



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ  
INSTITUTO DE BIODIVERSIDADE E FLORESTA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS**

**ANDREZA DA SILVA PEIXOTO**

**PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS, POTENCIAL ENZIMÁTICO E  
ANTAGÔNICO DE BACTÉRIAS DE TERRA PRETA ANTROPOGÊNICA**

**SANTARÉM - PARÁ  
2024**

**ANDREZA DA SILVA PEIXOTO**

**PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS, POTENCIAL ENZIMÁTICO E  
ANTAGÔNICO DE BACTÉRIAS DE TERRA PRETA ANTROPOGÊNICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, da Universidade Federal do Oeste do Pará, como requisito de Defesa para obtenção do título de Mestre em Biociências.

Área de Concentração: Biotecnologia

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Graciene Fernandes

Coorientador: Prof. Dr. Mateus Terceti

**SANTARÉM – PARÁ  
2024**

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**  
**Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/UFOPA**

---

P379p Peixoto, Andreza da Silva  
Perfil de resistência a antimicrobianos, potencial enzimático e antagônico de bactérias de terra preta antropogênica. / Andreza da Silva Peixoto. - Santarém, 2024.  
95 p. : il.  
Inclui bibliografias.

Orientadora: Graciene do Socorro Taveira Fernandes.  
Coorientador: Mateus de Souza Terceti.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Biodiversidade e Floresta, Programa de Pós-Graduação em Biociências.

1. *Corynebacterium*. 2. *Bacillus*. 3. Atividade antimicrobiana. 4. Perfil enzimático.  
I. Fernandes, Graciene do Socorro Taveira, orient. II. Terceti, Mateus de Souza, coorient. III. Título.

CDD: 23 ed. 579.373


**ANDREZA DA SILVA PEIXOTO**

**PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS, POTENCIAL ENZIMÁTICO E  
ANTAGÔNICO DE BACTÉRIAS DE TERRA PRETA ANTROPOGÊNICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, da Universidade Federal do Oeste do Pará, como requisito de Defesa para obtenção do título de Mestre em Biociências.  
Área de Concentração: Biotecnologia

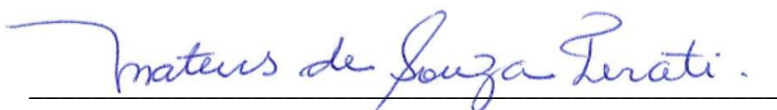
Conceito: Aprovada

Data de Aprovação: 30/07/2024

Documento assinado digitalmente  
 **GRACIENE DO SOCORRO TAVEIRA FERNANDES**  
Data: 05/11/2024 10:56:58-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Graciene do Socorro Taveira Fernandes  
Orientadora – Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA)



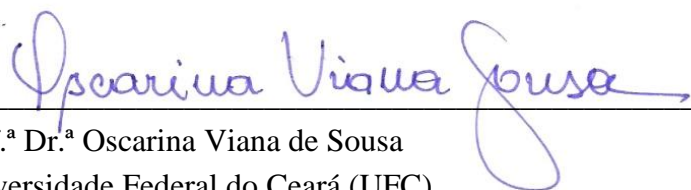
---

Prof. Dr. Mateus de Souza Terceti  
Coorientador – Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA)

Documento assinado digitalmente  
 **ELIZA MARIA DA COSTA BRITO LACERDA**  
Data: 31/10/2024 13:37:13-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Eliza Maria da Costa Brito Lacerda  
Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA)



---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Oscarina Viana de Sousa  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Documento assinado digitalmente  
 **EVELEISE SAMIRA MARTINS CANTO**  
Data: 01/11/2024 09:11:38-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Eveleise Samira Martins Canto  
Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA)

Aos meus pais, Maria Betiza (*in memoriam*) e Francisco Ailton,  
pelo amor, carinho, dedicação e apoio incondicional.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me presenteado com o dom da vida e pelo amor incondicional a que me conduz.

Agradeço aos meus pais, Maria Betiza (*in memoriam*) e Francisco Ailton, por terem me trazido a esta vida e desde então pelo cuidado e amor, pelos exemplos e ensinamentos valiosos, e por tudo que me proporcionaram.

Agradeço ao senhor José Gabriel da Costa por ser um amigo verdadeiro e pelo auxílio e zelo diário em minha vida.

Aos meus irmãos, Andria e Aderlilton, por toda a vivência que somente com irmãos conseguimos experimentar.

