



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS V – MINISTRO ALCIDES CARNEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SOCIAIS APLICADAS
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

MARIA HELENA DO NASCIMENTO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *MICROCOCCUS LUTEUS*
ISOLADOS DO SEMIÁRIDO PARAIBANO**

**JOÃO PESSOA
2018**

MARIA HELENA DO NASCIMENTO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *MICROCOCCUS LUTEUS*
ISOLADOS DO SEMI-ÁRIDO PARAIBANO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Brígida Thais Luckwu de Lucena

**JOÃO PESSOA
2018**

É expressamente proibido 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 do trabalho.

N241a Nascimento, Maria Helena do.
Avaliação da atividade antimicrobiana de *Micrococcus luteus* isolados do semiárido paraibano. [manuscrito] / Maria Helena do Nascimento. - 2018.
41 p. : il. colorido.
Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e Sociais Aplicadas, 2018.
"Orientação : Profa. Dra. Brígida Thais Luckwu de Lucena, Coordenação do Curso de Ciências Biológicas - CCBSA."
1. Bioprospecção. 2. Antimicrobianos. 3. Caatinga. I. Título
21. ed. CDD 615.32

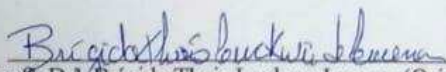
MARIA HELENA DO NASCIMENTO

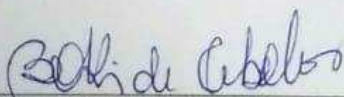
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *MICROCOCCUS LUTEUS*
ISOLADOS DO SEMI-ÁRIDO PARAIBANO


Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Ciências Biológicas da Universidade
Estadual da Paraíba, como requisito
parcial à obtenção do grau em Bacharel
em Ciências Biológicas.

Aprovada em: 06/12/2018.

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Brígida Thais Luckwu Lucena (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)


Prof. Dr. Beatriz Susana Ovruski de Ceballos
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)


Prof. Dr. Norma Buarque de Gusmão
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

A minha mãe e minha irmã, por todo apoio, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Durante toda minha vida acadêmica pessoas entraram e saíram da minha vida, mas de certa forma marcaram sua passagem e contribuíram para minha formação. E neste momento quero agradecer a cada um.

Primeiramente agradeço a Deus, por sempre está comigo, principalmente nos momentos mais difíceis da minha vida acadêmica, sempre me mostrando o melhor caminho a seguir.

A minha mãe, Maria das Mercês, por todo apoio, todo amor e carinho, e principalmente por sempre me incentivar a cursar a Biologia.

A minha querida irmã, Maria de Fátima, só tenho a agradecer por toda paciência e compreensão, principalmente nos dias em que meu estresse transbordava. Porém unidas conseguimos trilhar nosso caminho de dedicação aos estudos.

Ao meu namorado Leandro, por toda atenção e motivação. Não sei mensurar o tamanho do apoio que ele me deu durante todos os momentos difíceis que tive em minha vida acadêmica. Grata meu amor!

A minha professora Brígida Thaís, que em meu segundo período me aceitou em seu laboratório, e com toda paciência do mundo me ensinou tudo que sei hoje. Jamais irei esquecer o quanto ela foi boa comigo ao me dar essa oportunidade de crescer como pessoa e como profissional. Só tenho a agradecer pela confiança depositada em mim para a realização deste trabalho. Serei eternamente grata pois sua orientação foi essencial para a construção desse trabalho e finalização dessa etapa. Além disso, pude aprender muito sobre a vida ao lado de um ser humano de tanta luz e sabedoria. Thank's!

A todas as minhas companheiras de laboratório, em especial Gabrielly e Raissa, por sempre me manterem calma e me ajudarem com palavras de carinho e de encorajamento. Também agradeço a Layanne pelos ensinamentos em laboratório. E, agradeço também as mais novas integrantes do grupo Vitória e Virginia pelos momentos de descontração e pela amizade.

Aos meus amigos, Otoniel e Filipe, que são os dois presentes que Deus e a biologia me deram, eles sim sabem de toda a minha trajetória na vida academia, e sempre estiveram comigo nos momentos que quase pirei. Otoniel com todo seu jeito chato de ser me ajudou a me tornar uma pessoa e profissional melhor, sempre me encorajando a nunca desistir dos

meus sonhos, além disso ser tornou quase um irmão que não tive... Obrigado por tudo, inclusive pelos puxões de orelha!

Também agradeço as palavras de apoio e encorajamento dos outros amigos como Sarah, Alice, Rogério, Marini, Jesarela, Bruna e Nathalia.

As minhas professoras, Daniela Pontes e Enelise Amado, pois muitas vezes escutaram minhas lamentações e me deram palavras de apoio, que ajudaram muito Além disso, agradeço a professora Enelise por disponibilizar os equipamentos do seu laboratório para que eu pudesse realizar parte do meu projeto. Grata!

A professora Beatriz Ceballos, agradeço por me disponibilizar as cepas bacterianas para que eu pudesse realizar meus experimentos, além disso agradeço pelas palavras de carinhos trocadas via e-mail.

Agradeço a professora Norma B., pelos ensinamentos que obtive em suas aulas na pós-graduação, obrigado por toda paciência e por todos os esclarecimentos sobre a metodologia que utilizarei.

Agradeço ao professor Francisco M. por me ajudar disponibilizando os equipamentos do LSVM e ao professor Rodrigo Santos que com toda atenção e paciência se dispôs a me ajudar em minha metodologia.

Por fim agradeço, UEPB e CNPq, pelos financiamentos.

*“Sei que o meu trabalho é uma gota no
oceano, mas sem ele,
o oceano seria menor.”*

Madre Teresa

RESUMO

Nos últimos anos, devido ao aparecimento de cepas patogênicas resistentes a múltiplos fármacos (MDR), existe a necessidade de busca de novos compostos antimicrobianos. As bactérias isoladas de regiões semiáridas são fonte promissora de descobertas de novos compostos antimicrobianos, visto que podem ativar diferentes vias metabólicas quando submetidas a condições de estresse, o que conseqüentemente pode levar à produção de metabólitos secundários ainda não estudados, e isso abre a possibilidade de descobertas de novos produtos bioativos e desenvolvimento de novos antimicrobianos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antimicrobiano de *Micrococcus luteus* isolados do solo do semiárido paraibano. Catorze isolados de *Micrococcus luteus* foram avaliados quanto à atividade antimicrobiana através dos métodos de bloco de gelose e de difusão em disco. Nenhum dos isolados de *Micrococcus luteus* estudados apresentou atividade antimicrobiana contra as cepas testadas pelo método do bloco de gelose. No entanto, seis cepas apresentaram atividade contra *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae* e duas apresentaram contra *Aeromonas hydrophila* e *Serratia marcescens*, quando testadas pelo método de difusão em ágar. Portanto, diante dos resultados obtidos, pode-se inferir que 42,86% dos isolados testados apresentaram atividade antimicrobiana frente aos microrganismos teste. Contudo, outros estudos são necessários para comprovar a efetividade dos mesmos.

Palavras-chaves: Bioprospecção. Antimicrobianos. Caatinga.

ABSTRACT

In recent years, due to the emergence of multidrug resistant pathogenic strains (MDR), it has been searching for new antimicrobial compounds. The bacteria isolated from semi-arid regions seem to be a promising source of discoveries of new metabolites, seeing that they can activate diferente metabolic pathways when subjected to stress conditions, and consequently may lead to the production of secondary metabolites not yet studied, opening, thus, the possibility of discoveries of new bioactive products and development of new antimicrobials. The purpose of this work was screened for the antimicrobial potential of *Micrococcus luteus* isolated from the semiarid Paraíba soil. Fourteen isolates of *Micrococcus luteus* were evaluated for antimicrobial activity by disk diffusion and agar piece methods. None of the isolates of *Micrococcus luteus* showed antimicrobial activity when tested by the agar piece method. However, six strains showed activity against *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* and two against *Aeromonas hydrophila* and *Serratia marcescens*, when tested by disk diffusion. Thereby, given the results obtained, it can be inferred that 42,86% of the isolates tested the antimicrobial activity against the test microorganisms. Although further studies are needed to confirm their effectiveness.

Key-words: Bioprospection. Antimicrobials. Caatinga.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Método bloco de gelose, modificada de Ichikawa, Ishikura & Ozaki (1971) ...	13
Figura 2 – Método de difusão em disco, modificado de Bauer et al., 1966	14
Figura 3 - Imagens representativas do resultado do método de bloco de gelose	15
Figura 4 – Isolado FT 9.7, apresentando halo de inibição médio de 9,43 mm, segundo a metodologia de difusão em disco, Bauer et al., 1966, modificado, frente a <i>S. aureus</i>	16
Figura 5 – Isolado FT 9.10, apresentando halo de inibição médio de 7,37 mm, segundo a metodologia de difusão em disco, Bauer et al., 1966, modificado, frente a <i>S. aureus</i>	16
Figura 6 – Isolado FT 9.11, apresentando halo de inibição médio de 7,51 mm, segundo a metodologia de difusão em disco, Bauer et al., 1966, modificado, frente a <i>S. aureus</i>	17
Figura 7 – Isolado FT 9.12, apresentando halo de inibição médio de 11,57 mm, segundo a metodologia de difusão em disco, Bauer et al., 1966, modificado, frente a <i>S. aureus</i>	17
Figura 8 – Isolado FT 9.13, apresentando halo de inibição médio de 7,44 mm, segundo a metodologia de difusão em disco, Bauer et al., 1966, modificado, frente a <i>S. aureus</i>	18
Figura 9 - Isolado FT 9.15, apresentando halo de inibição médio de 9,58 mm, segundo a metodologia de difusão em disco, Bauer et al., 1966, modificado, frente a <i>S. aureus</i>	18
Figura 10 - FT 9.7 e FT 9.10, apresentando halos de inibição médio de 6,52 mm e 6,47 mm, respectivamente, segundo a metodologia de difusão em disco, Bauer et al., 1966, modificado, frente a <i>K. pneumoniae</i>	20
Figura 11 - Isolados FT 9.12 e FT 9.11, apresentando halos de inibição médio de 6,19 mm, respectivamente, segundo a metodologia de difusão em disco, Bauer et al., 1966, modificado, frente a <i>K. pneumoniae</i>	21
Figura 12 - Isolados FT 9.15 e FT 9.13, apresentando halos de inibição médio de 6,0 mm e 6,25 mm, respectivamente, segundo a metodologia de difusão em disco, Bauer et al., 1966, modificado, frente a <i>K. pneumoniae</i>	21

- Figura 13 - Isolados FT 9.7 e FT 9.10, apresentando halos de inibição médio de 6,54 mm, respectivamente, segundo a metodologia de difusão em disco, Bauer et al., 1966, modificado, frente a *A. hydrophyla* 22
- Figura 14 - Isolados FT 9.7 e FT 9.10, apresentando halos de inibição médio de 6,57 mm, respectivamente, segundo a metodologia de difusão em disco, Bauer et al., 1966, modificado, frente a *S. marcescens* 22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Isolados de <i>Micrococcus luteus</i>	11
Tabela 2 – Classificação da atividade antimicrobiana, adaptado de Matsuura (2004)	13
Tabela 3 – Resultados da atividade antimicrobiana, segundo a metodologia de Bauer et al. (1966), frente as bactérias clínicas	20

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CBAM – Coleção de bactérias da Amazônia

GDBM – Grupo de Diversidade e Biotecnologia Microbiana

Dpto. – Departamento

FT – Fazenda Tamanduá

INCQS – Instituto Nacional de Controle de Qualidade de Saúde

LaGeB – Laboratório de Genética e Biotecnologia

NP – Produto natural

S – Sintético

PB – Paraíba

RPPN – Reserva Particular do Patrimônio Natural

TSB – Caldo Triptona de Soja

UFPB – Universidade Federal da Paraíba

UV – Ultra violeta

UFC – Unidade Formadora de Colônia

LISTA DE SÍMBOLOS

% – Porcentagem

- – Menos

+ – Mais

± – Mais ou menos

β – Beta

°C – Graus Celsius

G – Grama

g – Gravidade

Km – Quilômetros

μL – Microlitro

mL – Mililitro

Mm – Milímetros

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Histórico dos antibióticos	1
1.2	Resistência aos antibióticos	3
1.3	Microrganismos produtores de compostos antimicrobianos	4
1.4	Características gerais das <i>Actinobacteria</i>	6
1.4.1	<i>Micrococcus luteus</i>	7
1.5	Caatinga	8
2	OBJETIVO	10
2.1	Objetivo Geral	10
2.2	Objetivos Específicos	10
3	METODOLOGIA	11
3.1	Isolados bacterianos	11
3.2	Análise do potencial antimicrobiano	11
3.2.1	Microrganismos teste	11
3.2.2	Ensaio em meio sólido	12
3.2.2.1	Método bloco de gelose	12
3.2.2.2	Método de difusão em disco	13
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	26
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

1 INTRODUÇÃO

1.1 Histórico dos antibióticos

O termo antibiótico (do grego *anti+bíos* – “contrário da vida”) foi introduzido em 1889 pelo micologista francês, Paul Vuillemin. Na década de 1940, o microbiologista descobridor da estreptomicina, Selman Waksman conceituou antibiótico como substâncias produzidas por microrganismos com potencial de inibição ou destruição de outros microrganismos em soluções diluídas (STROHL, 1997; BELLOSO, 2009). Portanto, os antibióticos são considerados hoje compostos naturais ou sintéticos, classificados como bacteriostáticos (quando inibem o crescimento microbiano) ou bactericidas (quando causam morte de bactérias) (CHAMBERS, 2003; WALSH et al., 2003; SILVA, 2018).

A descoberta dos antibióticos iniciou-se em 1910, quando Paul Ehrlich desenvolveu o primeiro antibiótico sintético (salvarsan) utilizado contra a sífilis. Posteriormente houveram poucas descobertas para o desenvolvimento de novos compostos bioativos, até o desenvolvimento da proflavina, utilizado contra infecções durante a Segunda Guerra mundial, porém este composto foi considerado tóxico para ser utilizado contra infecções bacterianas, o que comprovava a necessidade de obter compostos mais eficazes (AMINOV, 2010).

