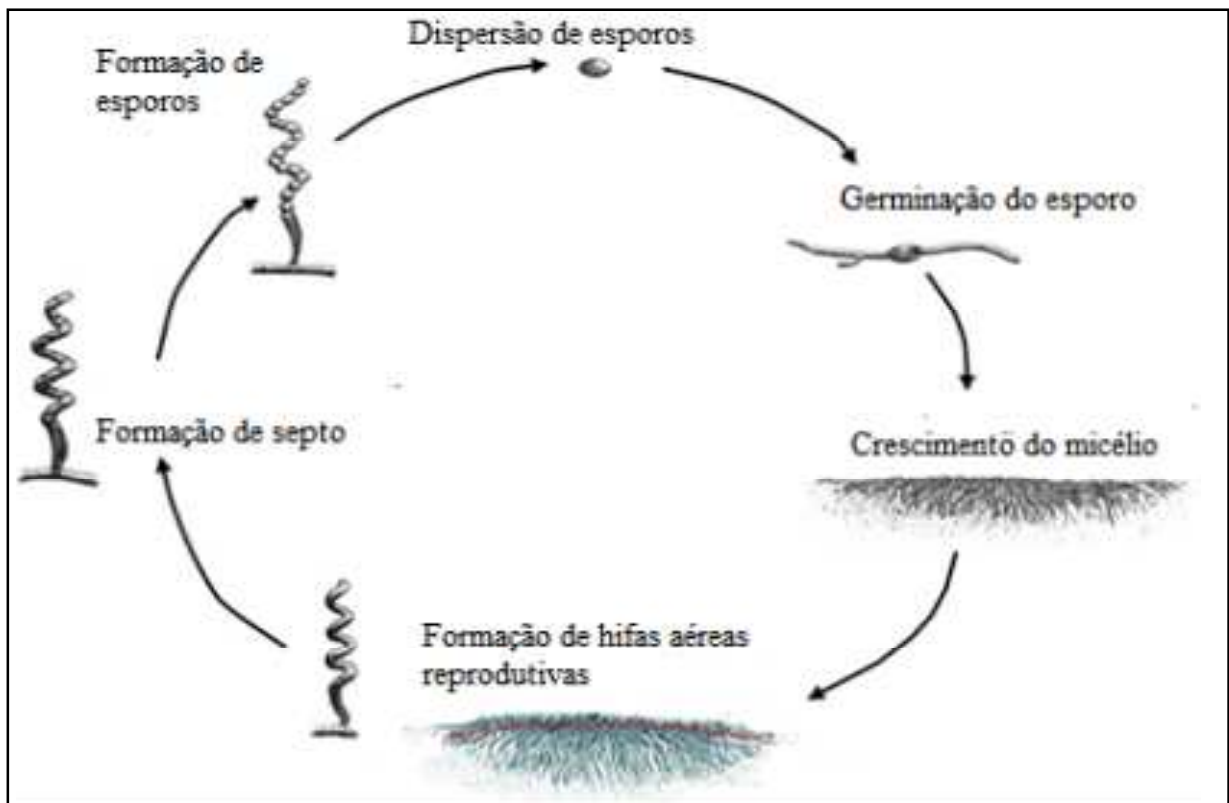
Figura 3 - Colônia de *Streptomyces* sp.



Fonte: HOPWOOD, 2007

Contrastando a maioria das bactérias, que se multiplicam por divisão binária, os *Streptomyces* apresentam ciclo de vida semelhantes aos fungos filamentosos (HOPWOOD, 2007), contudo, os filamentos desse gênero apresentam diâmetro inferior aos dos fungos (TORTORA et al., 2012). Seu ciclo inicia-se com a germinação dos esporos assexuados, formados na ponta dos filamentos aéreos, seguido do crescimento de um micélio, que se desenvolve e atravessa paredes septais vegetativas nos pontos de ramificações, produzindo assim uma nova colônia (FLARDH, 2003). A figura 4 apresenta o ciclo de vida mais detalhado.

Figura 4 - Ciclo de vida dos *Streptomyces* spp.



Fonte: Adaptado de SEIPKE et al. 2012

3.5.2. Metabólitos secundários

Os metabólitos primários presente nos *Streptomyces* são responsáveis pelas reações catabólicas e anabólicas, sendo utilizadas para sintetizar proteínas, ácidos nucleicos, lipídeos e polissacáridos. Já os metabólitos secundários não apresentam funções específicas dentro do metabolismo dos estreptomicetos, porém sua liberação proporciona o desenvolvimento de antibióticos, antifúngicos, antivirais, anti-hipertensivos, imunossupressores, anti-hipercolesterolêmico, antitumorais, antiparasitídeos e herbicidas (HODGSON, 2000; ÔMURA et al., 2001; FLARDH, 2003; BÉRDY, 2012; WANG L. et al., 2015).

Cerca de 75% das drogas antimicrobianas comerciais são isoladas dos *Streptomyces*, (MIYADOH, 1993; KUMAR, et al., 2014), exemplo do: cloranfenicol produzido por *Streptomyces venezuelae*; da estreptomicina, produzido por *S. griseuse*; do agente imunossupressor FK506 produzido por *S. tsukabensis* (HODGSON, 2000). Em 2015, os pesquisadores William C. Campbell e Satoshi Omura receberam o Prêmio Nobel de Medicina por descobrirem um nova droga isolada de *Sreptomyces avermitilis*, nomeada de Avermectina,

que apresenta-se eficaz na redução da incidência de Oncocercose e da Filariose linfática (NOBEL, 2015). No quadro 5 é possível identificar os principais antimicrobianos extraídos dos *Streptomyces*.

Quadro 5 – Principais antimicrobianos extraídos dos *Streptomyces* spp.

Microrganismos	Antimicrobianos
<i>Streptomyces aureofaciens</i>	Clorotetraciclina e tetraciclina
<i>Streptomyces avermitilis</i>	Avermectina
<i>Streptomyces capreolus</i>	Viomicina
<i>Streptomyces clavuligerus</i>	Cefalosporina
<i>Streptomyces erythreus</i>	Eritromicina
<i>Streptomyces fradiae</i>	Neomicina e Fosfomicina
<i>Streptomyces garyphalus</i>	Cicloserina
<i>Streptomyces griseus</i>	Estreptomicina e Ciclosemida
<i>Streptomyces kanamyceticus</i>	Kanamicina
<i>Streptomyces lincolnensis</i>	Lincomicina
<i>Streptomyces niveus</i>	Novobiocina
<i>Streptomyces nodosus</i>	Anfotericina B
<i>Streptomyces noursei</i>	Nistantina
<i>Streptomyces orchidaceus</i>	Cicloserina
<i>Streptomyces orientales</i>	Vancomicina
<i>Streptomyces platensis</i>	Platensimicina
<i>Streptomyces pristinaespiralis</i>	Virginiamicina
<i>Streptomyces ribosidificus</i>	Ribostamicina
<i>Streptomyces rimosus</i>	Tetraciclina
<i>Streptomyces roseosporus</i>	Daptomicina
<i>Streptomyces tsukabiensis</i>	Imunossupressor FK506
<i>Streptomyces venezuelae</i>	Cloranfenicol
<i>Streptomyces vinaceus</i>	Viomicina
<i>Streptomyces virginiae</i>	Virginiamicina

Fonte: HODGSON, 2000; MADIGAN et al., 2010; NOBEL, 2015; PROCÓPIO, 2012; TORTORA et al., 2012;

4. METODOLOGIA

5.1. Local do trabalho

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia Básica (LMB), no CCBS, e no Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio em Medicamentos (LABDEM) da Universidade Estadual da Paraíba - UEPB, Campus I.

5.2. Amostras do solo

5.2.1. Coleta

Foram coletadas 2 amostras de solos na cidade de Campina Grande em 5 pontos diferentes: Norte, Sul, Leste, Oeste e Centro. Perfazendo um total de 10 amostras. Em cada ponto selecionado foi coletado duas amostras de 100g de solo, em uma profundidade entre 10 a 15 cm da superfície do solo e foram depositadas em recipientes estéreis. Durante a coleta foi anotado o peso, o código da amostra, a temperatura ambiente, o local, a data e a hora da coleta. Em seguida, as amostras foram transportadas para o LMB onde foram processadas.

