



CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LIPOLÍTICA E ANTIMICROBIANA DE *Bacillus sp.* ISOLADO DE UM AFLUENTE DO RIO IGARAPÉ-AÇU, PARÁ

Juliana Hiromi Emin Uesugi¹, Ana Laura da Silva Carvalho², Caroline Ferreira
Fernandes³, Evely Aline Saraiva Rocha⁴, Danielle Murici Brasiliense⁵, Altem
Nascimento Pontes⁶, Nilson Veloso Bezerra⁷.

¹ Mestranda em Ciências Ambientais. Universidade do Estado do Pará. E-mail:

julianahuesugi@gmail.com

² Acadêmica de Biomedicina. Universidade do Estado do Pará. E-mail: lauradas974@gmail.com

³ Mestranda em Ciências Ambientais. Universidade do Estado do Pará. E-mail:

carol.ferreira2317@gmail.com

⁴ Acadêmica de Biomedicina. Universidade do Estado do Pará. E-mail: evy.saraiva05@gmail.com

⁵ Doutora em Biologia Parasitária da Amazônia. Instituto Evandro Chagas. E-mail:

dmbrasiliense@yahoo.com.br

⁶ Doutor em Ciências, modalidade Física. Universidade do Estado do Pará. E-mail:

altempontes@gmail.com

⁷ Doutor em Entomologia. Universidade do Estado do Pará: E-mail: nbezerra@yahoo.com

Resumo

Objetivo: Caracterizar e avaliar a produção de lipases e antimicrobianos por uma cepa de *Bacillus sp.* isolados de afluentes do Rio Igarapé-Açu, Pará. **Metodologia:** A cepa foi caracterizada inicialmente quanto aos aspectos morfológicos e bioquímicos. A produção de lipases foi avaliada em ágar Rodamina B com azeite de oliva e a atividade antimicrobiana foi avaliada pelo teste de sensibilidade direto, utilizando as cepas *Enterococcus sp.*, *Acinetobacter sp.* e *Klebsiella sp.* **Resultados e discussão:** A cepa apresentou resultados positivos nos testes de fermentação e catalase. Também foi produtora de lipases e apresentou potencial antibacteriano sobre uma cepa de *Enterococcus sp.* **Conclusão:** Os resultados obtidos no presente trabalho demonstraram que *Bacillus sp.* é um gênero de bactérias com um vasto arsenal metabólico, tornando-o um potencial produtor de compostos bioativos com diversas aplicações biotecnológicas. **Palavras-chave:** *Bacillus*; Lipase; Ação antimicrobiana; Biotecnologia.

Área temática: Bacteriologia.

Realização



Apoio





INTRODUÇÃO

Dentro do domínio Bacteria, *Bacillus* é um gênero pertencente ao filo Firmicutes, que engloba bactérias Gram-positivas e formadoras de esporos (Dobrzyński *et al.*, 2023). Seu rápido crescimento e capacidade de formação de endosporos são características importantes do gênero, pois favorecem a sua sobrevivência em diversos ambientes, além de aumentar o interesse para o desenvolvimento de pesquisas acerca da sua habilidade de produzir compostos bioativos, particularmente mais sustentáveis em comparação aos produtos químicos tradicionalmente utilizados (Cavalini *et al.*, 2021).

Entre os compostos produzidos por bactérias do gênero *Bacillus* estão as enzimas hidrolíticas, como as lipases, que possuem uma ampla aplicabilidade biotecnológica em setores têxteis, alimentícios, biorremediação, entre outros (Lopez *et al.*, 2023). Além disso, produzem Peptídeos Antimicrobianos (AMP's), substâncias capazes de inibir o crescimento de um grande número de bactérias resistentes (Mercado; Olmos, 2022), o que as torna candidatas promissoras para o desenvolvimento de novos fármacos. Portanto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar e avaliar a produção de lipases e antimicrobianos por uma cepa de *Bacillus sp.* isolados de afluentes do Rio Igarapé-Açu, Pará.

METODOLOGIA

Trata-se de um trabalho experimental de caráter qualitativo e descritivo, realizado a partir do isolamento e caracterização fenotípica e metabólica de *Bacillus spp.* isolados de afluentes do rio Igarapé-Açu, Pará. Para isso, foi utilizada uma cepa de *Bacillus spp.* pertencente à coleção bacteriana do Laboratório de Microbiologia Aplicada e Genética de Microrganismos (LABMICRO) da Universidade do Estado do Pará (UEPA).