O principal marco na história dos antibióticos foi a descoberta da penicilina em 1928, por Alexander Fleming (PEREIRA e PITA, 2005; NICOLAOU e MONTAGNON, 2008). A atividade deste composto era superior à das sulfas, e o fato dos fungos produzirem substâncias capazes de conter a proliferação bacteriana, proporcionando a cura de diversas doenças infecciosas, motivou a busca de novos antibióticos gerados por culturas de microrganismos (BETINA, 1983; DELEO e CHAMBERS, 2009; GUIMARÃES et al., 2010).

O ano de 1935 foi marcado pela descoberta do pró fármaco prontossil, pelo pesquisador Gerhard Domagk, no qual este composto demonstrava atividade contra infecções causadas por *Streptococcus spp.* A descoberta do prontossil ocasionou a produção de uma nova classe de antibióticos sintéticos, são elas: as sulfas ou sulfonamidas, as quais formaram a primeira classe de compostos contra infecções sistêmicas utilizadas desde os inícios de 1940 (GUIMARÃES et al., 2010).

Entre os anos de 1940-1960 diversos antibióticos foram desenvolvidos através de triagens de produtos naturais microbianos, sendo a maioria deles utilizados para o tratamento de bactérias Gram positiva como: peptídeos (vancomicina), macrolídeos (eritromicina), β -lactâmicos (cefalosporina), aminoglicosídeos (estreptomicina), tetraciclina (clortetraciclina),

e outros (cloranfenicol, rifamicina B, clindamicina e polimixina). E neste período somente três derivados sintéticos foram produzidos (HARAGUCH, 2000; FERNANDES, 2006; GUIMARÃES et al., 2010; WALSH e WENCEWICZ, 2014).

Durante os anos de 1960-1980 foram inserido no mercado diversos antibióticos semi-sintéticos eficientes para tratamento contra patógenos Gram positivos e Gram negativos, similares aos antibióticos de origem natural. Grande parte destes antibióticos foram obtidos a partir de protótipos naturais microbianos, como derivados análogos da tetraciclina, derivados aminoglicosídicos (gentamicina, tobramicina, amicacina), b-lactâmicos (análogos de penicilina e cefalosporina, ácido clavulânico, aztreonam) (FERNANDES, 2006; GUIMARÃES et al., 2010).

Entre os anos de 1980-2000 houve uma diminuição na identificação de novos antibióticos, ao mesmo tempo em que sucedeu um aumento na incidência de resistência bacteriana. Esta época foi marcada pela alteração no mercado dos antibióticos em decorrência da introdução da classe das fluoroquinolonas sintéticas na metade dos anos de 1980, concebidas a partir do ácido nalidíxico, e por antibióticos como imipenem, derivado do β -lactâmico e análogos da eritromicina (GUIMARÃES et al., 2010).

Desde 2000, trinta novos antibióticos (dois formados a partir de produtos naturais, doze derivados de produtos naturais e dezesseis derivados de sintéticos) e duas novas combinações de inibidores de β -lactâmicos / β -lactamases foram divulgados. Destes 30 novos antibióticos, cinco eram considerados de primeira classe: retapamulina (pleuromutilina, NP-derivada, 2007), daptomicina (lipopeptídeo, NP, 2003), linezolida (oxazolidinona, S, 2000), bedaquilina (diarilquinolina, S, 2012) e fidaxomicina (tiacumicina, NP, 2011). Dentre os 16 antibióticos derivados sinteticamente, dois foram oxazolidinonas, onze foram quinolonas e três eram das classes de nitroimidazol, tiossemicarbazona e diarilquinolina (BUTLER; BLASKOVICH; COOPER, 2016).

Recentemente foram descobertos novos antimicrobianos, como teixobactina produzido por uma nova espécie de β -proteobactéria temporariamente chamada *Eleftheria terrae*, que possui atividade contra *Staphylococcus aureus* e *Mycobacterium tuberculosis* (LING et al., 2015) e o antibiótico *lugdunin* onde possui uma potente atividade antimicrobiana contra diversas bactérias patogênicas gram-positivas, como por exemplo *S. aureus* resistente a meticilina. (ZIPPERER et al., 2016).

Moléculas já identificadas e conhecidas podem representar compostos antimicrobianos mais comumente produzidos por actinobactérias ou fungos e, portanto, mais facilmente

detectadas usando abordagens tradicionais. A busca por novos compostos antimicrobianos, principalmente de origem sintética, em que se baseia sobretudo na modificação química de moléculas previamente identificadas com alvos conhecidos, tem sido cada vez mais empregada para a produção de novos antibióticos. Portanto, por mais que a triagem de produtos naturais possa continuar a ser otimizada para identificar moléculas de menor abundância, o rendimento das técnicas tradicionais em termos do número de novos compostos identificados pode não retornar aos níveis observados durante as décadas de 1930 e 1970, quando se viu a introdução de novos antibióticos com novos mecanismos de ação (PAYNE et al., 2007; BUSH e PUCCI, 2011). Porém a busca por compostos antimicrobianos tem se tornado constante, procurando-se a eliminação das bactérias “super-resistentes” e infecções oportunistas fatais, relacionadas a quimioterapia, AIDS, transplantes e antineoplásios (PENNA et al., 2001; AVENDAÑO, 2015)

1.2 Resistência aos antibióticos

A busca por novos compostos farmacológicos tem se tornado constante, principalmente devido à resistência bacteriana a múltiplos antibióticos (TAKAHASHI et al., 2008; BRITO e CORDEIRO, 2012).

A resistência aos antibióticos atualmente é um dos grandes problemas de saúde pública mais importantes, uma vez que o desenvolvimento da resistência é considerada uma resposta evolutiva a alta pressão seletiva resultante do uso excessivo desses compostos, havendo uma correlação entre um alto consumo de antibióticos e níveis altos de resistência microbiana (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2005; MULVEY e SIMOR 2009; WRIGHT 2010).

O uso indiscriminado e excessivo de fármacos para fins medicinais, na produção de alimentos para animais e agricultura, tem sido os fatores que aumentam o número de cepas resistentes por mecanismos intrínsecos (resistência natural, por exemplo), e por seguinte, através de mecanismos de transferência que compartilham genes de resistência, como a transferência horizontal de genes por transformação, transdução e conjugação (GURGEL e CARVALHO, 2008; TAKAHASHI et al., 2008; HAWKEY, 2008; ZIMERMAN, 2010; CRISLER et al., 2012; PROCOPIO et al., 2012; BAPTISTA, 2013; VENTURA et al., 2016). Além disso o desenvolvimento de bactérias resistentes pode ser motivados mediante a produção agrícola, no qual as bactérias resistentes podem contaminar os vegetais pela exposição à água contaminada (na irrigação, por exemplo) ou até mesmo pelo solo contaminado (HOLVOET et

al., 2013), falta de saneamento, más condições de higiene, deslocamento e agrupamento de pessoas, entre outros (BRUINSMA et al., 2002; VON NUSSBAUM et al., 2006; ARAÚJO et al., 2016)

Devido a estes fatores, que conseqüentemente disseminam a resistência aos antibióticos, nos últimos anos pesquisadores têm se dedicado à exploração de novos fármacos, a partir de buscas de fontes naturais ainda pouco estudadas, visto que organismos obtidos de novos ecossistemas estão constantemente associados a nova diversidade química (CLARDY e WALSH, 2004). Portanto, novas pesquisas visam antibióticos eficazes a bactérias “super-resistentes” e com baixas possibilidades de desenvolverem resistência (PIMENTA e ROSENDO 2009; AVENDAÑO, 2015).

1.3 Microrganismos produtores de compostos antimicrobianos

Os produtos naturais microbianos são considerados fontes promissoras para a bioprospecção de novos compostos com aplicação na produção, principalmente, de fármacos (CONTI; GUIMARÃES; PUPO; 2012). Diversos microrganismos estão sendo utilizados para a busca de novos compostos antimicrobianos, podendo serem isolados, por exemplo, de ambientes hostis, em que outros organismos não conseguem sobreviver (COWAN et al., 2015). Os microrganismos extremófilos são considerados organismos que se adaptaram para prosperar em nichos ecológicos que são inabitáveis por outros organismos (RADDADI et al., 2015). Estes microrganismos estão amplamente distribuídos e são considerados um grupo funcionalmente diverso, nos últimos anos estudos sobre novas fontes de metabólitos bioativos, tem investigado novos habitats como oceanos, solos e regiões extremas, como ambientes marinhos, montanhas, ambientes árticos, desérticos e halófilos, que representam um grande interesse industrial (BOUDJELLA et al., 2006; ZHANG e ZENG, 2008; CAI et al., 2009; YANG et al., 2009; ABDELMOHSEN et al., 2010; DURAI PANDIYAN et al., 2010; CANGANELLA e WIEGEL, 2011; MANIVASAGAN et al., 2013; COWAN et al., 2015; GOMES et al., 2018).

Os ambientes considerados extremos possuem características peculiares, seja em termos de parâmetros físicos (temperatura, pressão, radiação) ou químicos (salinidade, teor de água, pH) (BULL, 2011; DEBBAB et al., 2010; NICOLAU, 2016). Muitos microrganismos que habitam estes ambientes possuem características adaptativas, fisiológicas e especializadas, que lhes proporcionam a sobrevivência e seu desenvolvimento (ELLEUCHE et al., 2015;

NICOLAU, 2016), que favorecem a produção de metabólitos secundários bioativos (DEBBAB et al., 2010; RATEB et al., 2011; RADDADI et al., 2015).

Estudos tem demonstrado a produção de compostos bioativos por bactérias extremófilas, como duas espécies de *Streptomyces* isolados de solos do deserto do Atacama que produzem ansamicina e macrolactonas com atividade antibacteriana e antimural (SANTHANAM et al., 2011, 2013; RATEB et al., 2011); *Actinomyces sp.* isolada a de fontes termais na Índia, no qual é capaz de sintetizar amilases e celulasas (CHAUDHARY e PRABHU, 2016); microrganismos endofíticos como *Streptomyces spp.*, *Micromonospora spp.*, *Nocardia spp.*, *Nonomuraea spp.* e *Amycolatopsis spp.*, possuem também alta bioatividade, apresentando ser um potencial para a indústria farmacêutica (HUANG et al., 2012).

Pesquisas relacionadas a sedimentos marinhos e profundezas oceânicas indicaram alta diversidade de metabólitos, como antibióticos, produzidos por bactérias do filo *Actinobacteria*, como estudos realizados nas profundidades oceânicas onde foi encontrado *Streptomyces sp.* com atividade antimicrobiana e citotóxica. Pesquisas relacionadas a cepa *Streptomyces sp.* NTK 937 isolada de sedimento marinhos do oceano Atlântico mostraram que é de sintetizar um novo antibiótico chamado de caboxamicina (DHARMARAJ; ASHOKKUMAR; DHEVENDARAN, 2009; HOHMANN et al., 2009; BHAVANA; PRASAF; RAJAGOPAL, 2013; KAMJAM et al., 2017).

Atualmente, os microrganismos extremófilos são de grande importância para pesquisas, levando ao descobrimento de novas moléculas com estruturas complexas e diversas propriedades, como moléculas com atividade antimicrobiana, citotóxica e antifúngica, com aplicação nas indústrias e na biotecnologia, expondo uma extensa área para aplicações que ainda podem ser explorados (REZENDE, 2010; COKER, 2016; EMILIANI et al., 2018).

1.4 Características gerais do filo *Actinobacteria*

As actinobactérias, inicialmente descritas por Ferdinand Cohn (1875), correspondem a um grupo de bactérias Gram positivas, caracterizadas pelo alto conteúdo de G+C e por desenvolverem esporos, sua principal forma reprodutiva (PELCZAR JR, 1997; KONEMAN et al., 2008; MADIGAN, 2010). Além disso estes microrganismos possuem uma grande diversidade morfológica no qual incluem-se formas de cocos (*Micrococcus*), coco-bacilo

(*Arthrobacter*), outros em formas de hifas curtas e 20 rudimentares (exemplo, *Nocardia* spp.) e micélio ramificado (*Streptomyces* spp.) (VENTURA et al., 2007).

Actinobactérias são consideradas um dos grupos mais bem sucedidos, pois ocorrem nos mais diversos ambientes naturais, como na água e no solo (GARCIA, 2006; VASCONCELLOS et al., 2010), possuindo um papel fundamental na decomposição de matéria orgânica e consequentemente na ciclagem de nutrientes (MABROUK e SALEH, 2014; SILVA et al., 2015). Podendo estar associados a animais como salamandras (LAUER et al., 2008), esponjas marinhas (BOSE et al., 2017), colêmbolos (AGAMENNONE et al., 2018), e a diversas plantas (MATSUURA, 2004; QIN et al., 2011; SALAM et al., 2017; RODRIGUES et al., 2018).

As actinobactérias possuem uma grande importância biotecnológica, principalmente para as indústrias farmacêuticas, pois representam uma notável fonte para a síntese de novos bioativos, como antibióticos (WILLIAMS e VICKENS, 1988; STACH et al., 2003; LEIVA et al., 2004; GOODFELLOW e FIEDLER, 2010; MENDES, 2010; SAADOUN; AL-JOUBORI; AL-KHOURY, 2015; AZMAN et al., 2017), além de possuírem propriedade fisiológicas para a produção de compostos como lignases, pectinases, amilases, xilanases e quitinases, agentes antitumorais; vitaminas e aminoácidos (SEMEDO et al., 2004; PETROVA e VLAHOV, 2006; VENTURA et al., 2007; SIVARAMKRISHNA e MAHAJAN, 2009).