As minhas queridas amigas Amanda, Débora, Greicy e Melissa por todos os bons momentos de aprendizados, risadas, companhia e apoio.

Aos amigos e colegas de laboratório, especialmente Carla, Yasmin, Jandria, Gabriel, Daniele, Jamillis, Eliane, Thiago e Henrique por todo o auxílio, companhia, bons momentos e conhecimento compartilhado.

A minha orientadora Graciene Fernandes e meu coorientador Mateus Terceti pelo aceite em me orientar e auxiliar nesta importante etapa de minha vida.

Ao corpo docente e técnico da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA) e do Programa de Pós-Graduação em Biociências.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos – Código de Financiamento 001.

“[...]

Também lhe disseram que a vida é escuridão,  
e em seu cansaço ecoa o que foi dito pelo cansado.

E eu digo que a vida é mesmo escuridão, a não  
ser quando há vontade,

E toda vontade é cega, a não ser quando há  
conhecimento,

E todo conhecimento é inútil, a não ser quando  
há trabalho,

E todo trabalho é vazio, a não ser quando há  
amor;

E quando vocês trabalham com amor, se  
conectam a si mesmos, e uns aos outros, e a Deus.”

(Gibran, 2021, p. 49)

## RESUMO

A Terra Preta Antropogênica (TPA) é um solo que possui cor escura, alta quantidade de nutrientes e grande diversidade de microrganismos que possuem importante papel nesse ambiente além de promissora fonte de substâncias. Os objetivos deste estudo são caracterizar o perfil de resistência a antimicrobianos, avaliar o potencial na produção de enzimas e atividade antagonista de cepas de *Corynebacterium* spp. e *Bacillus* spp. isoladas de amostras de Terra Preta Antropogênica. Para isso, foram realizadas coletas de TPA no mês de março de 2023 na Comunidade de Salgado, no município de Oriximiná/PA. As amostras de solo foram diluídas em solução salina e inoculadas nos meios PCA e isoladas em TSA. A identificação bioquímica foi realizada através da chave dicotômica baseada no livro de Bergey. Posteriormente, foram realizados os testes de perfil de resistência a antimicrobianos pelo método de Kirby-Bauer em que foram testados 13 antibióticos. Para os testes de potencial enzimático, foi verificado a produção de amilase, celulase e protease. A atividade antagonista foi avaliada pelo método de difusão em ágar contra cepas ATCC de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. As cepas que exibiram resultados mais promissores nos testes enzimático e de antagonismo tiveram seu DNA extraído pelo método fenol clorofórmio, enviado para sequenciamento que foi realizado pelo método Sanger da região 16S. Foram isoladas 25 cepas dos gêneros bacterianos escolhidos. Dentre os isolados testados de *Corynebacterium* spp., 25% apresentaram resistência a cinco antibióticos concomitantemente, apresentando maior resistência a penicilina (83,3%), seguido de ampicilina e oxacilina (66,7%). Para o gênero *Bacillus* spp., 50% mostraram-se resistente a tetraciclina e 25% a penicilina. Nos testes enzimáticos, para *Corynebacterium* spp., 43% dos isolados produziram amilase, 21,5% celulase e 100% protease. Dentre as cepas de *Bacillus* spp., 54,5% mostraram-se capazes de produzir amilase, 72,7% celulase e 81,8% protease. Na atividade antagonista, dois isolados de *Corynebacterium* spp. (35,7%) e três cepas de *Bacillus* spp. (45,4%), foram capazes de inibir o crescimento tanto de *S. aureus* ATCC 6538 quanto de *E. coli* ATCC 25922. Dentre as bactérias mais promissoras, foi identificada através de biologia molecular uma cepa, pertencente a espécie *Bacillus subtilis*. Conclui-se que, em solo de Terra Preta Antropogênica há a presença de bactérias resistentes a antibióticos, com capacidade de produção de enzimas e atividade antagonista, mostrando ser importante fonte de microrganismos potenciais para a biotecnologia.