5.2.2. Processamento das amostras do solo

Após a coleta e transporte até o laboratório, as amostras de solo foram homogeneizadas no próprio recipiente. Foi retirada uma amostra de 1g e transferida para um tubo estéril contendo 9mL de solução salina (0,89%) estéril, a qual foi submetida à agitação em Vortex durante 15 minutos para desprender os elementos de propagação dos *Streptomyces*. Após permanecer por 15 minutos em repouso, foi transferido 1mL do sobrenadante para um tubo estéril contendo 9mL de solução salina e assim sucessivamente até o 5º tubo, correspondente a diluição de 10^{-5} . De cada diluição obtida, foi transferido 0,1mL do sobrenadante com pipeta sobre placas estéreis com meio de cultura Kuster-Williams (1964), e semeadas com alça de Drigalski. As placas foram incubadas a temperatura ambiente (28° a 30°C) por 5 à 7 dias. Essa metodologia foi adaptada de Garcia-Quintana et al., (1997).

5.3. Isolamento e identificação de *Streptomyces*

Decorrido o tempo de incubação das amostras de solo, foi realizada a avaliação do crescimento microbiano no meio de cultura. As colônias com características macromorfológicas de *Streptomyces* foram isoladas em tubos de ensaio 15x150mm, com meio Kuster-Williams inclinado e após avaliação de suas propriedades antimicrobianas, as cepas passaram por uma segunda confirmação identificadas através de microcultivos e observação microscópica.

5.3.1. Estudo da Macro e Micromorfologia

Macroscopicamente, foi observado a cor do micélio aéreo e a cor do pigmento solúvel ou exopigmento, o tamanho, o aspecto aveludado e opaco da colônia (NORRIS; RIBBONS, 1971).

Microscopicamente, foi observada as estruturas morfológicas de *Streptomyces*. A técnica utilizada foi a de microcultivo em lâminas descrita por Serrano e Sandoval (1992), a qual consiste em semear duas amostras do *Streptomyces* nas laterais de um pequeno bloco de ágar Kuster-Williams sobre lâmina. O bloco foi coberto com lamínula e incubado a temperatura ambiente (28°-30°C) por 5-7 dias, a umidade interna da placa foi mantida com papel de filtro embebido com água destilada estéril, todo o conjunto foi mantido em placa de Petri estéril (90 mm de diâmetro). Posteriormente foram observadas as hifas com filamentos ramificados e espiralados com a superfície dos esporos ondeada (BERGEY, 1986), visualizadas em microscópio ótico (aumento 100x).

5.4. Obtenção de *Streptomyces* em blocos de Ágar

5.4.1. *Streptomyces* em blocos de Ágar

Inicialmente, foi preparado uma suspensão de cada cepa de *Streptomyces* com solução salina (0,85%) estéril. Em seguida, foi transferido 1mL do inóculo com pipeta estéril para uma placa de Petri estéril vazia, na qual foi adicionado 20mL de meio Kuster-Williams liquefeito e resfriado a 45°C. O conjunto foi homogeneizado e as placas foram incubadas de 5 a 7 dias à temperatura ambiente.

5.5. Ensaio microbiológicos

5.5.1. Microrganismos

Foram utilizadas as seguintes bactérias no teste antimicrobiano: *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC- 27853), *Serratia marcescens*, *Escherichia coli* (ATCC- 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC- 25923) da coleção do LMB, da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Campus I.

5.5.2. Meios de culturas

Foram utilizados dois meios de culturas nos ensaios para avaliação das atividades antimicrobianas:

Os *Streptomyces* necessitam de meios especiais para permitir a diferenciação e o desenvolvimento de esporos, foi utilizado o meio Kuster-Williams para semear as bactérias do gênero *Streptomyces* com a seguinte composição descrita na tabela 1.

Tabela 1- Composição do meio Kuster-Williams

Substâncias	Quantidades
Amido	10g
Caseína	0,3g
Nitrato de Potássio	2g
Cloreto de Sódio	10g
Fosfato Ácido de potássio.....	0,3g
Sulfato de Magnésio Heptahidratado	0,05g
Carbonato de cálcio	0,02g
Sulfato Ferroso Heptahidratado	0,01g
Ágar	18g
Água destilada	1000mL

Fonte: KUSTER e WILLIAMS, 1964

O meio Ágar Mueller-Hinton foi utilizado para semear as bactérias submetidas ao teste antimicrobiano.

5.5.3. Blocos de ágar

De cada placa onde cresceram os *Streptomyces*, foram obtidos pequenos blocos de ágar através da perfuração do meio de cultura com cânulas de vidro com 6x8mm de diâmetro estéril.

5.5.4. Teste da avaliação antimicrobiana

Os microrganismos testados, foram submetidos à uma suspensão em salina e foram transferidos para Placas de Petri contendo Ágar Müeller Hinton, na qual foram adicionados os pequenos blocos de ágar contendo os *Streptomyces*. Após a incubação foram feitas leituras nos halos (mm)

Foram feitos controles para os microrganismos usados nos ensaios de atividade biológica com antibióticos.

5.5.5. Incubação e Leitura

Decorrido o tempo de incubação adequado, foram feitas as leituras e anotações dos resultados. O resultado foi considerado positivo quando a medida dos halos foi igual ou superior a 8mm de diâmetro (VIEIRA, 2003).

5. RESULTADOS

5.1. Obtenção das amostras

A Tabela 2 mostra as distribuições das amostras de solo coletadas em Março de 2016, mostrando as orientações geográficas, bairros, quantidades, temperatura e os respectivos horários das coletas.

Tabela 2 – Distribuição das amostras de solo em Campina Grande, por orientações geográficas, bairro, quantidade das amostras (Nº), código, temperatura e horário.

Orientações geográficas	Bairro	Nº	Código das amostras	Temperatura ambiente	Horário
Norte	Bairros das Nações	2	BN1	21°C	10:15
			BN2		
Sul	Velame	2	V1	22°C	08:13
			V2		
Leste	Santa Terezinha	2	ST1	21°C	09:25
			ST2		
Oeste	Três Irmãs	2	TI1	21°C	10:57
			TI2		
Centro	Liberdade	2	L1	21°C	08:40
			L2		

Fonte: Autora, 2016

5.2. Isolamento e identificação de *Streptomyces*

Foram identificadas 30 colônias de *Streptomyces* spp., através de características macromorfológicas, na Tabela 3, é possível identificar o número de colônias presente em cada amostra, os níveis de diluições que foram encontrados e a pigmentação correspondente.

Tabela 3 - Crescimento das colônias características de *Streptomyces* spp. isolados da cidade de Campina Grande - PB, de acordo com código, diluição, quantidade de colônias encontradas, a respectiva identificação e a pigmentação

Código das amostras	Diluição	Quant. de colônias	Nomenclatura da colônia	Pigmentação Micélio aéreo/Pigmento solúvel
V1	10 ⁻⁴	1	1	Branco/Branco
V2	10 ⁻³	1	2	Branco/Branco
V2	10 ⁻¹	1	3	Branco/Amarelo
L1	10 ⁻²	2	4	Branco/Amarelo
			5	Branco/Branco
L1	10 ⁻³	1	6	Cinza/Branco
L1	10 ⁻⁴	1	7	Branco/Amarelo
L2	10 ⁻²	1	8	Branco/Marrom
L2	10 ⁻³	3	9	Amarelo/Amarelo
			10	Branco/Amarelo
			11	Branco /Amarelo
ST1	10 ⁻²	3	12	Branco/ Amarelo
			13	Branco/Branco
			14	Verde/Branco
ST1	10 ⁻⁴	1	15	Branco/Branco
ST2	10 ⁻³	1	16	Branco/ Rosa
TI1	10 ⁻²	2	17	Branco/Amarelo
			18	Branco/Branco
TI1	10 ⁻³	2	19	Branco/Branco
			20	Branco/Branco
TI2	10 ⁻²	1	21	Branco/ Marrom
TI2	10 ⁻³	2	22	Branco/Branco
			23	Branco/Amarelo
BN1	10 ⁻²	3	24	Branco/ Laranja
			25	Branco/ Marrom
			26	Branco/Branco

(Continuação)