Dentre as actinobactérias o gênero *Streptomyces*, particularmente, é, o mais bem estudado devido sua significativa produção de metabólitos secundários (HOPWOOD et al., 1980; VENTURA, 2007; WAKSMAN; SCHATZ; REYNOLDS, 2010), e dentre as espécies produtoras conhecidas estão: *S. aureofaciens* e *S. rimosus* que produzem as tetraciclinas, clorotetraciclina e oxitetraciclina (RIBEIRO, 2004), *S. coelicolor* que produz o actinorrodina (RUDD e HOPWOOD, 1979), *S. ramulosus* AZ-SH-29 que sintetiza a vernamicina A que possui atividade antimicrobiana contra patógenos como *E. coli*, *S.aureus* e *K. pneumoniae* (ATTA; HAROUN; KHALIFA, 2011), e *S. avermectinis* que produz a avermectina (ZHANG et al., 2017).

Devido as características das actinobactérias, principalmente quanto ao número e diversidade de *clusters* de genes biossintéticos em seus genomas, e que poucas substâncias químicas bioativas foram evidenciadas até o momento, justificam a busca pela sua bioprospecção, como uma fonte promissora de novas molecular bioativas (MOHAMMADIPANAH e WINK, 2016). Além disso, muitos estudos foram e estão sendo realizados com o objetivo de identificar novas espécies e novos metabolitos que sejam capazes de ser aplicados nas várias áreas científicas (SILVA et al., 2015).

1.4.1 *Micrococcus luteus*

O gênero *Micrococcus* pertencente à família Micrococcaceae, foi descrito primeiramente por Cohn (1872), formado por bactérias aeróbias, gram - positivas e catalase positivas (MADIGAN, et al., 2010). Desde sua primeira descrição, o gênero passou por repetidas revisões (KOCUR et al., 1975; STACKEBRANDT et al., 1995), no entanto a última classificação foi feita por Wieser et al. (2002).

O gênero *Micrococcus* tem sido amplamente estudado para produção de compostos biologicamente ativos, no qual destaca-se a espécie *Micrococcus luteus* que são microrganismos frequentemente isolados de diferentes ambientes, tais como poeira, ar, membranas mucosas, água, lamas ativadas, gelo polar, plantas, queijos, salsichas, efluentes industriais e esponjas, porém seu habitat primário é o solo (DIB et al., 2013; SILVA-ARAÚJO et al., 2015), em que são capazes de sobreviver sob condições de baixa disponibilidade de nutrientes e estresse de temperatura (UMADEVI e KRISHNAVENI, 2013).

Micrococcus luteus possui uma grande relevância biotecnológica, seja: na produção de enzimas, tais como amilases e protease, lisozima (FAN; LIU; LIU 2009; CLARK et al. 2000; STELZNER et al., 1982; DIB et al., 2013), produção de biocombustíveis como alcenos de cadeia longa (YOUNG et al., 2010); potencial probiótico *in vitro* e *in vivo* como a apresentada em tilápias, em que observou-se um aumento do desempenho do crescimento e da resistência dos peixes contra infecções causadas por *Aeromonas hydrophila* (ABD EL-RAHMAN e EL-BANA, 2006). Além disso possuem capacidade de sintetizar antibióticos ou outros compostos anti-bacterianos como *limazepines*, *2,4,4'-triclora-2'-hydroxydiphenylether*, *neoberninamycin* e *micrococcina* (BISKUPIAK et al., 1988; BULTEL PONCE et al., 1998; FOTSO et al., 2009; KIM et al., 2006).

Além disso, espécies de *M. luteus* são conhecidas pela sua síntese de carotenoides, como a sarcinaxantina (NETZER et al., 2010; KLASSEN e FOGHT, 2011). Os carotenoides são pigmentos importantes para a estrutura do microrganismos, no qual desempenham função, por exemplo, de proteger as células contra radiação UV, portanto, estes compostos são fundamentais para a sobrevivência dos microrganismos principalmente quando estes se encontram em um ecossistema hostil como a Caatinga (MANDELLI et al., 2012).

As espécies de *M. luteus* podem ser explorados devido a sua capacidade de produção de compostos importantes para aplicações industriais. Porém, os dados sobre as suas atividades

probióticas, antibacterianas e produção de metabólitos ainda são limitados e carecem de mais explorações (AKBAR et al., 2014).

1.5 Caatinga

A Caatinga situa-se predominantemente na região nordeste, englobando os estados englobando os estados de Maranhão, Ceará, Piauí, Bahia, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e o norte de Minas Gerais, ocupando uma área de 844.453 km², o que equivale a aproximadamente 11% do território nacional (BRASIL, 2016).

A Caatinga é o ecossistema mais seco do território brasileiro (AMORA; BELTRÃO; FERRARI, 2013) em que a incidência de chuvas característica dessa região está entre 500-800 mm ano⁻¹, distribuídas durante o período de verão – outono (LANÇONI et al., 2013). Logo, considerada uma região de clima semiárido, no qual o fatores ambientais como chuvas irregulares, altas temperaturas e déficit hídrico são características importantes que determinam a biodiversidade da região, tornando este ecossistema um patrimônio genético único (PASTORE, 2016; GANEM, 2017).

O solo da Caatinga vem sendo constantemente afetado devido a desertificação intensa que causa prejuízos nas propriedades geoecológicas primárias, em consequência do manejo impróprio das atividades humanas (BRASIL, 2017). Devido a isso, as comunidades bacterianas existentes na Caatinga podem ter desenvolvido adaptações as condições adversas desta região, influenciando, por exemplo, na produção de energia e o uso de carbono (SILVA et al., 2015; PASTORE, 2016). Além disso, microrganismos que permanecem em ambientes extremos sob condições climáticas adversas são capazes de sintetizar metabólitos de interesse econômico mostrando-se uma rica fonte de recursos bioquímicos, genéticos e de novos produtos naturais promitentes para a bioprospecção (SOARES et al., 2012; CARVALHO et al., 2016)

Estudos na Caatinga demonstram a importância devido ao surgimentos de novas espécies e novos registros de diversidade microbiológica (BARBOSA e GUSMÃO, 2011; ALMEIDA; MILLER; GUSMÃO, 2014). Os microrganismos da Caatinga foram estudados quanto ao seu potencial para síntese de tanases (CRUZ et al., 2013; NASCIMENTO et al., 2014; LIU et al., 2016), celulasas, pectinases, proteases (BEZERRA et al., 2012) e compostos com atividade antimicrobiana (NASCIMENTO et al., 2014; CLEMENTINO et al., 2015).

Sendo assim, o semiárido brasileiro demonstra uma microbiota de grande importância, uma vez que ainda é um ambiente a ser explorado, visto que nos solos do semiárido a seleção levou os organismos a serem capazes de suportar variações extremas de clima, como baixa incidência de precipitação e altas temperatura, e, conseqüentemente podem apresentar respostas adaptativas específicas, que inclui a cinética diferencial da expressão gênica a síntese de tipos particulares de metabólitos (SOARES et al., 2012). Contudo, o semiárido é um ecossistema pouco explorado, principalmente quanto ao potencial biotecnológico, e, pouco se conhece sobre sua microbiota edáfica (SILVA, 2013; FERREIRA, 2014).

Desta forma, nosso grupo de pesquisa começou no ano de 2014 um trabalho pioneiro na Paraíba, objetivando o conhecimento da diversidade bacteriana do solo da Caatinga da Paraíba e a bioprospecção de produtos bioativos. Dentro do projeto, financiado pelo edital Universal/CNPQ-2013, estudamos a diversidade bacteriana de três regiões do semiárido paraibano. Os isolados bacterianos correspondem a quatro grupo classificados, Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria e Bacteroidetes (dados não publicados). E, em parceria com outros pesquisadores, iniciamos a prospecção de produtos bioativos a exemplos de pigmentos de interesse para indústria alimentícias e de cosméticos. Recentemente, identificamos um *Bacillus* com atividades antagônicas frente a patógenos bacterianos alimentares, e, devido a emergência em se identificar novos compostos com atividade antimicrobiana, consolidamos a presente proposta que poderá trazer inovações biotecnológicas e avanços para região semiárida e as demais regiões.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Este estudo teve como objetivo avaliar o potencial antimicrobiano de cepas de *Micrococcus luteus* isoladas do solo do semiárido Paraibano.

2.2 Objetivos Específicos

- a) Avaliar atividade antimicrobiana de isolados de *M. luteus* através dos método de bloco de gelose;
- b) Avaliar a atividade antimicrobiana de isolados de *M. luteus* através do método de difusão em disco, utilizando o líquido metabólico;
- c) Avaliar a atividade antimicrobiana de isolados de *M. luteus* contra diferentes isolados clínicos;
- d) Realizar estudo comparativo da eficiência de ambos os métodos.

3 METODOLOGIA

3.1 Isolados bacterianos

As cepas bacterianas utilizadas no trabalho, foram isoladas do solo de uma Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN), Fazenda Tamanduá (FT), localizada no município de Santa Terezinha-PB sobre as coordenadas 7° 2' 20" S e 37° 26' 43" W, nordeste do Brasil (NEVES, 2016; COSTA, 2018) (Tabela1). Atualmente os isolados de *M. luteus* fazem parte da coleção de culturas bacterianas do Laboratório de Genética e Biotecnologia da Universidade Estadual da Paraíba, Campus João Pessoa.

Tabela 1: Isolados de *Micrococcus luteus*.

CÓDIGO DO ISOLADO	ISOLADOS
FT 5.10	<i>Micrococcus luteus</i>
FT 9.7	<i>Micrococcus luteus</i>
FT 9.8	<i>Micrococcus luteus</i>
FT 9.9	<i>Micrococcus luteus</i>
FT 9.10	<i>Micrococcus luteus</i>
FT 9.11	<i>Micrococcus luteus</i>
FT 9.12	<i>Micrococcus luteus</i>
FT 9.13	<i>Micrococcus luteus</i>
FT 9.14	<i>Micrococcus luteus</i>
FT 9.15	<i>Micrococcus luteus</i>
FT 9.19	<i>Micrococcus luteus</i>
FT 9.20	<i>Micrococcus luteus</i>
FT 9.23	<i>Micrococcus luteus</i>
FT 9.24	<i>Micrococcus luteus</i>

3.2 Análise do potencial antimicrobiano

3.2.1 Microrganismos teste

Foi testada, através do método de bloco de gelose, a atividade antimicrobiana dos isolados de *M. luteus*, contra cinco microrganismos teste: *Escherichia coli* (INCQS 00219, original ATCC 8739), *Staphylococcus aureus* (INCQS 00015, original ATCC 25923), *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium (INCQS 00150, original ATCC 14028), *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (INCQS 00258, original 13076)

e *Listeria monocytogenes* (INCQS 00266, original ATCC 7644). Os microrganismos foram cultivados em meio TSB a 37°C. As cepas teste foram disponibilizadas pelo Departamento de Microbiologia de Alimentos/UFPB.

Para avaliar a atividade antimicrobiana através do método de difusão em disco foram utilizadas, além dos mesmo microrganismos usados nos experimentos do bloco de gelose, as cepas *Escherichia coli* 11, *Escherichia coli* 12, *Escherichia coli* 14, *Escherichia coli* 15, *Klebsiella* sp. 9, *Klebsiella* sp. 10, *Klebsiella* 16, *Staphylococcus aureus* 1, *Staphylococcus aureus* 2, *Salmonella* sp. 7, *Salmonella* sp. 8, *Proteus* sp. 3, *Proteus* sp. 4, *Pseudomonas aeruginosa* sp. 5 e *Pseudomonas aeruginosa* sp 6, foram isoladas de material clínico humano, pertencentes à coleção de um Laboratório de Microbiologia da cidade de Campina Grande-PB. E os isolados *Salmonella typhi* CBAM 0015, *Enterobacter cloacae* CBAM, *Klebsiella pneumoniae* CBAM 0332, *Escherichia coli* CBAM 0001, *Serratia marcescens* CBAM 0094, *Aeromonas hydrophila* CBAM 0173, *Pseudomonas aeruginosa* CBAM 0254, as bactérias foram cedidas pelo Laboratório de Bioquímica, Genética e Radiobiologia – BioGeR/UFPB.

3.2.2 Ensaio em meio sólido

3.2.2.1 Método bloco de gelose

Para a avaliação da atividade antimicrobiana das bactérias edáficas, foi utilizado a metodologia modificada de Ichikawa, Ishikura e Ozaki (1971), conhecida como “Método do Bloco de Gelose”. Inicialmente, as bactérias isoladas foram cultivadas em placas de petri contendo meio TSB, à 37 °C por 48h e 96h. Em seguida, blocos de ágar circulares de seis mm de diâmetro (6mm), foram transferidos para as placas contendo meio TSB previamente inoculadas com os microrganismos teste. Para as suspensões dos microrganismos teste, foi utilizada a escala 0,5 de MacFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL). O teste foi realizado em duplicata para todos os microrganismos isolados. Posteriormente, as placas foram incubadas e observadas nos tempos, 24 horas, 48 horas e 72 horas (Figura 1). Após o período de incubação na estufa bacteriológica, foram obtidos os diâmetros (em mm) dos halos de inibição formados ao redor do bloco de gelose e por fim utilizou-se a escala proposta por Matsuura (2004) para a classificação dos resultados (Tabela 1).

Figura 1: Método bloco de gelose, modificada de Ichikawa, Ishikura e Ozaki (1971).