A bactéria foi semeada em ágar nutriente e incubada a 32°C por 24 h. Em seguida, foi submetida a caracterização morfológica das colônias, coloração de Gram e testes bioquímicos por meio ágar Triple Sugar Iron (TSI), motilidade e produção de catalase. Também foi realizada a identificação da cepa por meio do *matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry* (MALDI-TOF MS) para a confirmação a nível de gênero. Para avaliação da produção de lipases, a bactéria foi semeada, em *spots*, em ágar Rodamina (0,001%) com 1% de azeite de oliva e incubada a 32°C por 10 dias. A leitura foi realizada em luz UV e a confirmação da produção da enzima foi baseada na presença de halos alaranjados ao redor das colônias.

Realização



Apoio

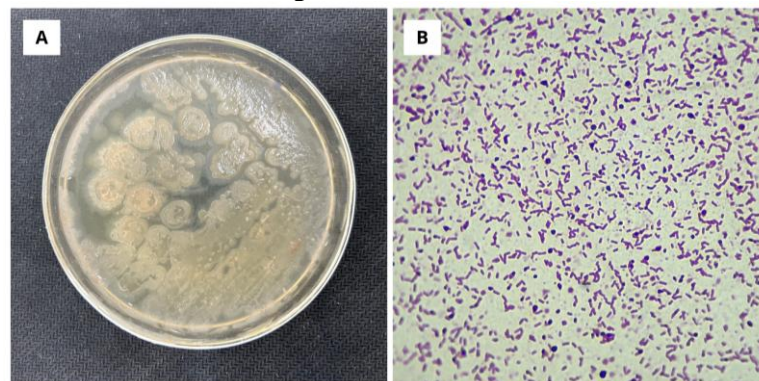


Também foi realizada a avaliação da atividade antimicrobiana da cepa sobre *Enterococcus spp.*, *Klebsiella spp* e *Acinetobacter spp.* por meio do teste de sensibilidade direto. Para o teste, as cepas foram repicadas em ágar Triptona de Soja (TSA) e incubadas a 32°C por 24 horas. Após o crescimento, foram retirados fragmentos de cerca de 1 cm do meio e inseridos em placas de Mueller Hinton semeadas com as bactérias teste. A leitura do teste foi realizada após 24h de incubação e a confirmação da produção de antimicrobianos foi avaliada pela produção de halos de inibição do crescimento ao redor das colônias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a reativação, a cepa apresentou colônias brancas, opacas, secas, de borda irregular e com pigmentação levemente rosada. Quanto às características morfológicas, foram observados bacilos Gram-positivos isolados e aos pares (Figura 1), típicos do gênero *Bacillus*. A presença deste gênero foi confirmada pela técnica de MALDI-TOF, na qual foi obtido um *score* de 1.74 para *Bacillus*, indicativo de provável gênero conforme as instruções do fabricante.

Figura 1. Características coloniais e morfológicas de *Bacillus sp.* de sedimentos de água doce.



Legenda: (A) Colônias de *Bacillus sp.* em ágar nutriente; (B) Bacilos gram-positivos na coloração de Gram. **Fonte:** Os autores, 2024.

No teste de fermentação em TSI, foi observada uma modificação do meio de laranja para amarelo tanto na base, quanto no ápice do meio, indicando fermentação total de glicose, lactose e sacarose. Além disso, não houve a produção de gás ou sulfeto de hidrogênio (H₂S). O resultado foi semelhante ao obtido no trabalho de Sufian *et al.* (2015), o que sugere que os *Bacillus* apresentam uma boa fermentação de carboidratos.

No teste da catalase, a cepa foi positiva para a produção da enzima. A produção

Realização



Apoio

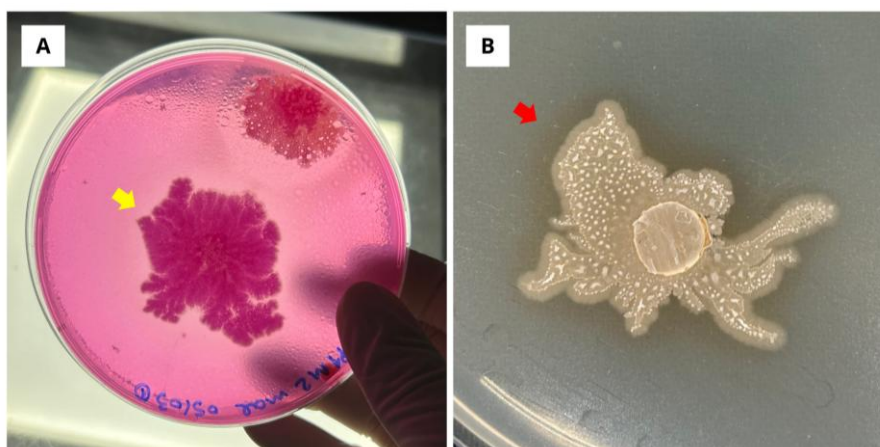


da enzima também foi relatada no trabalho de Saeed *et al.* (2023), no qual os autores apontam que a catalase atua na proteção da bactéria da intoxicação por Espécies Reativas de Oxigênio, como também auxilia na quebra de matéria orgânica e promoção do crescimento vegetal. Nesse sentido, torna-se evidente que a produção da enzima por esse grupo de bactérias está diretamente relacionada à sua sobrevivência no ambiente.