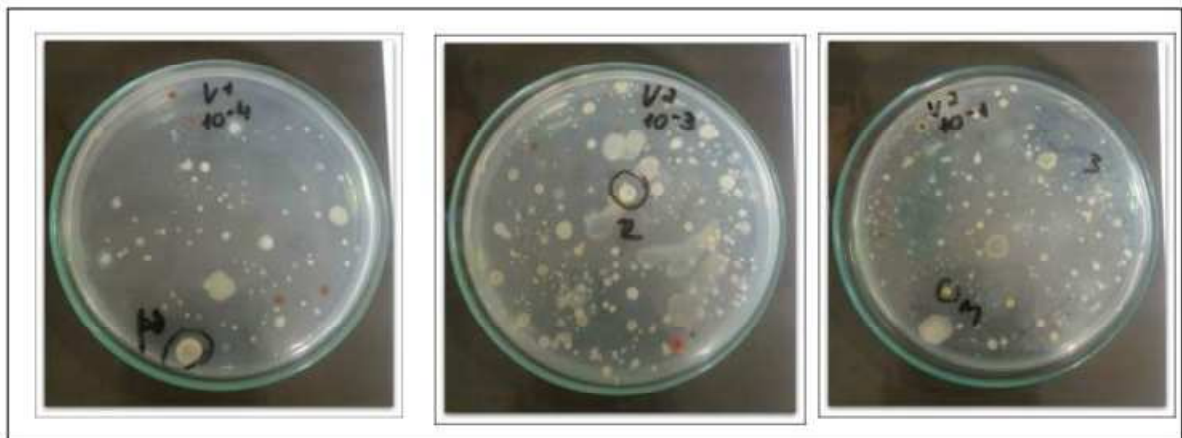
Código das amostras	Diluição	Quant. de colônias	Nomenclatura da colônia	Pigmentação Micélio aéreo/Pigmento solúvel
BN1	10 ⁻³	3	27	Branco/Laranja
			28	Amarelo/Amarelo
			29	Branco/Amarelo
BN2	10 ⁻¹	1	30	Branco/Branco

Fonte: Autora, 2017

A cor do micélio aéreo variou em quatro cores, branco, cinza, amarelo e verde. O branco foi a cor de maior predominância com 86,7%, seguido de amarelo com 6,7%, cinza e verde com 3,3% cada. A cor do pigmento solúvel variou em cinco cores branco, amarelo, marrom, rosa, laranja. A cor branca também apresentou uma maior predominância com 43,3%, seguido do amarelo com 36,7%, marrom com 10%, laranja com 6,7% e rosa com 3,3%.

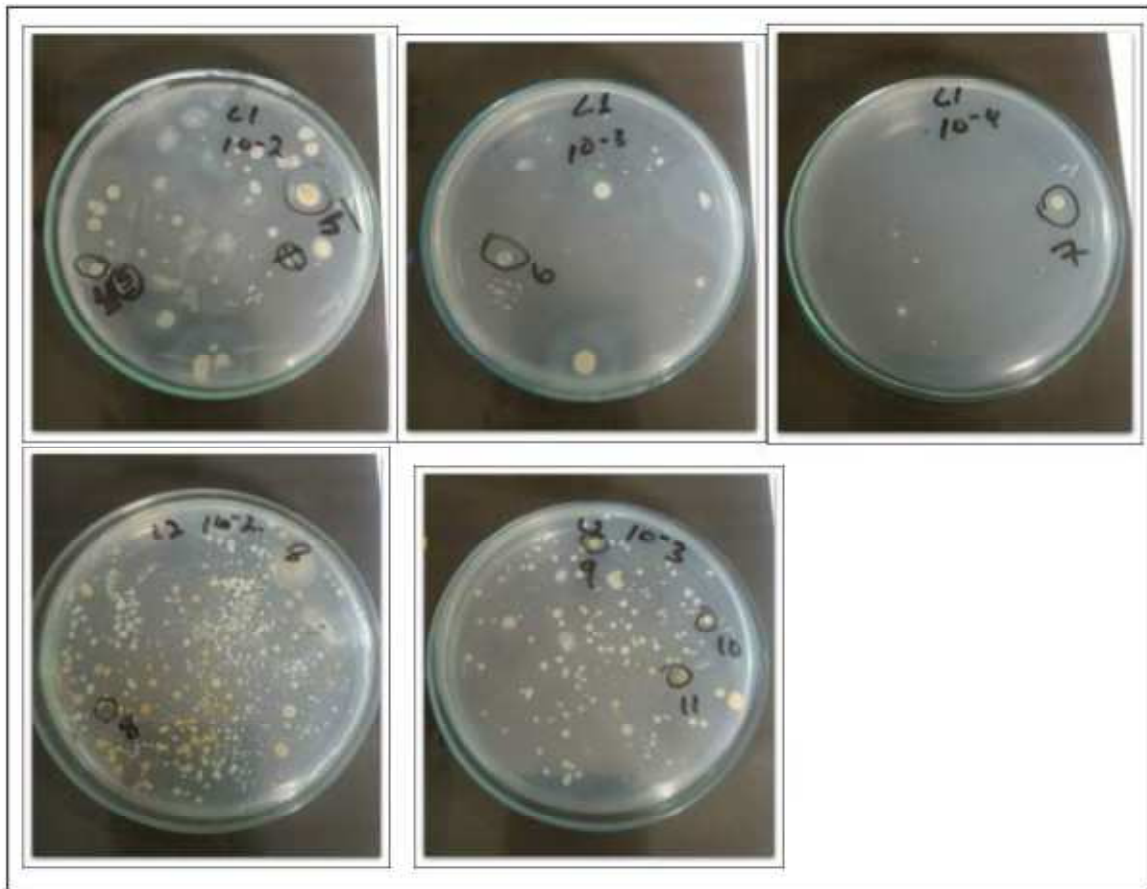
Podemos observar nas Figuras 5, 6, 7, 8 e 9 colônias características de *Streptomyces* spp.

Figura 5 – Colônias com características de *Streptomyces* spp. isolados da cidade de Campina Grande - PB, no Bairro do Velame



Fonte: Autora, 2016

Figura 6 - Colônias com características de *Streptomyces* spp. isolados da cidade de Campina Grande - PB, no Bairro da Liberdade



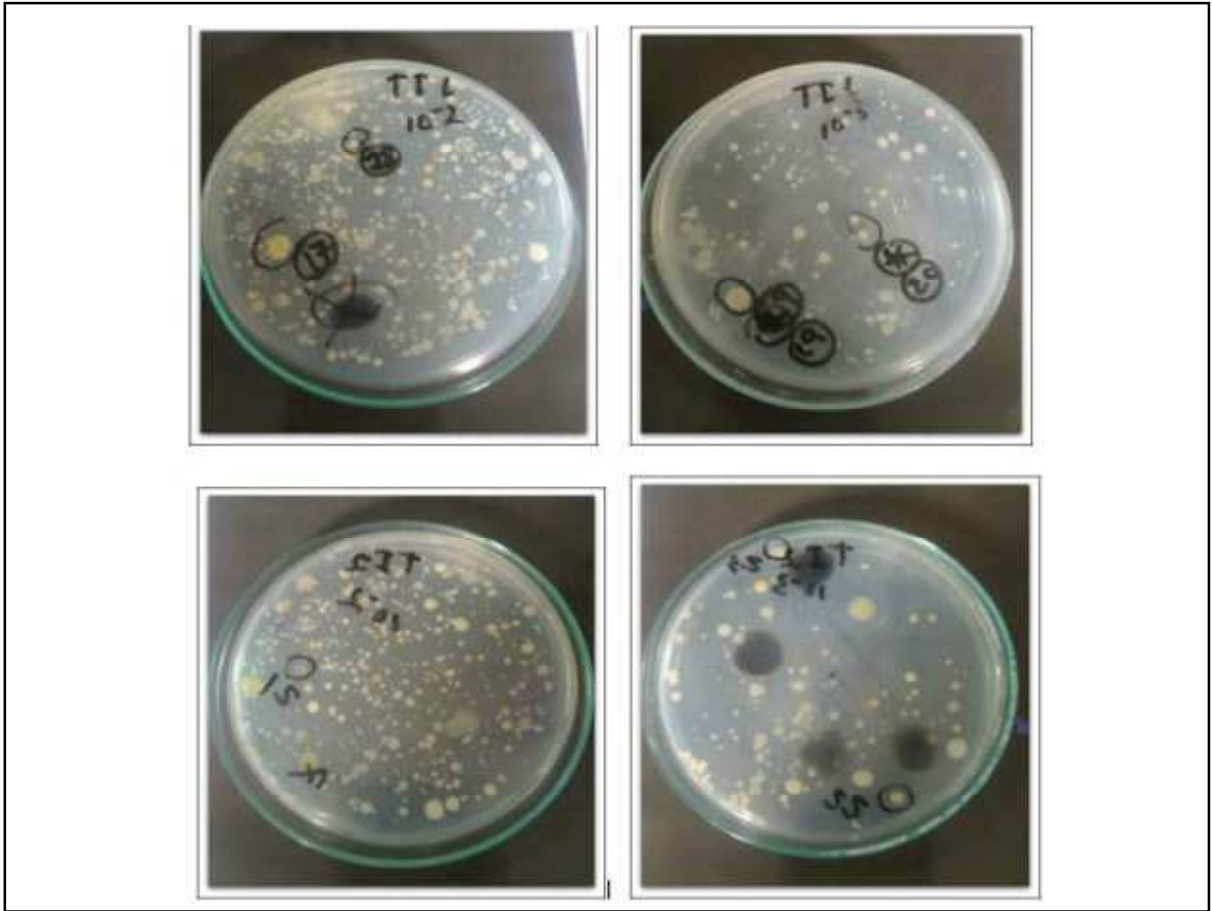
Fonte: Autora, 2017

Figura 7 - Colônias com características de *Streptomyces* spp. isolados da cidade de Campina Grande - PB, no Bairro de Santa Terezinha