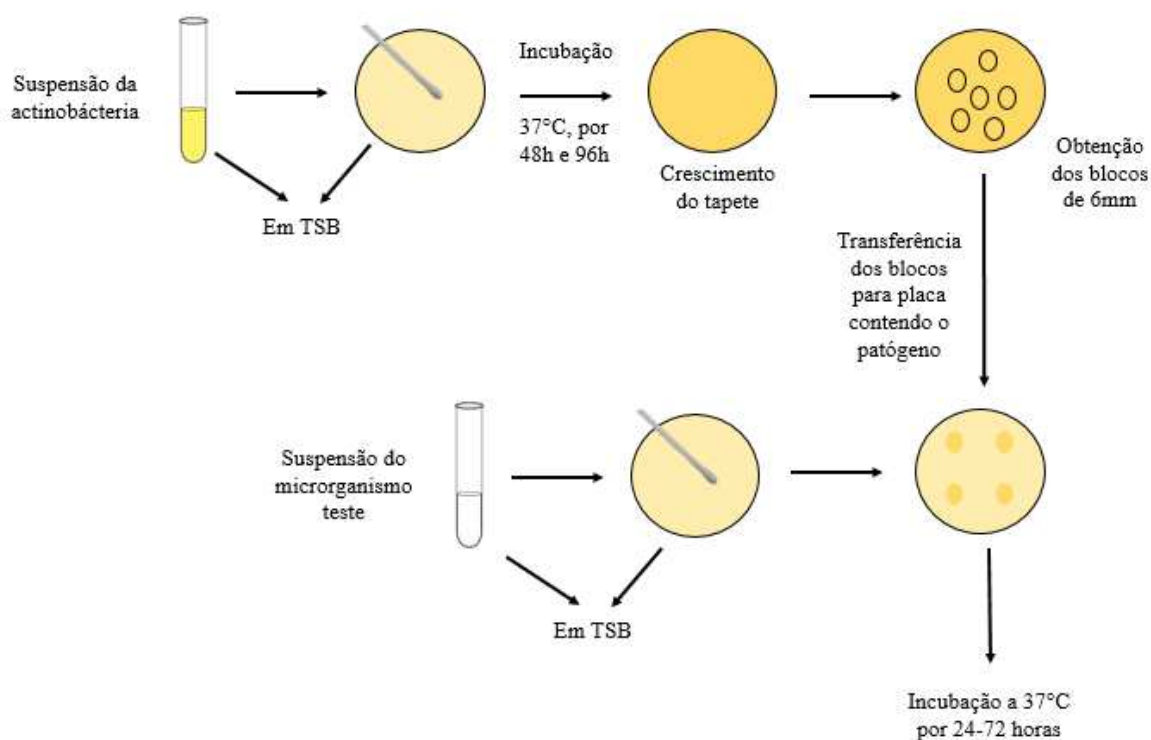


Tabela 2: Classificação da atividade antimicrobiana, adaptado de Matsuura (2004).

Categoria de atividade antimicrobiana	Diâmetro do halo de inibição (em mm)
Inerte	0
Baixa	7 - 10
Moderada	11 - 14
Alta	> 14

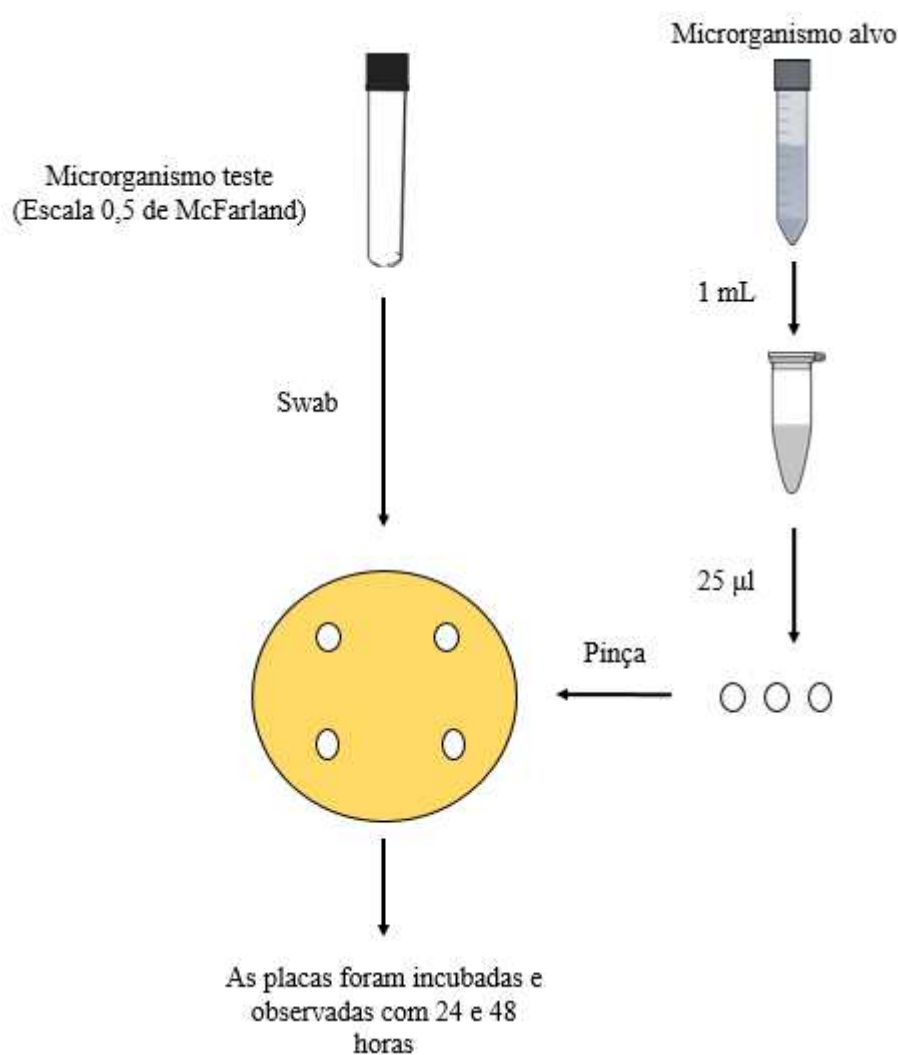
Fonte: Acervo (LaGeB/GDBM)

3.2.2.2 Método de difusão em disco

As bactérias edáficas foram submetidas a técnica de difusão em ágar (BAUER et al., 1966), modificado. As bactérias alvo foram inoculadas em tubos tipo Falcons contendo 10 mL de meio líquido (TSB), incubadas por 48, 72 e 96 horas a 37°C. Após o período de incubação, de cada cultura da bactéria alvo, foram retiradas alíquotas de 1 mL de cada Falcon e transferido

para Eppendorfs estéreis, e por seguinte foram centrifugadas por 10 minutos a 1700g para que houvesse a separação do líquido metabólico e biomassa. Posteriormente, discos de papel (6 mm) foram umedecidos com 25 μ l do líquido metabólico e postos para secar, sendo em seguida transferidos para placas de Petri contendo a suspensão do microrganismo teste. Foi utilizada a escala 0,5 de MacFarland, e em seguida as placas foram incubadas à 37 °C e observadas por 24 e 48 horas (Figura 2). Para a medição dos halos de inibição foi utilizado um paquímetro digital, e os halos de inibição foram classificados segundo Matsuura (2004) (Tabela).

Figura 2: Método de difusão em disco, modificado de Bauer et al., 1966.

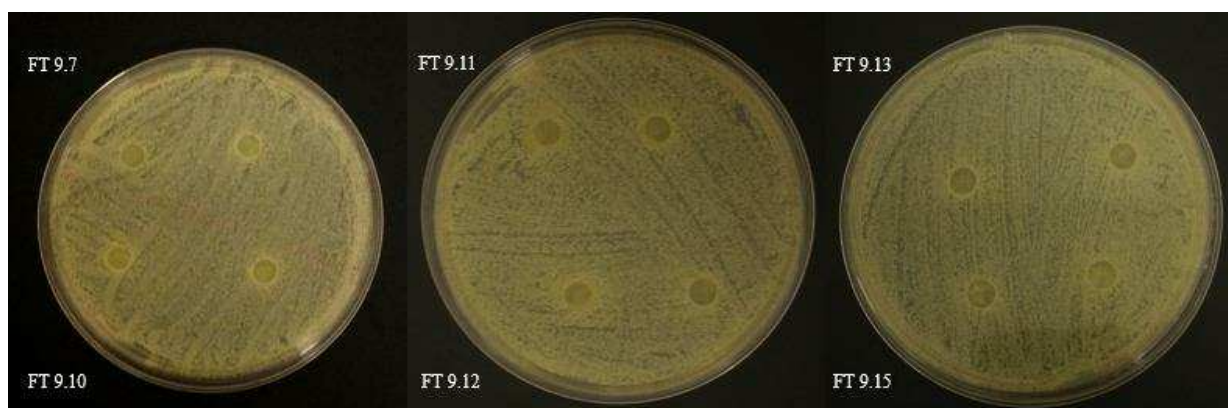


Fonte: Acervo (LaGeB/GDBM)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os quatorze isolados de *Micrococcus luteus* foram testados quanto ao potencial antimicrobiano, frente aos microrganismos teste: *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 e *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, através dos métodos de bloco de gelose e difusão em disco. No entanto, nenhum deles demonstraram atividade antimicrobiana através do método de bloco de gelose (Figura 3). Porém quando submetidos ao teste de difusão em disco, os isolados FT 9.7, FT 9.10, FT 9.11, FT 9.12, FT 9.13 e FT 9.15, apresentaram atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*. No qual a FT 9.7 apresentou um halo de inibição médio de 9,43 mm (Figura 3), a FT 9.10 mostrou uma halo de inibição médio de 7,37 mm (Figura 4), a FT 9.11 que apresentou um halo de inibição médio de 7,51 mm (Figura 5), o isolado FT 9.13 no qual apresentou um halo médio de 7,44 (Figura 7), o isolado FT 9.15 que apresentou um halo de inibição de 9,58 (Figura 8), todos considerados halos de inibição baixos. Enquanto o isolado FT 9.12, foi a cepa que demonstrou o maior halo de inibição, com média de 11,57 mm considerado um halo moderado (Figura 6), segundo a classificação de Matsuura (Tabela 1).

Figura 3: Imagens representativas do resultado do método de bloco de gelose.



Fonte: Acervo LaGeB/GDBM

Figura 4: Isolado FT 9.7, apresentando halo de inibição médio de 9,43 mm, segundo a metodologia de difusão em disco, Bauer et al., 1966, modificado, frente a *S. aureus*.

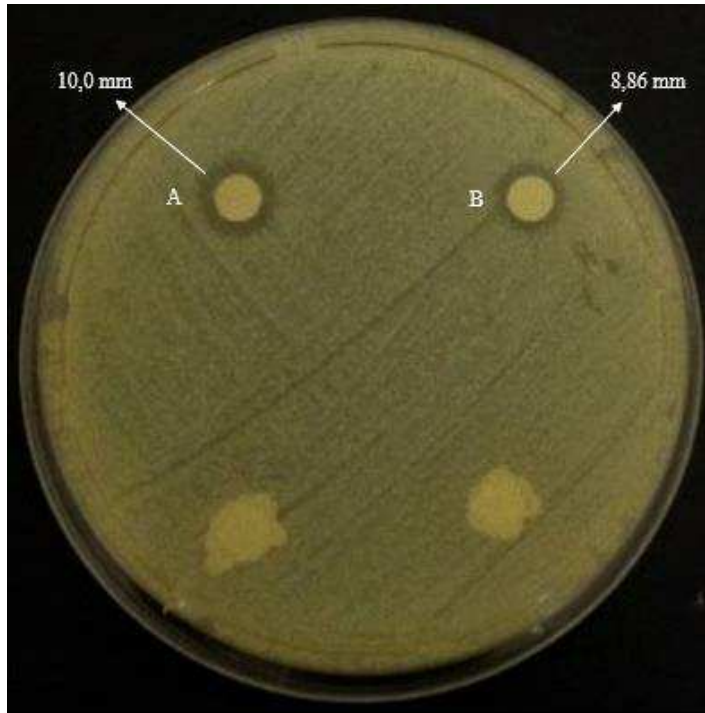


Figura 5: Isolado FT 9.10, apresentando halo de inibição médio de 7,37 mm, segundo a metodologia de difusão em disco, Bauer et al., 1966, modificado, frente a *S. au*



Figura 6: Isolado FT 9.11, apresentando halo de inibição médio de 7,51 mm, segundo a metodologia de difusão em disco, Bauer et al., 1966, modificado, frente a *S. aureus*.

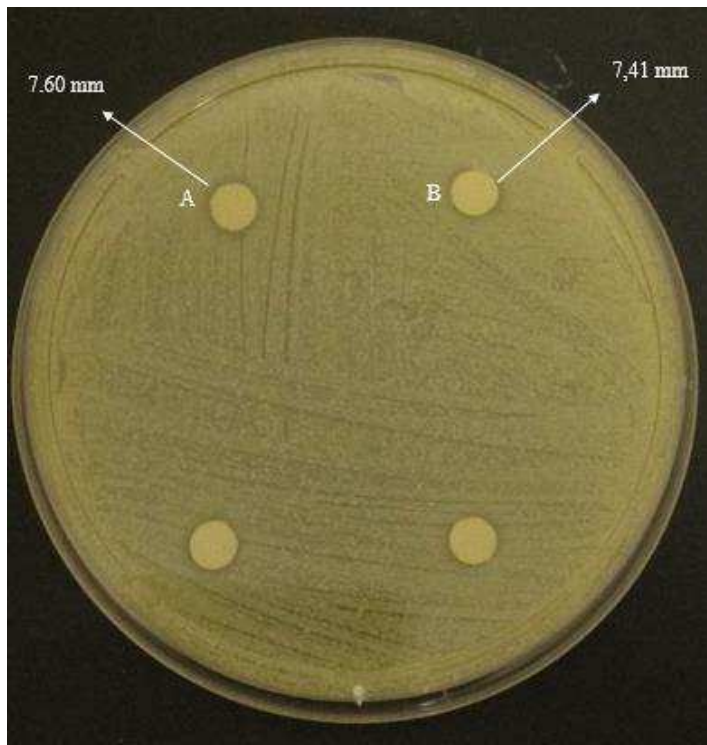


Figura 7: Isolado FT 9.12, apresentando halo de inibição médio de 11,57 mm, segundo a metodologia de difusão em disco, Bauer et al., 1966, modificado, frente a *S. aureus*.