A cepa apresentou resultado positivo para produção de lipase em ágar Rodamina B (Figura 2). O gênero *Bacillus* é relatado como um dos principais produtores de lipase, suas enzimas possuem uma ampla aplicabilidade, abrangendo os diversos setores da indústria, como no processamento de couro, tratamento de águas residuais, indústria médica e alimentícia (Chandra *et al.*, 2020). Os resultados sugerem que a cepa estudada possui um grande potencial biotecnológico a partir da produção de enzimas lipolíticas.

No teste de sensibilidade direto, foi observada uma atividade inibitória somente contra a cepa teste de *Enterococcus sp.*, com um halo de inibição de 47 mm (Figura 2). Os enterococos fazem parte da lista de patógenos prioritários da Organização Mundial da Saúde (OMS), pois devido à sua elevada resistência à vancomicina, penicilina, eritromicina, ciprofloxacina e gentamicina, tem se tornado um dos problemas mais graves associados ao controle de infecções hospitalares (Kibwana *et al.*, 2024). A atividade antimicrobiana sobre enterococos a partir da cepa estudada é muito promissora para a pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos antibacterianos.

Figura 2. Testes de avaliação da produção de lipases e antimicrobianos por *Bacillus sp.*



Legenda: (A) Teste de produção de lipase em ágar Rodamina B, a seta amarela indica a presença do halo de hidrólise enzimática; (B) Teste de produção de compostos antimicrobianos, a seta vermelha indica o halo de inibição formado pela bactéria sobre *Enterococcus sp.* **Fonte:** Os autores, 2024.

Realização



Apoio



CONCLUSÃO

O gênero *Bacillus* possui um vasto arsenal de metabólitos secundários com aplicações em diversos setores da indústria. No presente trabalho, uma cepa de *Bacillus* sp. foi caracterizada quanto às suas capacidades fermentativas e enzimáticas, além da produção de compostos antibacterianos. A bactéria foi capaz de fermentar todos os carboidratos testados e foi produtora da enzima catalase, características essenciais para a sobrevivência em diferentes ambientes. A produção de enzimas lipolíticas e antimicrobianos pela cepa sugere que há um grande potencial para a produção de compostos bioativos de interesse biotecnológico. Por isso, estudos posteriores são necessários a fim de elucidar outros pontos essenciais do metabolismo desta bactéria, bem como sua identificação molecular a nível de espécie.

REFERÊNCIAS:

CAVALINI, L. *et al.* Characterization of the antimicrobial activity produced by *Bacillus* sp. isolated from wetland sediment. **An. Acad. Bras. Ciênc.**, v. 93, n. 4, 2021.

CHANDRA, P. *et al.* Microbial lipases and their industrial applications: a comprehensive review. **Microb Cell Fact**, v. 19, n. 169, 2020.

DOBZYŃSKI, J.; WRÓBEL, B.; GÓRSKA, E.B. Taxonomy, Ecology, and Cellulolytic Properties of the Genus *Bacillus* and Related Genera. **Agriculture**, v. 13, n. 10, 2023.

KIBWANA, U. O. *et al.* Antimicrobial resistance profile of *Enterococcus* species and molecular characterization of Vancomycin resistant *Enterococcus faecium* from the fecal samples of newly diagnosed adult HIV patients in Dar es Salaam, Tanzania. **Frontiers in tropical diseases**, v. 5, 2024.

LOPEZ, M. F. *et al.* Biotechnological potential of microorganisms isolated from the salar del hombre muerto, Argentina. **An. Acad. Bras. Ciênc.**, v. 95, n. 1, p. e20211199, 2023.

MERCADO, V., OLMOS, J. Bacteriocin Production by *Bacillus* Species: Isolation, Characterization, and Application. **Probiotics & Antimicro.** v. 14, p. 1151–1169, 2022.

SAEED, S.W.Z. *et al.* *Bacillus* Strains with Catalase Enzyme Improve the Physiology and Growth of Rice (*Oryza sativa* L.). **Stresses**, v. 3, p. 736-748, 2023.

SUFIAN, M. H. N. *et al.* Isolation and Identification of 3-chloropropionic acid degrading bacterium from marine sponge. **Jurnal Teknologi**. v. 77, p. 71-75, 2015.

Realização



Apoio