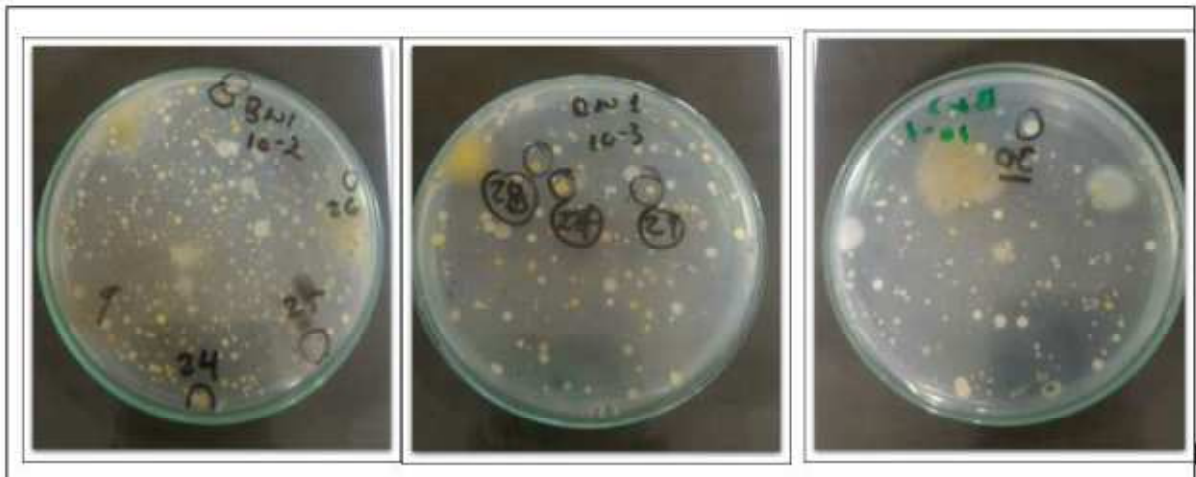
Fonte: Autora, 2017

Figura 8 - Colônias com características de *Streptomyces* spp. isolados da cidade de Campina Grande - PB, no Bairro Três Irmãs



Fonte: Autora, 2017

Figura 9 - Colônias com características de *Streptomyces* spp. isolados da cidade de Campina Grande - PB, no Bairro das Nações.