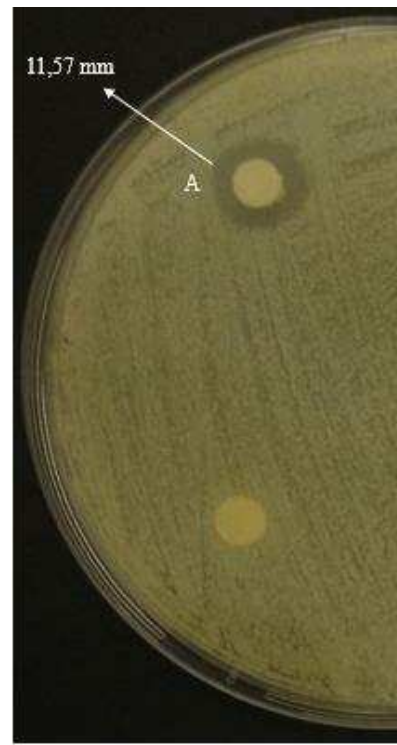
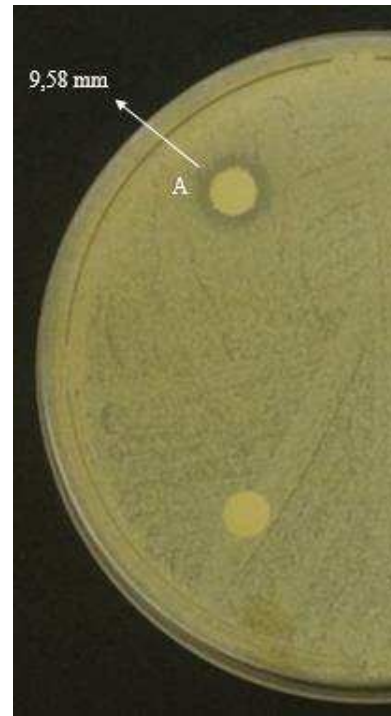


Figura 8: Isolado FT 9.13, apresentando halo de inibição médio de 7,44 mm, segundo a metodologia de difusão em disco, Bauer et al., 1966, modificado, frente a *S. aureus*.



Figura 9: Isolado FT 9.15, apresentando halo de inibição médio de 9,58 mm, segundo a metodologia de difusão em disco, Bauer et al., 1966, modificado, frente a *S. aureus*.



O método de bloco de gelose é recomendado para triagem inicial de atividade antimicrobiana, principalmente quando a aplicação de outras metodologias de análise não forem opções viáveis (MATSUURA et al. 2004), visto que esse teste apresenta baixa resolução na identificação de antibióticos produzidos em pequenas concentrações, como afirma Normansell (1986). Tais afirmações, demonstram a necessidade de se utilizar mais de uma ferramenta para triagem de bactérias com potencial antimicrobiano.

Nos nossos resultados iniciais, o método de bloco de gelose se mostrou pouco eficiente para a triagem, e por isso, passamos a adotar apenas o método de difusão em disco na avaliação com os demais microrganismos teste. Atualmente, existem diversos métodos para a triagem da atividade antimicrobiana e antifúngica (OSTROSKY et al., 2008), no qual o método de difusão em disco, proposto por Bauer et al. 1966, é considerado um dos mais utilizados nos laboratórios de microbiologia no Brasil, devido a sua confiabilidade e baixo custo, sendo aplicado para testar a sensibilidade de patógenos de crescimento rápido e algumas bactérias fastidiosas frente a antimicrobianos (SEJAS et al. 2003; NCCLS, 2003; RODRIGUES; DI GIOIA; ROSSI, 2011; JENKINS e SCHUETZ, 2012; MATUSCHEK; BROWN; KAHLMETER, 2014).

Diante dos resultados obtidos através do método de difusão, os isolados FT 9.7, FT 9.10, FT 9.11, FT 9.13 e FT 9.15, que apresentaram potencial antimicrobiano contra *S. aureus* foram testados frente a outras bactérias clínicas (Tabela 2). Desta forma, observou-se que os seus isolados foram capazes de inibir o crescimento de *K. pneumoniae* (CBAM 0332), em que a FT 9.7 mostrou um halo de inibição médio de 6,52mm (Figura 9), a FT 9.10 de 6,47 (Figura 9), a FT 9.11 de 6,19 (figura 10), FT 9.12 de 6,19 mm (Figura 10), a FT 9.13 de 6,25 mm (Figura 11) e a FT 9.15 de 6,0 mm (Figura 11). Os isolados FT 9.7 e FT 9.10 apresentaram atividade frente a *S. marcescens* e *A. hydrophyla*. Frente a cepa *S. marcescens*, a FT 9.7 apresentou halo médio de 6,57 mm (Figura 13) e a FT 9.10 de 6,57 mm (Figura 13), e frente ao microrganismo *A. Hydrophyla*, a FT 9.7 o halo médio foi de 6,54 mm (Figura 12) e a FT 9.10 mostrou halo médio de 6,54 mm (Figura 12). Todos esses halos foram considerados baixos, segundo a classificação de Matsuura (2004).

As actinobactérias utilizadas em nosso estudo foram capazes de sintetizar metabólitos secundários, após 96 horas de crescimento. Halos de inibição de 96 horas de inoculo, também foram observados em estudos como o de Silva-Lacerda (2015), que ressalta que esse período é o melhor para produção de metabólitos secundários em actinobactérias.

Tabela 3: Resultados da atividade antimicrobiana, segundo a metodologia de Bauer et al. (1966), frente as bactérias clínicas.

ISOLADOS		ATIVIDADE ANTIMICROBIANA		
		<i>K. pneumoniae</i> CBAM 0332	<i>S.marcescens</i> CBAM 0094	<i>A. hydrophila</i> CBAM 0173
FT 9.7	<i>Micrococcus luteus</i>	+	+	+
FT 9.10	<i>Micrococcus luteus</i>	+	+	+
FT 9.11	<i>Micrococcus luteus</i>	+	-	-
FT 9.12	<i>Micrococcus luteus</i>	+	-	-
FT 9.13	<i>Micrococcus luteus</i>	+	-	-
FT 9.15	<i>Micrococcus luteus</i>	+	-	-

Figura 10: FT 9.7 e FT 9.10, apresentando halos de inibição médio de 6,52 mm e 6,47 mm, respectivamente, segundo a metodologia de difusão em disco, Bauer et al., 1966, modificado, frente a *K. pneumoniae*.

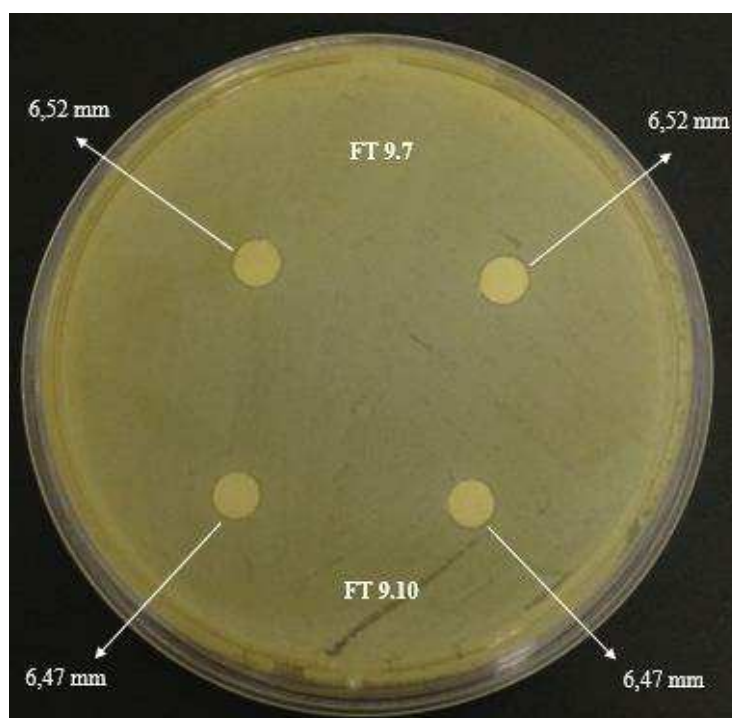


Figura 11: Isolados FT 9.12 e FT 9.11, apresentando halos de inibição médio de 6,19 mm, respectivamente, segundo a metodologia de difusão em disco, Bauer et al., 1966, modificado, frente a *K. pneumoniae*.

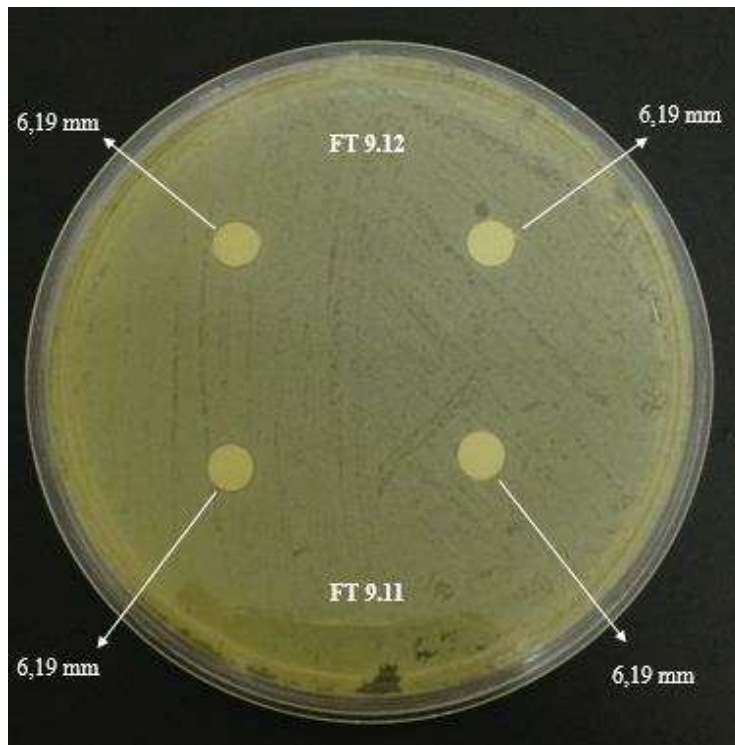


Figura 12: Isolados FT 9.15 e FT 9.16, apresentando halos de inibição médio de 6,0 mm e 6,25 mm, respectivamente, segundo a metodologia de difusão em disco, Bauer et al., 1966, modificado, frente a *K. pneumoniae*.

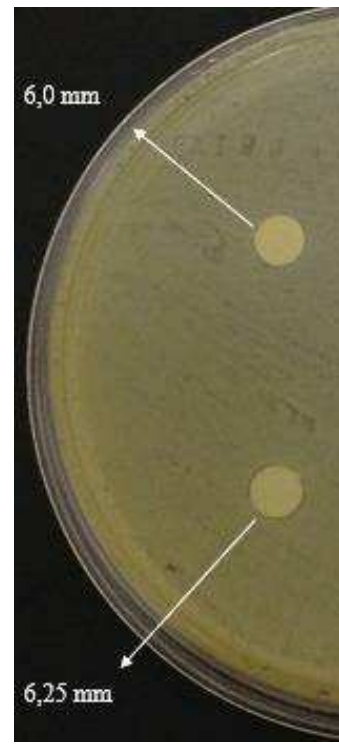


Figura 13: Isolados FT 9.7 e FT 9.10, apresentando halos de inibição médio de 6,54 mm, respectivamente, segundo a metodologia de difusão em disco, Bauer et al., 1966, modificado, frente a *A. hydrophyla*.

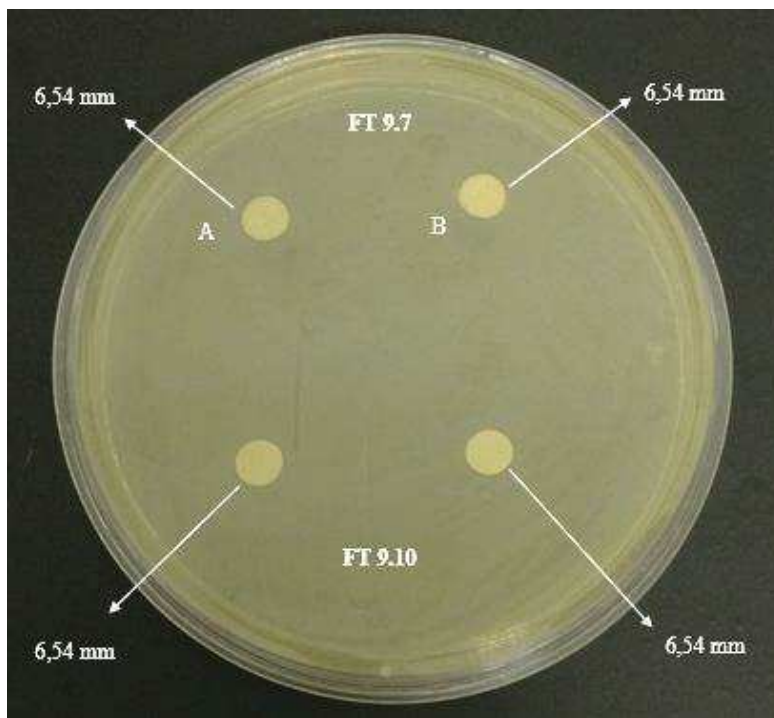


Figura 14: Isolados FT 9.7 e FT 9.10, apresentando halos de inibição médio de 6,57 mm, respectivamente, segundo a metodologia de difusão em disco, Bauer et al., 1966, modificado, frente a *A. hydrophyla*.



Os resultados da atividade antimicrobiana do líquido metabólico produzido pelos isolados de *M. luteus*, por meio do método de difusão em disco, foi semelhante ao obtido por Cunha e colaboradores (2010), em que estudaram a atividade do líquido metabólico produzido por actinomicetos, e tiveram como resultados atividade contra patógeno como *S. aureus* e *K. pneumoniae*. Além disso, Alberton et al. (2006), estudaram a atividade antimicrobiana do líquido metabólico obtido a partir da fermentação do *S. viridosporus* T7A e observaram que este isolado não foi capaz de inibir o crescimento patógenos como *Salmonella* sp., *Pseudomonas* sp. e *Escherichia coli*.