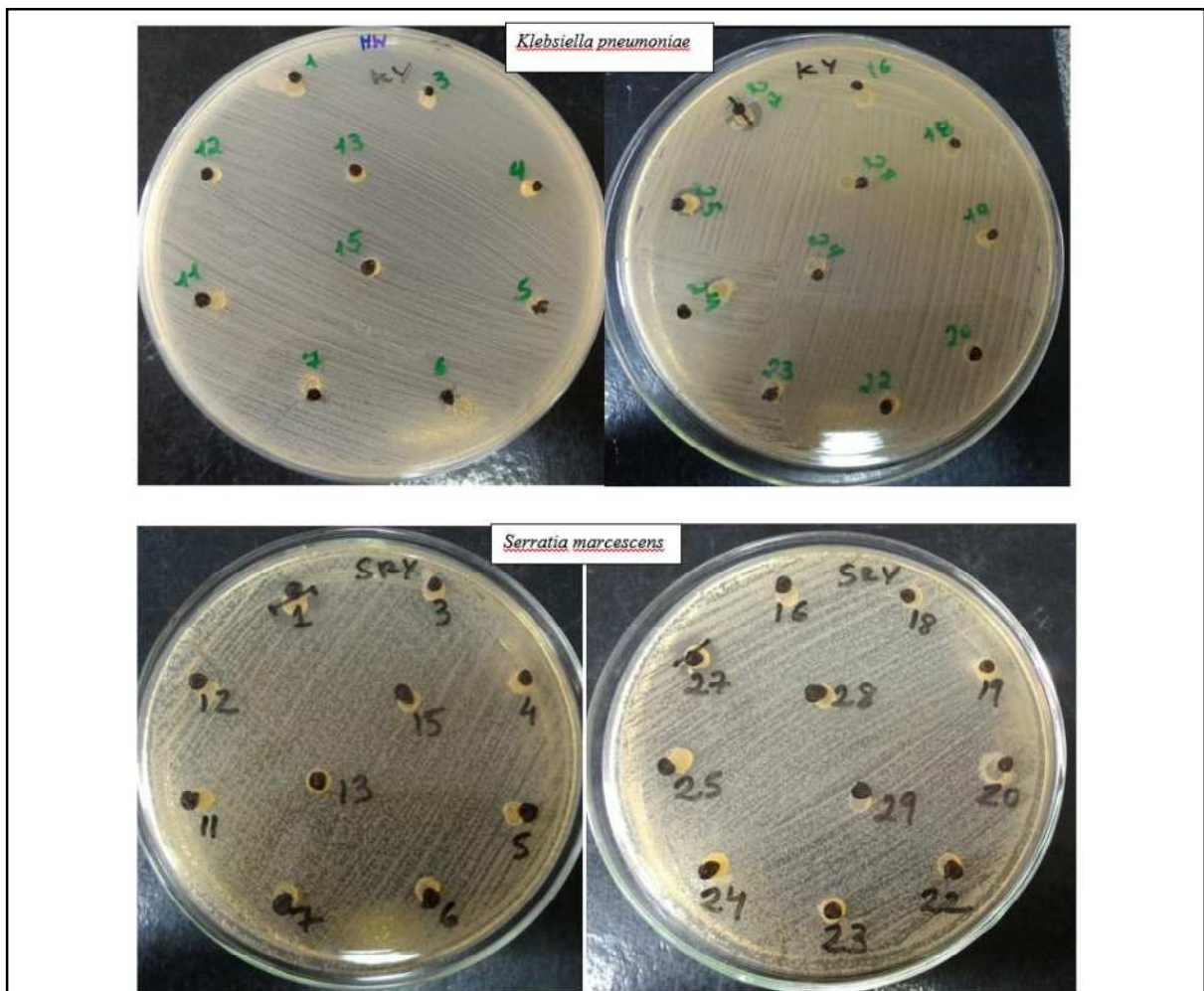
Fonte: Autora, 2017

5.3. Teste da atividade antimicrobiana

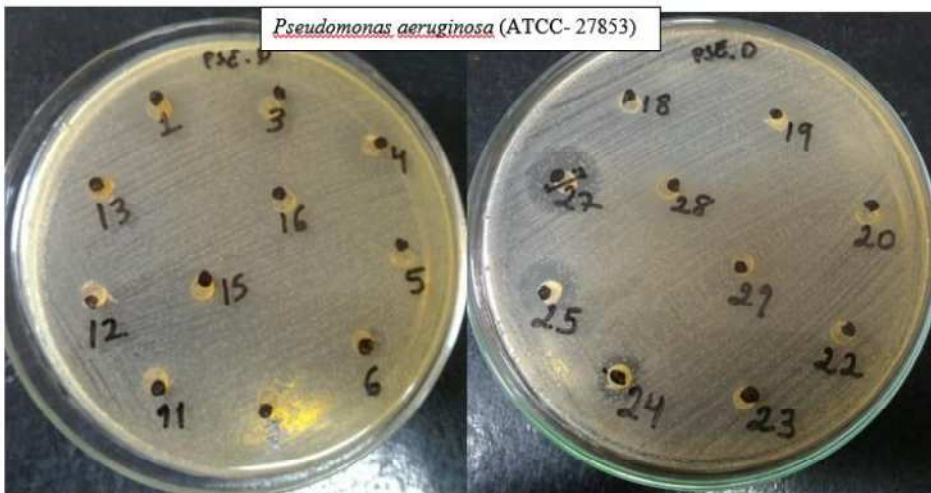
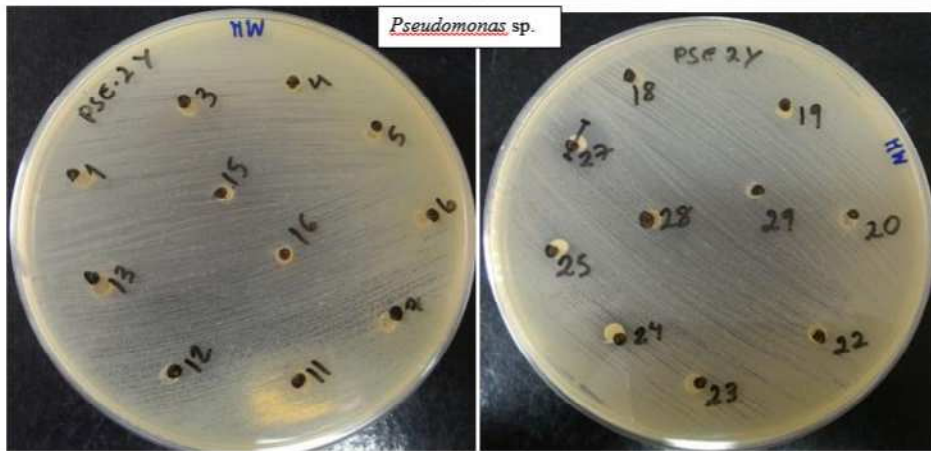
Após o cultivo dos *Streptomyces* em meio Kuster-Williams liquefeito, 9 das 30 colônias, não apresentaram crescimento satisfatório, sendo assim, apenas as placas restantes, o total de vinte uma (21) com colônias homogêneas no meio foram utilizadas para obtenção de pequenos blocos de ágar, para a realização do teste antimicrobiano.

As 21 colônias de *Streptomyces* spp. foram testadas (Figura 10) nas seguintes bactérias *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-27853), *Escherichia coli* (ATCC-25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC-25923).

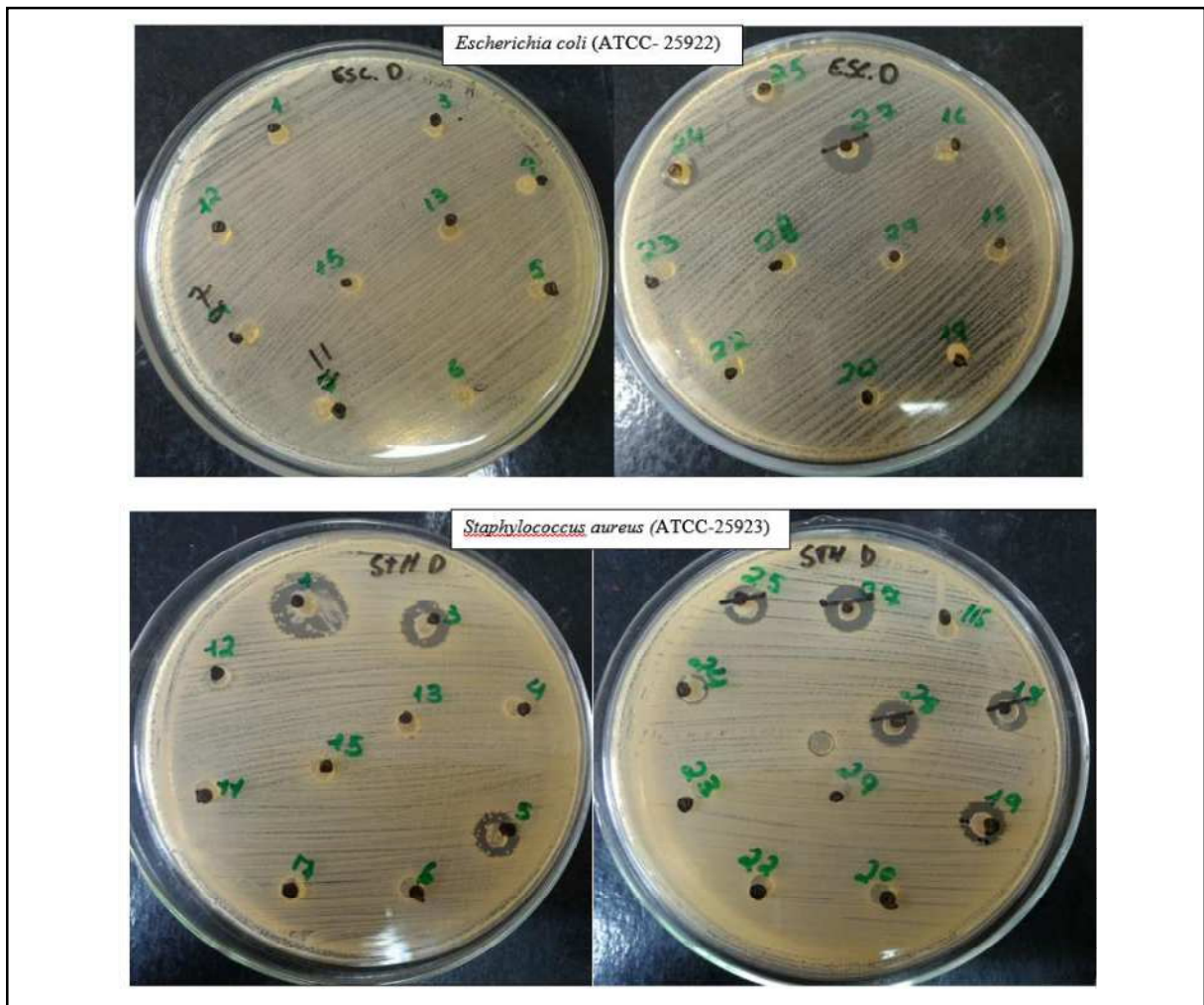
Figura 10 - Teste da avaliação antimicrobiana de *Streptomyces* spp. isolados da cidade de Campina Grande - PB



(Continuação)



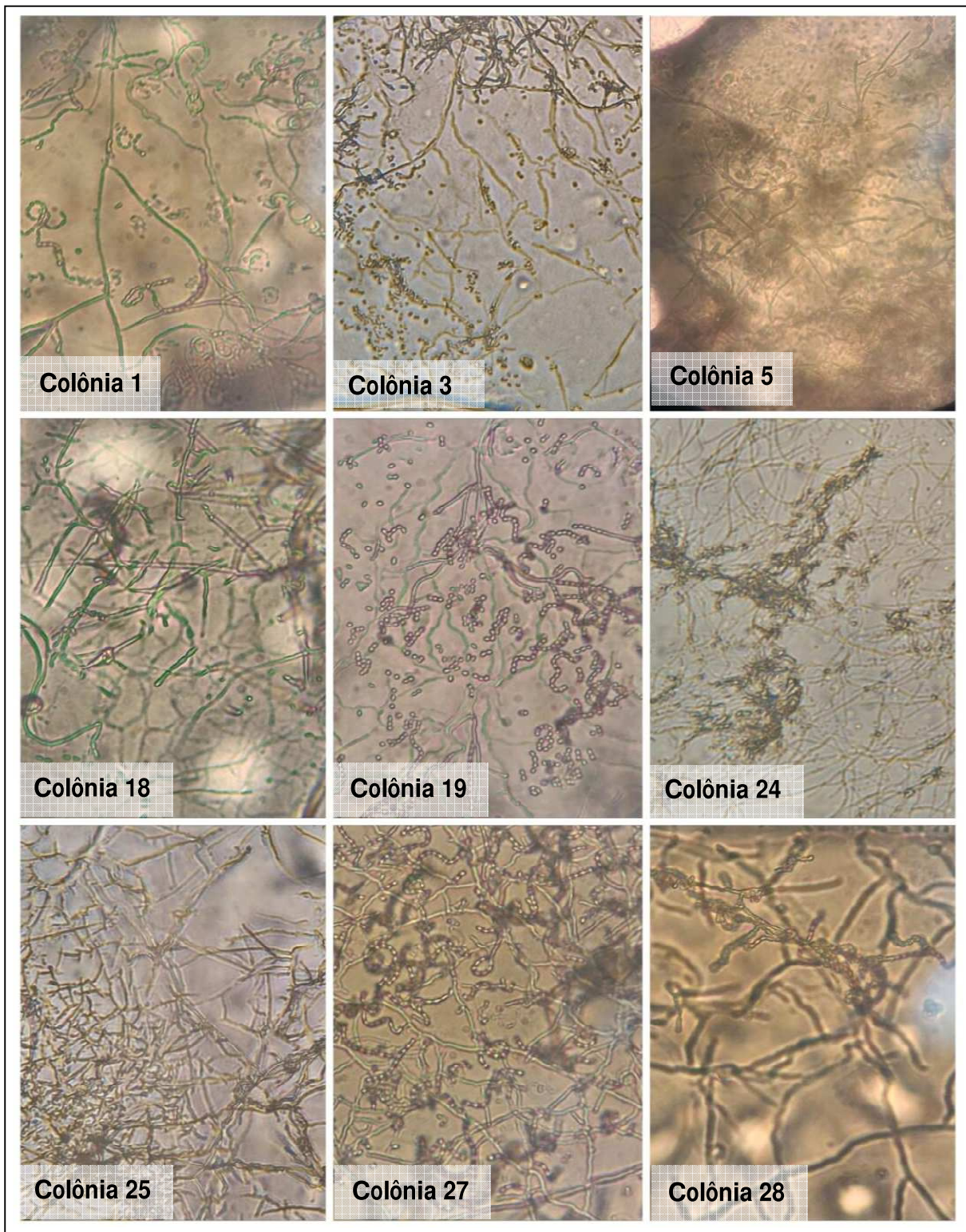
(Continuação)



Fonte: Autora, 2017

Das 21 colônias de *Streptomyces* spp. testadas, 9 (42,86%) foram ativas contra 1 dos 7 microrganismos testados, com halos entre 8 e 17 mm (Tabela 4). Para confirmação micromorfológica dessas 9 cepas ativas, foram efetuadas visualizações dos esporos e micélios aéreos em microscópio ótico (aumento 100x) conforme ilustra a Figura 11.

Figura 11 - Micromorfologia dos *Streptomyces* spp. com atividade antimicrobiana isolados da cidade de Campina Grande - PB



Fonte: Autora, 2017

A colônia de *Streptomyces* 27 apresentou halo de inibição na *Serratia marcescens* de 8 e 11mm, sendo maior e/ou igual ao halo do antibiótico controle Ceftriaxona que apresentou halo de 8mm, também foi possível verificar que *Pseudomonas aeruginosa* foi inibida apenas pela colônia 27, a Tabela 4 detalha o teste completo da atividade antimicrobiana.

O microrganismo mais sensível foi o *Staphylococcus aureus* (ATCC-25923), o qual foi inibido por 8 das 21 colônias de *Streptomyces* spp. (38,1%), seguido de *Escherichia coli* (ATCC- 25922) inibida por 3 colônias de *Streptomyces* spp. (14,3%), *Serratia marcescens* e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC-27853) foram inibidas por 2 colônias de *Streptomyces* spp. (9,5%), *Pseudomonas* sp, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*, foram inibidas por 1 colônia de *Streptomyces* sp. (4,7%) conforme Tabela 4.

Tabela 4 - Teste da atividade antimicrobiana, com identificação das colônias de *Streptomyces* spp. isolados da cidade de Campina Grande - PB com atividade, os respectivos halos de inibição e o controle positivo

Bactérias	Colônia de <i>Streptomyces</i> com atividade	Halos de inibição (mm)	Controle (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC-25923)	1	17	Oxacilina (22mm)
	3	11	
	5	10	
	18	9	
	19	8	
	25	9	
	27	11	
	28	10	
<i>Escherichia coli</i> (ATCC-25922)	24	8	Amoxicilina + Ácido
	25	9	Clavulânico (20 mm)
	27	12	
<i>Serratia marcescens</i>	1	11	Ceftriaxona (8mm)
	27	8	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC-27853)	25	12	Ceftazidima (30mm)
	27	17	

(Continuação)

<i>Bactérias</i>	Colônia de <i>Streptomyces</i> com atividade	Halos de inibição (mm)	Controle (mm)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27	13	Ceftazidima (0mm)
<i>Pseudomonas sp.</i>	27	12	Imipenem (20mm)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	27	10	Imipenem (18mm)

Fonte: Autora, 2017

Três colônias de *Streptomyces* spp. apresentaram atividades significativas nas bactérias testadas, a colônia de número 1, 25 e 27. A colônia de *Streptomyces* 1, inibiu 2 bactérias testadas. A colônia de *Streptomyces* 25 foi ativa em 3 bactérias testadas (42,85%). Já a colônia de *Streptomyces* 27 apresentou atividade antimicrobiana em todas as 7 bactérias testadas (100%) (Tabela 5).

Tabela 5 – Colônias de *Streptomyces* spp. isolados da cidade de Campina Grande - PB com melhores taxas de inibição microbiana frente as 7 cepas testadas

Identificação da colônia (<i>Streptomyces</i> spp.)	Quantidade de bactérias inibidas/porcentagem
Colônia 1	2 (28,57%)
Colônia 25	3 (42,85%)
Colônia 27	7 (100%)

Fonte: Autora, 2017

6. DISCUSSÃO

Na presente pesquisa, foi identificada uma atividade antimicrobiana de 42,86%. Dados semelhantes foram encontrados por Sahin e Ugur (2003), analisaram 74 isolados de *Streptomyces* spp., identificaram uma atividade antimicrobiana de 45,9%, 15 dos seus isolados foram ativos contra um ou mais microrganismos testes, apresentando forte atividade contra *Staphylococcus coagulase-negativo* (CoNS). A menor atividade foi exibida em bactérias Gram-negativas (5,9%).

No presente estudo, identificou-se cepas de *Streptomyces* spp. que foram capazes de inibir o crescimento de *Pseudomonas aeruginosa*. Já Ferreira et al. (2016), analisou uma cepa de *Streptomyces* sp. isolada da rizosfera da planta catingueira (*Caesalpinia pyramidalis* Tul.), na região Semiárida da Caatinga, essa cepa foi nomeada de *Streptomyces* G-27, a qual foi testada em 6 microrganismos, apresentando atividade antimicrobiana em 5 (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Candida albicans*), com halos entre 10 a 31 mm. Ainda segundo Ferreira et al. (2016) nas condições que foram realizados os devidos testes *Streptomyces* G-27 não inibiu o crescimento de *Pseudomonas aeruginosa*.

Vieira (2003) testou 76 colônias de *Streptomyces* spp., 35 (40,05%) colônias foram ativas ao menos contra 1 dos 9 microrganismos testados. O microrganismo mais sensível foi o *Staphylococcus aureus*, o qual foi inibido por 27 colônias de *Streptomyces* spp. (77,14%), seguido de *Candida tropicalis*, inibida por 10 colônias de *Streptomyces* spp. (28,57%), as bactérias *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* e o fungo *Trichophyton rubrum* foram resistentes a todas as colônias de *Streptomyces* spp. testadas.

Nascimento et al. (2014), analisou 67 isolados de *Streptomyces* spp. para produzir metabolitos com atividade antimicrobiana, contra *Staphylococcus aureus* isolados de mastite caprina, foram observados que 10 cepas de *Streptomyces* spp., ou seja, 17% apresentaram halos de inibição contra *S. aureus* com halos entre 10 e 26 mm.

Os dados levantados por Vieira (2003) sobre *Staphylococcus aureus*, são semelhantes aos da presente pesquisa, na qual, *Staphylococcus aureus* foi o microrganismo mais sensível, sendo inibido por 8 cepas de *Streptomyces* spp., resultados também semelhantes os de Nascimento et al. (2014), nós observamos halos entre 8 e 17 mm.

Silva et al. (2016), avaliaram 30 linhagens de *Streptomyces* spp., dentre essas, 2 demonstraram atividade antimicrobiana frente a 7 cepas de *Staphylococcus* spp. multirresistentes que foram isolados da mastite bubalina, a colônia classificada como

Streptomyces sp. DPUA 1452 apresentou halos de inibição de 10 mm, já a colônia identificada como *Streptomyces parvulus* DPUA 1573 apresentou halo de 15 mm. Nós observamos que das 21 cepas testadas, 8 cepas de *Streptomyces* spp. inibiram *Staphylococcus aureus*, com halos de 8 mm a 17 mm.

Soares e colaboradores (2012), realizaram dois ensaios com o isolado de *Streptomyces* sp. nomeado como *Streptomyces* UFPEDA 968, no primeiro teste foi verificada atividade antimicrobiana em *Escherichia coli* e *Mycobacterium tuberculosis* com média dos halos de 20mm. Em seguida foi testada frente a *Staphylococcus aureus* isoladas do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE), apresentando zonas de inibição em torno de 40 mm. Em comparação com nossos resultados, a cepa de *Escherichia coli*, apresentou halos com média de 9,7 mm, já *Staphylococcus aureus* nós observamos halos com média de 10,6 mm.