Dados sobre atividade antibacteriana de *Micrococcus luteus*, ainda são limitados, porém resultados semelhantes aos obtidos em nossa pesquisa foi observado por Akbar et al. (2014), estudando doze bactérias isoladas de ambientes abertos (campos agrícolas, jardins) e fechados (laboratório, cozinha), obtiveram apenas uma identificada como *M. luteus* que apresentou potencial antibacteriano e antioxidante, contra microrganismos como *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*, em meios nutricionais considerados simples (ágar/meio nutriente).

Estudos realizados por Sharma et al. (2012) demonstram que *Micrococcus* spp. isolados do solo possuem atividade antibacteriana contra diversas cepas incluindo *S. aureus* e *K. pneumoniae*, resultados esses semelhantes aos obtidos por Umadevi e Krishnaveni (2013) que relataram a atividade antibacteriana de pigmentos de *M. luteus* isoladas da água do mar contra *S. aureus* e *Klebsiella* sp. Estes resultados corroboram com os obtidos em nossa pesquisa, visto que seis isolados de *M. luteus* apresentaram atividade antimicrobiana frente a microrganismos teste Gram-positivos (*S. aureus*) e Gram-negativos (*K. pneumoniae*), logo são possíveis candidatos a produção de antimicrobianos.

Isolados de *Micrococcus* são fontes formidáveis de produção de novos compostos biotecnológicos, assim como possuem aplicação em processos importantes como de degradação e biorremediação, em que podem catabolizar um variedade de compostos como polímeros de poliacrilonitrila, inseticidas, ésteres de ftalato, piridinas, corantes, herbicidas, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e bifenilos clorados (EATON e RIBBONS 1982; SIMS; SOMMERS; KONOPKA, 1986; BEVINAKATTI e NINNEKAR 1993; DODDAMANI e NINNEKAR 2001; ZHUANG et al. 2003; EL-SAYED et al. 2005; FISCHER-COLBRIE et al. 2007; TALLUR et al. 2008; SARATALE et al. 2009; ZHENG et al. 2009; DU et al. 2011; MULLA et al. 2011; RAJEE e PATTERSON 2011).

Portanto, nosso trabalho indica que os seis isolados de *M. luteus* são possíveis candidatos a produção de novos compostos antimicrobianos, no qual foi realizado a obtenção de extratos, especialmente da FT 9.12, pois demonstrou maior halo de inibição contra o isolado *S. aureus*, e portanto será utilizado para estudos posteriores. Esse isolado nos desperta importante interesse, uma vez que já foi descrito como uma fonte promissora de corantes naturais, a exemplo da sarcinaxantina com possuem potencial para atuar como compostos bioativos em formulações fotoprotetoras (comunicação pessoal).

Além disso, os isolados FT 9.7 e FT 9.10 também apresentaram potencial antimicrobiano, visto que apresentaram atividade contra quatro bactérias patogênicas, e, portanto, estudos serão avaliados quanto obtenção de seus extratos brutos e avaliação dos mesmos. No entanto, é necessário testar substratos potencializadores da atividade antimicrobiana dos isolados, visto que trabalhos tem descrito a utilização de substratos alternativos para potencializar a produção de produtos bioativos, como o trabalho de Lima (2013) que potencializou a produção dos metabólitos secundários de actinobactérias, através de fermentação utilizando como substrato a farinha de soja e o arroz. Assim como outros polissacarídeos, oligossacarídeos e óleos também são utilizados para produção de metabólitos secundários por actinobactérias (SANCHEZ e DEMAIN, 2002).

Sabemos que, isolados que não apresentaram atividade antimicrobiana nas condições dos experimentos atuais, podem produzir compostos antimicrobianos, como antibióticos. Grande parte dos metabólitos secundários, são produzidos por espécies geneticamente distintas e através de diferentes vias metabólicas, desta forma, as condições ambientais (pH, temperatura) podem se tornar fatores de limitações para a produção de antibióticos (PFEFFERLE et al. 2000). A composição nutricional do meio de cultura (porcentagem de carbono contido no meio ou a concentração de amido) e o tempo de fermentação, devem ser determinados para quantificar os metabólitos secundários produzidos pela linhagem isolada (PFEFFERLE et al 2000; MATSUURA, 2004).

Dessa forma, os *M. luteus* testados possivelmente podem produzir antibióticos, uma vez que sensíveis à variações do meio podem apresentar respostas fisiológicas distintas. Por isso, novos ensaios poderão ser executados empregando novos meios de cultura, bem como a utilização de outros microrganismos testes, com o objetivo de identificar a referida atividade.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Os isolados de *M. luteus* testados através da metodologia de bloco de gelose não demonstraram atividade antimicrobiana sobre os microrganismos teste (*Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Salmonella enteritidis* 13076 e *Listeria monocytogenes* ATCC 7644), mostrando-se ser um método pouco eficaz.
- O isolado *M. luteus* FT 9.12 por ter demonstrado maior halo de inibição contra *S. aureus*, precisa ser melhor analisado quanto a produção do seu extrato, principalmente, pois pode produzir um metabolito com atividade contra a cepa bacteriana *S. aureus*, visto que já existem cepas resistentes. Logo, precisamos testar sua atividade frente a cepas resistentes a metilicina.
- Os isolados de *M. luteus* FT 9.7 e FT 9.10, por terem apresentado atividade antimicrobiana frente a quatro patógenos, em que *K. pneumoniae* foi um destes patógenos, apresentam-se como bons candidatos a obtenção de seus extratos.
- Outros substratos podem ser utilizados para potencializar a produção de metabolitos secundários, como meio de cultura com pequenas concentrações de glicose, (visto que a glicose inibe a produção de vários metabolitos secundários de actinobactérias), como por exemplo meio de cultura ISP2, cultivo em polissacarídeos como o arroz e outros.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD EL-RAHMAN A.M.M.; EL-BANA L.F.A. Using of *Micrococcus luteus* as a probiotic bacteria among cultured *Oreochromis niloticus*. **SCVMJ** v. 10, p.73–82, 2006.

ABDELMOHSEN, U.R. et al. Isolation, phylogenetic analysis and anti-infective activity screening of marine sponge-associated actinomycetes. **Marine drugs**, v. 8, n. 3, p. 399-412, 2010.

AGAMENNONE, V. et al. Antimicrobial activity in culturable gut microbial communities of springtails. **Journal of applied microbiology**, 2018.

AKBAR, A. et al. Isolation and characterization of biotechnologically potent *Micrococcus luteus* strain from environment. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 46, n. 4, 2014.

ALBERTON, L. R. et al. Avaliação do potencial de uso do extrato bruto da fermentação por *Streptomyces viridosporus* T7A em Medicina Veterinária. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 9, n. 1, 2006.

ALMEIDA, D. A. C.; MILLER, A. N.; GUSMÃO, L. F. P. New species and combinations of conidial fungi from the semi-arid Caatinga biome of Brazil. **Nova Hedwigia**, v. 98, n. 3/4, p. 431-447, 2014.

AMINOV, R. I. A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future. **Frontiers in Microbiology**, v.1, p. 1-7, 2010.

AMORA, T. D.; BELTRÃO, M, R.; FERRARI, S. F. Use of Alternative Plant Resources by Common Marmosets (*Callithrix jacchus*) in the Semi-arid Caatinga Scrub Forests of Northeastern Brazil. **American Journal of Primatology**, v.75, n. 4, p. 333–341, 2013.

ARAÚJO, S. et al. Resistência bacteriana a antibióticos em vegetais e águas de irrigação: um problema de saúde pública. **Revista Captar: Ciência e Ambiente para Todos**, v. 6, n. 1, 2016.

AVENDAÑO, C. Teixobactina, un nuevo antibiótico que difícilmente podría originar resistencias. In: **Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia**. 2015.

ATTA, H. M.; HAROUN, B. M.; KHALIFA, M. A. Physico-chemical characteristics of vernamycin-A antibiotic biosynthesis by streptomyces SP-AZ-SH-29. **Journal of Saudi**

Chemical Society, v. 15, p. 247–255, 2011.

AZMAN, A. S. et al. **Antibacterial, anticancer and neuroprotective activities of rare Actinobacteria from mangrove forest soils**. *Indian journal of microbiology*, v. 57, n. 2, p. 177-187, 2017.

BAPTISTA, M. G. F. M. **Mecanismos de resistência aos antibióticos**. 2013 . 51 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Lusófona de Humanas e Tecnologia. Faculdade de Ciências e Tecnologias da saúde, Lisboa, 2013.

BARBOSA, F. R.; GUSMÃO, L. F. P. Conidial fungi from the semi-arid Caatinga biome of Brazil. Rare freshwater hyphomycetes and other new records. **Mycosphere**, v. 2, n. 4, p. 475-485, 2011.

BAUER, A. W. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American journal of clinical pathology**, v. 45, n. 4, p. 493, 1966.

BELLOSO, W. H. Historia de los antibióticos. **Rev Hosp Ital B Aires**, v. 29, p. 102-11, 2009.

BETINA, V. The chemistry and biology of antibiotics. **Elsevier**, 1983.

BEVINAKATTI, B. G.; NINNEKAR, H. Z. Biodegradation of 4-chlorobiphenyl by *Micrococcus* species. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 9, n. 5, p. 607-608, 1993.

BEZERRA, J. D.; SANTOS, M. G.; SVEDESE, V. M.; LIMA, D. M.; FERNANDES, M. J.; PAIVA, L. M.; SOUZA-MOTTA, C. M. Richness of endophytic fungi isolated from *Opuntia ficus-indica* Mill. (Cactaceae) and preliminary screening for enzyme production. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 5, p. 1989-1995, 2012.

BHAVANA, M.; PRASAD, K. S.; RAJAGOPAL, S. V. Screening and isolation of antagonistic actinobacteria from marine sediments of Visakhapatnam sea coast. **International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences**, v. 3, p. 767-770, 2013.

BISKUPIAK, J. E. et al. Neoberninamycin, a new antibiotic produced by *Micrococcus luteus*. **The Journal of antibiotics**, v. 41, n. 5, p. 684-687, 1988.

BOMFIM, G. F. **Atividade antimicrobiana de microrganismos isolados de cupinzeiros da região da Mata de Cipó, Bahia**. 2010, 70 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia, 2010.

BOSE, U. et al. Production of N-acyl homoserine lactones by the sponge-associated marine actinobacteria *Salinispora arenicola* and *Salinispora pacifica*. **FEMS microbiology letters**, v. 364, n. 2, 2017.

BOUDJELLA, H. et al. Isolation and partial characterization of pigment-like antibiotics produced by a new strain of *Streptosporangium* isolated from an Algerian soil. **Journal of applied microbiology**, v. 103, n. 1, p. 228-236, 2007.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Caatinga**. 2016. Disponível em: Acesso em: 30 jul. 2017.

BRITO, M, A.; CORDEIRO, B. C. Necessidade de novos antibióticos. **J Bras Patol Med Lab**, v. 48, n. 4, p. 247-249, 2012.

BRUINSMA, N. et al. Antibiotic usage and resistance in different regions of the Dutch community. **Microbial Drug Resistance**, v. 8, n. 3, p. 209-214, 2002.

BULL, A. T. Actinobacteria of the extremobiosphere. In: **Extremophiles handbook**. Springer, Tokyo. p. 1203-1240, 2011.

BULTEL-PONCÉ, V. et al. Metabolites from the sponge-associated bacterium *Micrococcus luteus*. **Journal of marine biotechnology**, v. 6, p. 233-236, 1998.

BUSH, Karen; PUCCI, Michael J. New antimicrobial agents on the horizon. **Biochemical pharmacology**, v. 82, n. 11, p. 1528-1539, 2011.

BUTLER, M. S., BLASKOVICH, M. A.; COOPER, M. A. Antibiotics in the clinical pipeline at the end of 2015. *The Journal of Antibiotics*, v. 70, n. 1, p. 3–24, 2016.

CAI, Y. et al. Classification and salt-tolerance of actinomycetes in the Qinghai lake water and lakeside saline soil. **Journal of sustainable development**, v. 2, n. 1, p. 107, 2009.

CANGANELLA, F.; WIEGEL, J. Extremophiles: from abyssal to terrestrial ecosystems and possibly beyond. **Naturwissenschaften**. v. 98, p. 253-279, 2011.

CARVALHO, R.M.M. et al. Bactérias solubilizadoras de fosfato em solo rizosférico da Caatinga. **Revista Geonorte**, [S.l.], v. 7, n. 26, p. 48 - 60, 2016

CHAMBERS, H. F. Antimicrobianos: considerações gerais. **Goodman, G.** As bases farmacológicas da terapêutica. 10 ed. Rio de Janeiro: Mc-Graw Hill. p. 859-875. 2003

CHAUDHARY, N.; PRABHU, S. Thermophilic Actinomycetes from Hot Water Spring Capable of Producing Enzymes of Industrial Importance. **Int. J. Res. Stud. Biosci.**, v. 4, n. 6, p. 29-35, 2016.

CLARDY, J.; WALSH, C. Lessons from natural molecules. **Nature**, v. 432, n. 7019, p. 829, 2004.

CLARK, D.J.; HAWRYLIK, S.J.; KAVANAGH, E.; OPHEIM, D.J. Purification and characterization of a unique alkaline elastase from *Micrococcus luteus*. **Protein Expr Purif** 18:46–55, 2000.

CLEMENTINO, L. C.; BARBOSA, C. C.; SILVA, D. P. D.; SILVA, F. D.; QUEIROZ, J. C. F. Bioprospecção de antibióticos produzidos por fungos da caatinga. **Evidência Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 1, p. 37-56, 2015.

COHN, F. Untersuchungen Über Bakterien. **Beitr Biol Pflanz.** 1:127-224. 1872
CONTI, R.; GUIMARÃES, D. O.; PUPO, M. T. Aprendendo com as interações da natureza: microrganismos simbiotes como fontes de produtos naturais bioativos. **Ciência e Cultura**, v. 64, n. 3, p. 43-47, 2012.

COKER, J. A. Extremophiles and biotechnology: current uses and prospects. **F1000Research**, v. 5, 2016.