A colônia de *Streptomyces* 27, mostrou eficácia em todos os patógenos testados. Resultados semelhante foram apresentados por Kumar et al., (2014) que observou 37 culturas de *Streptomyces* spp., esses isolados foram purificados e testados em 13 cepas de bactérias, sendo 5 cepas de bactérias Gram positivas, 8 de bactérias Gram negativas e 10 cepas de fungos. A colônia de *Streptomyces* sp. nomeada de SCA5 mostrou uma melhor atividade antimicrobiana, eficaz contra todos os patógenos testados.

Segundo Chung et al. (2016), realizar a triagem dos metabólitos secundários dos *Streptomyces* é um método simples e eficaz, pois apresenta muitos compostos úteis contra diversas espécies bacterianas. Chung e seus colaboradores (2016), realizaram um estudo para uma nova terapia de combinação com o antibiótico de último recurso: a Polimixina B e a Netropsina (extraído de *Streptomyces netropsis*), essa terapia foi desenvolvida contra bactérias que apresentam resistências a diversas drogas.

Farias et al. (2009) identificou no município de Esperança-PB, que dois isolados de *Streptomyces* spp. nomeados de *Streptomyces* S1 e *Streptomyces* S3, apresentaram zonas de inibição sobre a bactéria fitopatogênica *Ralstonia solanacearum*, com variações dos halos de inibição de 12,00 a 16,50 mm.

Os dados que foram observados no presente estudo corroboram com os resultados das pesquisas anteriores, confirmando assim, que as bactérias do gênero *Streptomyces*, são capazes de inibir satisfatoriamente o crescimento de vários microrganismos patogênicos.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Devido a poucos estudos com as bactérias de gênero *Streptomyces* no agreste Paraibano, a presente pesquisa auxilia no entendimento e na distribuição desse gênero na cidade de Campina Grande, PB.

As bactérias *Streptomyces* spp. isoladas a partir do solo de Campina Grande apresentaram atividade antimicrobiana sob bactérias de interesse clínico, podendo-se concluir que as mesmas possuem uma potencial fonte de novos antibióticos, principalmente a colônia nomeada de *Streptomyces* 27 que apresentou capacidade de inibir todos os microrganismos de testados.

Os dados obtidos sugerem uma futura continuação da pesquisa, tendo em vista a urgência de encontrar novas drogas antimicrobianas para o tratamento de microrganismos resistentes.

REFERÊNCIAS

- ANDERSSON, D. I.; HUGHES, D. Persistence of antibiotic resistance in bacterial populations. **FEMS microbiology reviews**. v. 35, p. 901-911, 2011;
- ANVISA. **Boletim de Segurança do Paciente e Qualidade em Serviços de Saúde nº 12**. Brasília, 2015; Disponível em: <http://www20.anvisa.gov.br/segurancadopaciente/index.php/publicacoes/item/12>; Acessado em: 09/04/2016.
- ANVISA. **Medidas de prevenção e controle da resistência microbiana e programa de uso racional de antimicrobianos em serviços de saúde**. 2016. Localizado em: http://www.anvisa.gov.br/servicosade/controle/rede_rm/cursos/rm_controle/inicio.htm; Acesso em: 08 de janeiro de 2016.
- BAYM, M.; STONE, L. K.; KISHONY.; Multidrug evolutionary strategies to reverse antibiotic resistance. **Science**. v. 351, n. 6268, p. 1-9, 2016.
- BENTLEY S. D.; CHATER K. F.; CERDEÑO-TÁRRAGA A. -M.; CHALLIS G. L.; THOMSON N, R.; JAMES K. D.; HARRIS D. E.; QUAIL M. A.; KIESER H.; Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). **Nature**. v. 417, p. 141-147, 2002;
- BÉRDY, J. Thoughts and facts about antibiotics: Where we are now and where we are heading. **The Journal of Antibiotics**, Japão, v. 65, p. 385-395, 2012;
- BERGEY, D.H.; KRIEG, N. R.; HOLT, J. G.; **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Baltimore, MD: Williams & Wilkins, 1986.
- BOSSO, J. A.; MAULDIN, P. D.; SALGADO, C. D.; The association between antibiotic use and resistance: the role of secondary antibiotics. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 29, p. 1125-1129, 2010;
- BHULLAR, K.; WAGLECHNER, N.; PAWLOWSKI A.; KOTEVA, K.; BANKS, E. D.; JOHNSTON, M. D.; BARTON, H. A.; WRIGHT, G. D.; Antibiotic Resistance Is Prevalent in an Isolated Cave Microbiome. **PLoS ONE**. v. 7, n. 4, 2012.
- BLASER, M. J.; Antibiotic use and its consequences for the normal microbiome. **Science**. v. 352, p. 544-545, 2016
- BROWN, E. D.; WRIGHT, G. D.; Antibacterial drug discovery in the resistance era. **Nature**. v. 529, p. 336-343, janeiro, 2016;
- CDC. **About Antimicrobial Resistance**. Disponível em: <http://www.cdc.gov/drugresistance/about.html>. Acesso em: 09 de janeiro de 2016.
- CDC. **Antibiotic/ Antimicrobial Resistance**. Disponível em: <http://www.cdc.gov/drugresistance/index.html>. Acesso em: 17 de julho de 2016.

CDC. **Making Helath Care Safer.** Disponível em: <<http://www.cdc.gov/vitalsigns/protect-patients/index.html>>. Acesso em: 05 de março de 2016.

CHOPRA, I.; O'NEILL, J.; MILLER, K.; The role of mutators in the emergence of antibiotic-resistant bactéria. **Drug Resistance Updates.** v. 6, n. 3, p. 137-145, 2003.

CHUNG, J. H.; BHAT, A.; KIM, C. J.; YONG, D.; RYU, C. M.; Combination therapy with polymyxin B and netropsin against clinical isolates of multidrugresistant *Acinetobacter baumannii*. **Scientific Reports.** v. 6, n. 28168, p. 1-11, 2016.

CLARDY, J.; FISCHBACJ, M. A.; CURRIE, C. R.; The natural history of antibiotics. **Current Biology.** v. 19, n. 11, 2009.

FARIAS, M. A. A.; LIMA, E. O.; PESSANAH, T. M. A. F.; SILVEIRA, N. F. C.; SOUZA, A. E. F.; Potencial antagônico de *Streptomyces* sp. no controle de fitopatógenos. **Biofar.** v. 03, n. 1, 2009.

FERREIRA, H. K. L.; MACHADO, S. E. F.; SANTANA, R. C. F.; ALBUQUERQUE, L. E. F.; SILVA, I. D. G.; SILVA-LACERDA, G. R.; ARAÚJO, J. M.; LIMA, G. M. S.; Avaliação in vitro do potencial antimicrobiano de *Streptomyces* sp G-27 contra microrganismos de interesse clínico. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental e Sustentabilidade.** Recife/PE. v. 3, n. 6, p. 267-373, 2016.

FLARDH, K. Growth polarity and cell division in *Streptomyces*. **In Current Opinion in Microbiology.** v. 6, n. 6, p. 564-571, 2003.

FLEMING, A. On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of B. influenza. **British Journal of Experimental Pathology.** v. 10, n. 3, p. 226–236, 1929.

FURUYA, Y. E.; LOWY, F. D.; Antimicrobial-resistant bactéria in the community setting. **Nature reviews.** v. 4, n. 1, p. 36-45, 2006.

GARCIA-QUINTANA, H.; ZAROR, C. L.; LEICA, O. S.; Efeito antibiótico de cepas silvestres de *Streptomyces* isoladas de suelos chilenos. **Revista médica de Chile.**, v.125, p 1157-1164, 1997.

HODSON, D. A.; Primary metabolism and its control in streptomycetes: A most unusual group of bactéria. **Advances in Microbial Physiology.** v. 42, p. 47- 238. 2000.

HOLMES, A. H.; MOORE, L. S. P.; SUNDSFJORD, A.; STEINBAKK, M.; REDMI, S.; KARKEY, A.; GUERIN, P. J.; PIDDOCK, L. J. V.; Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. **The lancet.** v. 387, n. 10014, p 176-187, 2015.

HOPWOOD, D. A.; **Streptomyces in Nature and Medicine: The. Antibiotics Makers,** Oxford University: New York, 2007.

HWANG, K. S.; KIM, H. U.; CHARUSANTI, P.; PALSSON, B.; LEE, S. Y.; Systems biology and biotechnology of *Streptomyces* species for the production of secondary metabolites. **Biotechnology Advances.** v. 32, p. 255-268, 2014.

KUMAR, S. P.; AL-DHUBI, N. A.; DURAIPANDIYAN, V.; BALACHANDRAN, C.; KUMAR P. P.; IGNACIMUTHU, S. In vitro antimicrobial, antioxidant and cytotoxic properties of *Streptomyces lavendulae* strain SCA5. **BMC Microbiology**. v. 14, n 291, 2014;

KÜSTER, E. & WILLIAMS, S.T. Selection of media for the isolation of streptomycetes. **Nature**. 202:928-929. 1964;

LAXMINARAYAN, R.; Antibiotic effectiveness: Balancing conservation against innovation. **Science**. v. 345, n. 6202, p. 1299-1301, 2014.

LEDERBERG, J.; Infectious History. **Science**. v. 288. n. 5464, p. 287 – 293, 2000.

LEVINSON, Warren. **Microbiologia médica e imunologia**. 10. ed. Porto Alegre: ArtMed, 2010. 663 p

LING, L. L.; SCHNEIDER, T.; PEOPLES, A. J.; SPOERING, A. L.; ENGELS I.; CONLON, B. P.; MUELLER, A.; SCHÄBERLE, T. F.; HUGHES, D. E.; et al. A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. **Nature**. v. 517, p. 455- 459, 2015

LIPSITCH, M.; SAMORE, M. H.; Antimicrobial use and antimicrobial resistance: A population perspective. **Emerging Infectious Diseases**. v. 8, n. 4. Abril, 2002;

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARK, D. P. **Microbiologia de Brock**. 12. ed., Porto Alegre: Artmed, 2010. 1160 p.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D. H.; **Microbiologia de Brock**. 14ª edição, Porto Alegre, Artmed, 2016. p. 960

MIYADOH, S. Research on antibiotic screening in Japan over the last decade: A producing microorganisms approach. **Actinomycetologica**. v. 7, n. 2, 1993;

NASCIMENTO T. P.; PORTO, C. S.; TEIXEIRA, M. F. S.; PORTO, T. S.; PORTO, A. L. F.; Produção de biocompostos com atividade antimicrobiana de *Streptomyces* sp. ante isolados de mastite caprina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 66, n. 1, 2014.

NOBEL. **The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2015**. Localizado em: <http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2015/press.html>; Acessado em: 20 de setembro de 2016.

NORRIS, J.; RIBBONS, D. 1971. **Methods in Microbiology**, 5B, pp. 264. Academic, London, New York.

ŌMURA, S.; IKEDA, H.; ISHIKAWA, J.; HANAMOTO, A.; TAKAHASHI, C.; SHINOME, M.; TAKAHASHI, Y.; HORIKAWA, H.; NAKAZAWA, H.; OSONOE, T.; KIKUCHI, H.; SHIBA, T.; SAKAKI, Y.; HATTORI, M.; Genome sequence of an industrial microorganism *Streptomyces avermitilis*: Deducing the ability of producing secondary metabolites. **Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)**. v. 98, n. 21, 2001;

OPAS/OMS. **Crescente resistência aos antibióticos obriga alterações no tratamento recomendado para infecções sexualmente transmissíveis.** Localizado em: <http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5209:crescente-resistencia-aos-antibioticos-obriga-alteracoes-no-tratamento-recomendado-para-infeccoes-sexualmente-transmissiveis&catid=1272:noticiasdtent&Itemid=816>; Acessado em: 19 de setembro de 2016.

OMS. **A crescente ameaça da resistência antimicrobiana.** Localizado em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75389/3/OMS_IER_PSP_2012.2_por.pdf>; Acessado em: 19 de setembro de 2016.

PIDDOCK, L. J. V.; Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacteria. **Clinical Microbiology Reviews.** v. 19, n. 2, p. 382-402, 2006.

PROBHAVATHI, F.; Antibacterial discovery and development—the failure of success?. **Nature Biotechnology.** v. 24, n. 12, p. 1497-1503, 2006.

PROCÓPIO, R. E. L.; SILVA, I. R.; MARTINS, M. K.; AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, J. M.; Antibiotics produced by *Streptomyces*. **The Brazilian Journal Infectious Diseases.** v. 16, n. 5, p. 466–471, 2012;

PROJAN, S. J.; SHLAES, D. M.; Antibacterial drug discovery: is it all downhill from here? **Clinical Microbiology and Infection,** v.10, n. 4, p. 18-22, 2004.

SAHIN, N.; UGUR, A.; Investigation of the Antimicrobial Activity of some *Streptomyces* isolates. **Turkish Journal of Biology.** v. 27, p. 79-82, 2003.

SEIPKE, R. F.; KALTENPOTH, M.; HUTCHINGS, M. I.; *Streptomyces* as symbionts: an emerging and widespread theme?. **FEMS Microbiology Reviews.** v. 36, n. 4, p. 862-876, 2012.

SEIPLE, I. B.; ZHANG, Z.; JAKUBEC, P.; MERCIER, A. L.; WHIGHT, P. M.; HOG, D. T.; YABU, K.; ALLU, S. R.; FUKUZAKI, T.; CARISEN, P. N.; KITAMURA, Y.; ZHOU, X.. CONDAKES, M., L.; SZSZYPINSKI, F. T.; GREEN, W. D.; MYERS, A. G.; A platform for the discovery of new macrolide antibiotics. **Nature.** v. 533, p. 338- 345, 2016.

SERRANO J.A.; SANDOVAL, H. **Técnicas para el aislamiento y diagnóstico de los Actinomycetales, Manual de Laboratorio.** Valdivia: Facultad de Medicina UAL. 1992.

SILVA, J. M.; CLEMENTINO, E. L.; CUNHA, M. N. C.; PORFÍRIO, K. P. S.; MOTA, R. A.; TEIXEIRA, M. F. S.; PORTO, T. S.; PORTO, A. L. F.; PORTO, C. S.; Atividade antimicrobiana de moléculas bioativas produzidas por *Streptomyces parvulus* DPUA 1573 frente a *Staphylococcus* spp. Multirresistentes de mastite bubalina. **Pesquisa Veterinária Brasileira.** v. 36, n. 9, p. 805-810, 2016.

SORES, E. C. L.; COSTA, E. P.; SILVA, L. C. N.; ARAÚJO, J. M.; Isolamento, Identificação e Atividade Antimicrobiana de *Streptomyces* sp. UFPEDA 968. **Scientia Plena.** v. 8, n. 12, p. 1-7, 2012.

TENOVER, F. C.; Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. **The American Journal of Medicine**. v. 119, n. 6A, p. 3-10, 2006.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L.; **Microbiologia**, 10^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. p.877

TRABULSI, L.R. e ALTERTHUM, F.; **Microbiologia**. 4^a ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2004.

UEDA, k.; BEPPU, T.; Antibiotics in microbial coculture. **The Journal of Antibiotics**. p, 1-5, 2016.

VIEIRA, K. V. M.; **Identificação e atividade antimicrobiana de *Streptomyces* isolados do solo do estado da Paraíba**. 2003. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2003.

VINCENT, B. M.; LANCASTER, A. K.; SHOUVAL, R. S.; WHITESELL, L.; LINDQUIST, S.; Fitness Trade-offs Restrict the Evolution of Resistance to Amphotericin B. **PLoS Biology**. v. 11, n. 10, p 1-17, 2013.

WANG, L.; GOO C.; TANG N.; HU S.; WU Q. Identification of genetic variations associated with epsilon-poly-lysine biosynthesis in *Streptomyces albulus* ZPM by genome sequencing. **Scientific Reports**. v. 5, n 9201. 2015;

WANG, T.; CHEN, Z.; CHENG, Q.; ZHOU, M.; TIAN, X.; XIE, P.; ZHONG, L.; SHEN, M.; QIN, Z.; Characterization of replication and conjugation of plasmid pWTY27 from a widely distributed *Streptomyces* species. **BMC Microbiology**, v. 12, n. 253, p. 1-14, 2012.

WEZEL, G. P. V.; MCDOWALL, K. J. The regulation of the secondary metabolism of *Streptomyces*: new links and experimental advances. **Natural Product Reports**. v. 28, p. 1311-1333, 2011.

ZOWAWI, H. M.; HARRIS, P. N. A.; ROBERTS, M. J.; TAMBYAH, P. A.; SCHEMBRI, M. A.; PEZZANI, M. D.; WILLIAMSON, D. A.; PATERSON, D. L.; The emerging threat of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in urology. **Natura reviews**. v. 12, n. 10, p. 570-584, 2015.