COSTA, R.F.F. **Diversidade genética de bactérias edáficas em duas áreas de proteção ambiental do semiárido paraibano** 2018. 51 f. Monografia (Curso de graduação em Ciências Biológicas). Universidade Estadual da Paraíba, Paraíba, 2018.

COUTO, E. A. P. et al. Bioprospecção de fungos isolados do solo do Cerrado goiano produtores de compostos bioativos. In: Anais do Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG (CEPE), Pirenópolis. **Anais...** Goiás. p. 10, 2015.

COWAN, D. A. et al. Metagenomics of extreme environments. **Current opinion in microbiology**, v. 25, p. 97-102, 2015.

CRISLER, J. D. et al. Bacterial growth at the high concentrations of magnesium sulfate found in Martian soils. **Astrobiology**, v. 12, n. 2, p. 98-106, 2012.

CRUZ, R.; LIMA, J. S.; FONSECA, J. C.; FERNANDES, M. J. S.; LIMA, D. M. M. L.; DUDA, G. P.; MOREIRA, K. A.; MOTTA, C. M. S. Diversity of filamentous fungi of area from Brazilian Caatinga and high-level tannase production using mango (*Mangifera indica* L.) and surinam cherry (*Eugenia uniflora* L.) leaves under SSF. **Advances in Microbiology**, v. 3, p. 52-60, 2013.

CUNHA, M. N. C. et al. Actinomicetos produtores de inibidores de β -lactamases com atividade antimicrobiana frente a isolados de mastite bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 6, p. 1312-1319, 2010.

DEBBAB, A.; ALY, A.H.; LIN, W.H.; PROKSCH, P. Bioactive compounds from marine bacteria and fungi. **Microbial biotechnology**, v. 3, n. 5, p. 544-563, 2010.

DELEO, F. R.; CHAMBERS, H. F. Reemergence of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* in the genomics era. **The Journal of clinical investigation**, v. 119, n. 9, p. 2464-2474, 2009.

DHARMARAJ, S.; ASHOKKUMAR, B.; DHEVENDARAN, K. Fermentative production of carotenoids from marine actinomycetes. **Iranian journal of Microbiology**, v. 1, n. 4, p. 36-41, 2009.

DIB, J. R. et al. Extrachromosomal genetic elements in *Micrococcus*. **Applied microbiology and biotechnolog.** v. 97, n. 1, p. 63-75, 2013.

DIONISI, H. M.; LOZADA, M.; OLIVERA, N. L. Bioprospection of marine microorganisms: biotechnological applications and methods. **Revista Argentina de microbiología**, v. 44, n. 1, p. 49-60, 2012.

DODDAMANI, H. P.; NINNEKAR, H. Z. Biodegradation of carbaryl by a *Micrococcus* species. **Current microbiology**, v. 43, n. 1, p. 69-73, 2001.

DU, Lin-Na et al. Highly efficient decolorization of malachite green by a novel *Micrococcus* sp. strain BD15. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 19, n. 7, p. 2898-2907, 2012.

DURAI PANDIYAN, V. et al. Antimicrobial properties of actinomycetes from the soil of Himalaya. **Journal de Mycologie Médicale/Journal of Medical Mycology**, v. 20, n. 1, p. 15-20, 2010.

EATON, R. W.; RIBBONS, D. W. Metabolism of dibutylphthalate and phthalate by *Micrococcus* sp. strain 12B. **Journal of bacteriology**, v. 151, n. 1, p. 48-57, 1982.

EL-SAYED, W.S.; EL-BAZ, A. F.; OTHMAN, A. M. Biodegradation of melamine formaldehyde by *Micrococcus* sp. strain MF-1 isolated from aminoplastic wastewater effluent. **International biodeterioration & biodegradation**, v. 57, n. 2, p. 75-81, 2006.

EMILIANI, A. V. V. et al. Microorganismos marinos extremófilos con potencial en bioprospección. **Revista de la Facultad de Ciencias**, v. 7, n. 2, p. 9-43, 2018.

FAN, H. X.; LIU, Y.; LIU, Z. P. Optimization of fermentation conditions for cold-adapted amylase production by *Micrococcus antarcticus* and its enzymatic properties. **Huan jing ke xue= Huanjing kexue**, v. 30, n. 8, p. 2473-2478, 2009.

FERNANDES, P. Antibacterial discovery and development—the failure of success? **Nature biotechnology**, v. 24, n. 12, p. 1497-1503, 2006.

FERREIRA, C. **Dinâmica do microbioma da rizosfera de mandacaru na Caatinga**. 2014. 88 f. **Dissertação** (Mestrado em Microbiologia Agrícola). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2014.

FERREIRA, L. M. A. **Isolamento de micro-organismos endofíticos do Ipê Roxo (*Tabebuia avellanedae*) e avaliação da atividade antimicrobiana**. 2012. 89 f. **Dissertação** (Mestrado em Biotecnologia Industrial). Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2012.

FISCHER-COLBRIE, Gudrun et al. Surface hydrolysis of polyacrylonitrile with nitrile hydrolysing enzymes from *Micrococcus luteus* BST20. **Journal of biotechnology**, v. 129, n. 1, p. 62-68, 2007.

FOTSO, S. et al. Limazepines A-F, pyrrolo[1,4] benzodiazepine antibiotics from an Indonesian *Micrococcus* sp. **J Nat Prod** 72:690–695, 2009.

GANEM, R. S. Caatinga: estratégias de conservação. **Consultoria Legislativa**, Câmara dos Deputados. 2017.

GARCIA, C. E. **Isolamento e identificação de actinobactérias em solos de terra preta antropogênica (TPA) da Amazônia Central por ARDRA e sequenciamento do gene 16S rRNA**. 2006. 127 f. Tese de Doutorado (Ciências de alimentos). Faculdade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Unicamp, 2006.

GOODFELLOW, M.; FIEDLER, H. P. A guide to successful bioprospecting: informed by actinobacterial systematics. **Antonie Van Leeuwenhoek**. V. 98, n. 119–142, 2010.

GOMES, E. C. Q. et al. Cultivable fungi present in Antarctic soils: taxonomy, phylogeny, diversity, and bioprospecting of antiparasitic and herbicidal metabolites. **Extremophiles**, v. 22, n. 3, p. 381-393, 2018.

GUIMARÃES, D. O. et al. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

GURGEL, T. C.; CARVALHO, W. S. A assistência farmacêutica e o aumento da resistência bacteriana aos antimicrobianos. **Lat. Am. J. Pharm**, v. 27, n. 1, p. 118-23, 2008.

HARAGUCHI, T. Antibióticos: classificação geral. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 57, n. 10, 2000.

HAWKEY, P. M. The growing burden of antimicrobial resistance. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 62, n. suppl_1, p. i1-i9, 2008.

HOHMANN, C. et al. Carboxamicina, a new antibiotic of the benzoxazole Family produced by the deep-sea strain *Streptomyces* sp NTK 937. **The Journal of Antibiotics**, v. 62, n. 2, p. 99 -104, 2009.

HOLVOET, K. et al. Moderate prevalence of antimicrobial resistance in *E. coli* isolated from lettuce, irrigation water and soil. **Applied and environmental microbiology**, p. AEM. 01995-13, 2013.

HOPWOOD, D.A. et al. Fresh Approaches to Antibiotic Production. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London B**, London, v. 290, p. 1040, p. 313-328, 1980.

HUANG, X. L. et al. Isolation and bioactivity of endophytic filamentous actinobacteria from tropical medicinal plants. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 41, p. 9855-9864, 2012.

ICHIKAWA, T.; ISHIKURA, T.; OZAKI, A. Improvement of Kasugamycin - producing strain by the agar piece method and the prototroph method. **Folia Microbiologica**, v. 16, p. 218-224, 1971.

JENKINS, S. G.; SCHUETZ, A. N. Current concepts in laboratory testing to guide antimicrobial therapy. In: **Mayo Clinic Proceedings**. Elsevier. p. 290-308, 2012.

KAMJAM, M.; SIVALINGAM, P.; DENG, Z.; HONG, K. Deep sea actinomycetes and their secondary metabolites. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 760, 2017.

KIM, M.H.; KONG, Y.J.; BAEK, H.; HYUN, H.H. Optimization of culture conditions and medium composition for the production of micrococcin GO5 by *Micrococcus* sp. GO5. **J Biotechnol**. v. 121, p. 54–61, 2006.

KLASSEN, J.L., FOGHT, J.M. Characterization of Hymenobacter isolates from Victoria Upper Glacier, Antarctica reveals five new species and substantial non-vertical evolution within this genus. **Extremophiles**, v, 15, p. 45–57, 2011.

KOCUR, M.; SCHLEIFER, K. H.; KLOOS, W. E. Taxonomic status of *Micrococcus nishinomiyensis* Oda 1935. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 25, n. 3, p. 290-293, 1975.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN, W.C. Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas colorido. 6ª ed., Rio de Janeiro: **Editora Médica e Científica**, p.1760, 2008.

LANÇONI, M. D.; TAKETANI, R. G.; KAVAMURA, V. N.; DE MELO, I. S. Microbial community biogeographic patterns in the rhizosphere of two Brazilian semi-arid leguminous trees. **World J Microbiol Biotechnol**, 29:1233- 1241, 2013.

LAUER, A. et al. Diversity of cutaneous bacteria with antifungal activity isolated from female four-toed salamanders. **The ISME journal**, v. 2, n. 2, p. 145, 2008.

LEIVA, S.P. et al. Actividad antimicrobiana de actinomycetes aislados desde ambientes acuáticos del sur de Chile. **Rev. méd. Chile**. [online]. v. 132, n. 2, p.151-159, 2004.

LIMA, S. M. A. **Avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica de metabólitos secundários produzidos pela actinobactéria ACTMS-9H isolada da rizosfera de *Paullinia cupana* Kunth**. 2013. 94 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial) – Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2013.

LING, L. L. et al. A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. **Nature**, v. 517, n. 7535, p. 455, 2015.

LIU, T. P. S. L.; PORTO, T. S.; MOREIRA, K. A.; TAKAKI, G. M. C.; BRANDÃO COSTA, R.; HERCULANO, P. N.; PORTO, A. L. F. Tannase production by *Aspergillus* spp. UCP1284 using cashew bagasse under solid state fermentation. **African Journal of Microbiology Research**, v. 10, n. 6, p. 565-571, 2016.

MABROUK, M.I.; SALEN, N.M. Molecular identification and characterization of antimicrobial active actinomycetes strains from some Egyptian soils. **Am. Eurasian. J. Agric. Environ. Sci.** 14:954- 963. 2014.

MADIGAN, M. T. *Microbiologia de Brock*, 12ª Ed. Porto Alegre: **Artmed**, p. 459-451, 2010.

MANDELLI, F.; MIRANDA, V.S; RODRIGUES, E; MERCADANTE, A.Z. Identification of carotenoids with high antioxidant capacity produced by extremophile microorganisms. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, p.1781– 1790, 2012.

MANIVASAGAN, P., VENKATESAN, J., SIVAKUMAR, K., KIM, S.K. Marine actinobacterial metabolites: current status and future perspectives. **Microbiol Res.** v. 168, p. 311–332. 2013.

MATSUURA, T. et al. **Caracterização taxonomica de actinomicetos endofíticos produtores de antibióticos isolados de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* Schum.): Takeshi Matsuura.** 2004. 68 f. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2004.

MATUSCHEK, E.; BROWN, D. F.J.; KAHLMETER, G.. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 4, p. O255-O266, 2014.

MENDES, T. D. **Atividade antimicrobiana de actinobactérias isoladas de formigas Atinni (Hymenoptera: Formicidae).** 2010. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2010.

MULLA, S. I. et al. Biodegradation of 2-nitrotoluene by *Micrococcus* sp. strain SMN-1. **Biodegradation**, v. 22, n. 1, p. 95-102, 2011.

MULVEY, M. R, SIMOR, A. E. Antimicrobial resistance in hospitals: how concerned should we be? **Can Med Assoc J** 180: 408-415, 2009.

MOHAMMADIPANAH, F.; WINK, J. Actinobacteria from arid and desert habitats: diversity and biological activity. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 1541, 2016.

NASCIMENTO, K. B. M; MARTINS, A. G. R.; TAKAKI, G. M. C.; SILVA, C. A. A.; OKADA, K. Utilização de resíduos agroindustriais para produção de tanase por *Aspergillus* sp isolado do solo da caatinga de Pernambuco, Brasil. *E-xacta*, v. 7, n. 1, p. 95-103, 2014.

NASCIMENTO, R. F. Q.; SOUSA, B. L. P.; BEZERRA, R. M. S.; SILVA, R. B.; CAVALCANTI, R. M. F.; QUEIROZ, J. C. F. Prospecção de fungos da Caatinga produtores de antibióticos. **Revista Saúde e Ciência**, v. 3, n. 3, p. 76-85, 2014.

NCCLS. Standards Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standard—Eighth. NCCLS document M2- A8, Pennsylvania, USA: **Edition Wayne**, 2003.

NETZER, R.; STAFSNES, M. H; ANDREASSEN, T.; GOKSØYR, A.; BRUHEIM P.; TRYGVE B. Biosynthetic Pathway for -Cyclic Sarcinaxanthin in *Micrococcus luteus*: Heterologous Expression and Evidence for Diverse and Multiple Catalytic Functions of C50 Carotenoid Cyclases. **Journal of Bacteriology**, v, 192, N 21, p. 5688–5699, 2010.

NEVES, A.G.D. **Identificação molecular de bactérias edáficas em uma área de preservação no semiárido paraibano**. 2016. 48 f. Monografia (Curso de graduação em Ciências Biológicas). Universidade Estadual da Paraíba, Paraíba, 2016.

NICOLAOU, K. C.; MONTAGNON, T. Molecules that changed the world. **Clinical Pharmacology and Pharmacokinetics**, p. 14, 2008.

NICOLAU, P. B. Microrganismos e ambiente: ar e água, solo e extremos. *Microrganismos e Ambiente*. **AbERTA**. 2016.

NORMANSELL, I. D. Isolation of *Streptomyces* mutants improved for antibiotic production. **The Bacteria**, v. 9, p. 95-118, 1986.

OSTROSKY, E. A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.

PASTORE, R. A. A. **Diversidade taxonômica e biodegradação de lignina em comunidade bacteriana do solo da caatinga**. 2016. 125 f. Dissertação (Programa de Pós Graduação em Genética e Biologia Molecular). Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia. 2016.

PAYNE, D. J. et al. Drugs for bad bugs: confronting the challenges of antibacterial discovery. **Nature reviews Drug discovery**, v. 6, n. 1, p. 29, 2007.

PENNA, C.; MARINO, S.; VIVOT, E.; CRUAÑES, M.C.; MUÑOZ, J.D.; CRUAÑES, J.; FERRARO, G.; GUTKIND, G.; MARTINO, V. Antimicrobial activity of Argentine plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from *Sebastiania brasiliensis*. **J Ethnopharmacol** 77: 37-40. 2001.

PELCZAR, M. J. JR.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. Microbiologia; Conceitos e aplicações. 2ª ed. São Paulo: **Pearson Makron Books**, v. 1, p. 248, 1997.

PFEFFERLE, C.; HEOBALD, U.; GÜRTLER, H.; FIEDLER, H.P. Improved secondary metabolite production in the genus *Streptosporangium* by optimization of the fermentation conditions. **Jornal of Biotechnology**, v. 80, p. 135-142, 2000.

PEREIRA, A. L; PITA, J. R. Alexander Fleming (1881-1955). Da descoberta da penicilina (1928) ao Prémio Nobel (1945). **Revista da Faculdade de Letras: História Porto**, v. 6, p. 129-151, 2005.

PETROVA, D.; VLAHOV, S. Taxonomic characterization of the thermophilic actinomycete strain 21E producer of thermostable collagenase. **Journal of Culture Collections**, v. 5, n.1, p. 3-9, 2006

PIMENTA, C.; ROSENDO, P. Resistência de Bactérias a Antibióticos. **Ciência Viva Departamento de Biologia**. Lisboa. 2009.

PROCOPIO, R.E.L.; SILVA, I.R.; MARTINS, M.K.; AZEVEDO, J.L.; ARAÚJO, J.M. Antibiotics produced by *Streptomyces*. **The Brazi. J. Infect. Dis.** 16(5):466- 471, 2012.

QIN, S.; XING, K.; JIANG, J.H.; XU, L.H.; LI, W.J. Biodiversity, bioactive natural products and biotechnological potential of plant-associated endophytic actinobacteria. **Appl Microbiol Biotechnol** 89, 457– 473. 2011.

RADDADI, N. et al. Biotechnological applications of extremophiles, extremozymes and extremolytes. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 99, n. 19, p. 7907-7913, 2015.

RAJEE, O.; PATTERSON, Jamila. Decolorization of azo dye (orange MR) by an autochthonous bacterium, *Micrococcus* sp. DBS 2. **Indian journal of microbiology**, v. 51, n. 2, p. 159-163, 2011.

RATEB, M. E. et al. Diverse metabolic profiles of a *Streptomyces* strain isolated from a hyper-arid environment. **Journal of natural products**, v. 74, n. 9, p. 1965-1971, 2011.

REZENDE, A. M. F. A. **Bactérias extremófilas facultativas: efeito na promoção de crescimento de plantas de tomate e na supressão de *Ralstonia solanacearum***. 2010. 156 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia). Universidade de Brasília, Brasília, 2010.

RIBEIRO, M. L. et al. Detection of high-level tetracycline resistance in clinical isolates of *Helicobacter pylori* using PCR-RFLP. **Fems Immunology and Medical Microbiology**. Holanda. v.40, n.1, p.57 - 61, 2004.

RODRIGUES, A. A. et al. Isolation and Screening for Multi-Trait Plant Growth Promoting Actinobacteria from Organic Sugarcane Rhizosphere. **International Journal of Microbiology Research**, ISSN, p. 0975-5276, 2018

RODRIGUES, L. S.; DI GIOIA, T. S. R.; ROSSI, F. *Stenotrophomonas maltophilia*: resistência emergente ao SMX-TMP em isolados brasileiros. Uma realidade?. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, n. 5, p. 511-517, 2011.

RUDD, B. A.M.; HOPWOOD, D. A. Genetics of actinorhodin biosynthesis by *Streptomyces coelicolor* A3 (2). **Microbiology**, v. 114, n. 1, p. 35-43, 1979.

SAADOUN, I.; AL-JOUBORI, B.; AL-KHOURY, R. Testing Of Production Of Inhibitory Bioactive Compounds by Soil Streptomyces as Preliminary Screening Programs In UAE For Anti-Cancer And Anti-Bacterial Drugs. **Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.** 4(3), 446-459. 2015.

SALAM, N. et al. Atinobactérias endofíticas associadas a *Dracaena cochinchinensis* Lour.: isolamento, diversidade e suas atividades citotóxicas. **BioMed research international** , v. 2017, 2017.

SANCHEZ, S.; DEMAIN, A. L. Metabolic regulation of fermentation processes. **Enzyme in Microbiology Techonology**. v. 31, p. 895-906, 2002.

SANTHANAM, R. et al. *Streptomyces atacamensis* sp. nov., isolated from an extreme hyper-arid soil of the Atacama Desert, Chile. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 62, n. 11, p. 2680-2684, 2012.

- SANTHANAM, R. et al. *Streptomyces bullii* sp. nov., isolated from a hyper-arid Atacama Desert soil. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 103, n. 2, p. 367-373, 2013.
- SANTOS, D. B. et al. Bagaço de cana-de-açúcar e bagaço de sisal como substratos indutores para a produção de endoglucanase por actinobacteria isolada de solo de cultura de sisal. **MAGISTRA**, v. 27, n. 2, p. 235-244, 2015.
- SARATALE, R. G. et al. Ecofriendly degradation of sulfonated diazo dye CI Reactive Green 19A using *Micrococcus glutamicus* NCIM-2168. **Bioresource technology**, v. 100, n. 17, p. 3897-3905, 2009.
- SEJAS, L. M. et al. Avaliação da qualidade dos discos com antimicrobianos para testes de disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, n. 1, p. 27-35, 2003.
- SEMEDO, L. T. A. S. et al. *Streptomyces drozdowiczii* sp. nov., a novel cellulolytic streptomycete from soil in Brazil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, n. 54, p. 1323-1328, 2004.
- SHARMA, S.C.D., SHOYON, M.S., JAHAN, M.G.S., ASADUZZAMAN, A.K.M., KHATUN, B., YEASMIN, T. AND ROY, N. Antibiotic sensitivity and antibacterial activity of *Micrococcus* sp SCS1. **Res. Rev. Biosci.**, v. 6, p.304-310, 2012.
- SILVA, G. B. P G. **Micro-organismos endofíticos de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira-Vermelha): isolamento, atividade antimicrobiana e prospecção química.** 2013, 12 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial). Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2013.
- SILVA, J. P. B. **Avaliação do potencial antimicrobiano de extratos de própolis e do óleo essencial de *Melaleuca leucadendron* (L.) e proposição de um mecanismo de ação.** 2018. 78 f. Dissertação (Programa de Pós Graduação em Biotecnologia). Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto. 2018
- SILVA, V. M. A. et al. Atividade enzimática de actinobactérias do semiárido. **Rev. Bras. Geofís**, v. 8, p. 560-572, 2015.
- SILVA-LACERDA, G. R. et al. Antimicrobial potential of actinobacteria isolated from the rhizosphere of the Caatinga biome plant *Caesalpinia pyramidalis* Tul. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, n. 1, p. 15017488, 2015.

SILVA, M. R. O. et al. Endophytic fungi from brazilian mangrove plant *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. (*Combretaceae*): their antimicrobial potential. **Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances**. Badajoz, Formatex, p. 1260-1266, 2011.

SIMS, G. K.; SOMMERS, L. E.; KONOPKA, A. Degradation of pyridine by *Micrococcus luteus* isolated from soil. **Applied and environmental microbiology**, v. 51, n. 5, p. 963-968, 1986.

SIVARAMAKRISHNA, H.; MAHAJAN G. Microbes an eternal source of innovative drugs. **Express Pharma**, p. 16-30, 2009.

SOARES, F. L. et al. Cellulolytic bacteria from soils in harsh environments. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 5, p. 2195-2203, 2012.

STACH, J. E. M; MALDONADO, L. A.; WARD, A. C.; GOODFELLOW, M.; BULL, A. T. New primers specific for actinobacteria: application to marine and terrestrial environments. **Environ. Microbiol.** 5, p. 828–841, 2003.

STACKEBRANDT, E. et al. Taxonomic Dissection of the Genus *Micrococcus*: *Kocuria* gen. nov., *Nesterenkonia* gen. nov., *Kytococcus* gen. nov., *Dermacoccus* gen. nov., and *Micrococcus* Cohn 1872 gen. emend. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 45, n. 4, p. 682-692, 1995.

STELZNER, A. et al. Analysis of methods for optimizing lysozyme determination. **Allergie und Immunologie**, v. 28, n. 4, p. 251-259, 1982.

STROHL, W.R. Industrial antibiotics: today and the future. **Biotechnology of antibiotics**, 1997.

TAKAHASHI, J. A.; LUCAS, E. M. F. Ocorrência e diversidade estrutural de metabólitos fúngicos com atividade antibiótica. **Química Nova**, v. 31, n. 7, p. 1807-1813, 2008.

TALLUR, P. N. et al. Biodegradation of cypermethrin by *Micrococcus* sp. strain CPN 1. **Biodegradation**, v. 19, n. 1, p. 77-82, 2008.

TEIXEIRA, L. P. et al. Biodiversidade de actinobactérias do solo da caatinga para controle biológico de pragas. In: Embrapa Meio Ambiente-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica, 7, 2013, Campinas. **Anais...** Campinas: ITAL, 2013.

UMADEVI, K.; KRISHNAVENI, M. Antibacterial activity of pigment produced from *Micrococcus luteus* KF532949. **International Journal of Chemical and Analytical Science**, v. 4, n. 3, p. 149-152, 2013.

VASCONCELLOS, R. L. F. et al. Isolation and screening for plant growth-promoting (PGP) actinobacteria from *Araucaria angustifolia* rhizosphere soil. **Scientia Agricola**, v. 67, n. 6, p. 743-746, 2010.

VENTURA, M. et al. Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, New York, v. 71, n. 3, p. 495-548, Mar. 2007.

VENTURA, P.A.O.; JESUS, J.P.O.; NOGUEIRA, J.R.S.; GALDOS-RIVEROS, A.C. Análise fitoquímica e avaliação da susceptibilidade antimicrobiana de diferentes tipos de extratos de *Plantago major* L. (*Plantaginaceae*). **Infarma ciências farmacêuticas**, v.28, p 33-39, 2016.

VON NUSSBAUM, F. et al. Antibacterial natural products in medicinal chemistry—exodus or revival?. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 45, n. 31, p. 5072-5129, 2006.

WAKSMAN, S. A.; SCHATZ, A.; REYNOLDS, D. M. Production of Antibiotic Substances by Actinomycetes. **Annals of the New York Academy of Sciences**. 1213:112-124. 2010.

WALSH, C. et al. Antibiotics: actions, origins, resistance. **American Society for Microbiology** (ASM), 2003.

WALSH, C. T.; WENCEWICZ, T. A. Prospects for new antibiotics: a molecule-centered perspective. **The Journal of antibiotics**, v. 67, n. 1, p. 7, 2014.

WIESER, M. et al. Emended descriptions of the genus *Micrococcus*, *Micrococcus luteus* (Cohn 1872) and *Micrococcus lylae* (Kloos et al. 1974). **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 52, n. 2, p. 629-637, 2002.

WILLIAMS, S.T.; VICKENS, J.C. Detection of actinomycetes in the natural environment—problems and perspectives. In: Okani, Y., Bepper, T. & Ogawara, H. (Eds.) **Biology of the Actinomycetes** 88. Tokyo, pp.265-270. 1988.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Containing antimicrobial resistance. Geneva, Switzerland: **WHO** (WHO Policy Perspectives on Medicines; 10). 2005.

WRIGHT, G D. Q&A: Antibiotic resistance: where does it come from and what can we do about it? **BMC Biology** 8: 1-6, 2010a

YANG, S. J. et al. *Antarcticimonas flava* gen. nov., sp. nov., isolated from Antarctic coastal seawater. *Journal of Microbiology*. v. 47, p. 517-23, 2009.

YOUNG M., et al. Genome sequence of the Fleming strain of *Micrococcus luteus*, a simple free-living actinobacterium. **J Bacteriol** 192:841–860, 2010.

ZHANG, J. W.; ZENG, R. Y. Purification and characterization of a cold-adapted α -amylase produced by *Nocardiopsis* sp. 7326 isolated from Prydz Bay, Antarctic. **Marine Biotechnology**, v. 10, n. 1, p. 75-82, 2008.

ZHANG, Y. et al. New Avermectin Analogues from a Mutant *Streptomyces avermectinius* Strain. *Chemistry & biodiversity*, v. 14, n. 7, p. e1700054, 2017.

ZHENG, C. et al. Isolation and characterization of a novel nitrobenzene-degrading bacterium with high salinity tolerance: *Micrococcus luteus*. **Journal of hazardous materials**, v. 165, n. 1-3, p. 1152-1158, 2009.

ZHUANG, W. Q. et al. Importance of Gram-positive naphthalene-degrading bacteria in oil-contaminated tropical marine sediments. **Letters in applied microbiology**, v. 36, n. 4, p. 251-257, 2003.

ZIMERMAN, R. A. Uso indiscriminado de antimicrobianos e resistência bacteriana. **Ministério da saúde**: Brasília, 2010.

ZIPPERER, A. *et al.* Human commensals producing a novel antibiotic impair pathogen colonization. **Nature**, v. 535, n. 7613, p. 511-516, 2016.