**Palavras-Chave:** *Corynebacterium*. *Bacillus*. Atividade Antimicrobiana. Perfil enzimático.

## ABSTRACT

Anthropogenic Dark Earth (ADE) is a soil with a dark color, high amount of nutrients and a great diversity of microorganisms that play an important role in this environment, in addition to being a promising source of substances. The objectives of this study are to characterize the antimicrobial resistance profile, evaluate the potential in enzyme production and antagonistic activity of *Corynebacterium* spp. and *Bacillus* spp. strains isolated from Anthropogenic Dark Earth samples. For this, ADE collections were carried out in March 2023 in the Salgado Community, in the municipality of Oriximiná/PA. The soil samples were diluted in saline solution and inoculated in PCA media and isolated in TSA. Biochemical identification was performed using the dichotomous key based on Bergey's book. Subsequently, antimicrobial resistance profile tests were performed using the Kirby-Bauer method, in which 13 antibiotics were tested. For the enzymatic potential tests, the production of amylase, cellulase and protease was selected. The antagonistic activity was evaluated by the agar diffusion method against ATCC strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The strains that showed the most promising results in the enzymatic and antagonism tests had their DNA extracted by the phenol-chloroform method and sent for sequencing, which was performed by the Sanger method of the 16S region. Twenty-five strains of the selected bacterial genera were isolated. Among the tested isolates of *Corynebacterium* spp., 25% showed resistance to five antibiotics concomitantly, with the greatest resistance to penicillin (83.3%), combined with ampicillin and oxacillin (66.7%). For the *Bacillus* spp. genus, 50% were resistant to tetracycline and 25% to penicillin. In the enzymatic tests for *Corynebacterium* spp., 43% of the isolates produced amylase, 21.5% cellulase and 100% protease. Among the *Bacillus* spp. strains, 54.5% were able to produce amylase, 72.7% cellulase and 81.8% protease. In the antagonist activity, two isolates of *Corynebacterium* spp. (35.7%) and three strains of *Bacillus* spp. (45.4%) were able to inhibit the growth of both *S. aureus* ATCC 6538 and *E. coli* ATCC 25922. Among the most promising bacteria, a strain belonging to the species *Bacillus subtilis* was identified through molecular biology. It is concluded that only in Anthropogenic Dark Earth is there the presence of beneficial bacteria and antibiotics, with the capacity to produce enzymes and antagonistic activity, showing it to be an important source of potential microorganisms for biotechnology.

**Keywords:** *Corynebacterium*. *Bacillus*. Antimicrobial Activity. Enzymatic profile.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 – Mecanismo de ação das principais classes de antimicrobianos.....	22
Figuras 1 a 6 – Corte, separação, esterilização e embalagem dos tubos de PVC.....	35
Figura 7 – Solo de TPA coletado em diferentes profundidades, no município de Oriximiná, PA.....	36
Figura 8 – Bastonetes Gram-positivo isolados de Terra Preta Antropogênica.....	42
Figura 9 – Perfil fenotípico de cepas de <i>Corynebacterium</i> spp. isoladas de Terra Preta Antropogênica.....	44
Figura 10 – Comparação estatística entre os perfis resistente e sensível das cepas de <i>Corynebacterium</i> spp.....	45
Figura 11 – Cepas de <i>Corynebacterium</i> spp. resistentes, organizadas em forma decrescente de resistência, isoladas de Terra Preta Antropogênica.....	45
Figura 12 A-B – Cepas de <i>Corynebacterium</i> spp. com diferentes halos de resistência isoladas de Terra Preta Antropogênica.....	46
Figura 13 – Perfil fenotípico de cepas de <i>Bacillus</i> spp. isoladas de Terra Preta Antropogênica.....	49
Figura 14 A-B – Cepas de <i>Bacillus</i> spp. com diferentes halos de resistência isoladas de Terra Preta Antropogênica.....	50
Figura 15 – Comparação estatística entre os perfis resistente e sensível das cepas de <i>Bacillus</i> spp.....	50
Figura 16 – Comparação estatística entre os gêneros <i>Bacillus</i> spp. e <i>Corynebacterium</i> spp. acerca do perfil sensível aos antibióticos.....	51
Figura 17 – Comparação estatística entre os gêneros <i>Bacillus</i> spp. e <i>Corynebacterium</i> spp. acerca do perfil resistente aos antibióticos.....	52
Figura 18 – Percentual de produção das enzimas de cepas de <i>Corynebacterium</i> spp. e <i>Bacillus</i> spp. isoladas de Terra Preta Antropogênica.....	53
Quadro 2 – Perfil enzimático de cepas isoladas de Terra Preta Antropogênica.....	54
Figura 19 A-C – Avaliação de atividade enzimática. A presença dos halos indica a formação de enzimas. (A) Amilase; (B) Celulase; (C) Protease.....	55
Figura 20 A-C – Teste de antagonismo de bactérias isoladas de Terra Preta Antropogênica contra <i>S. aureus</i> ATCC 6538 e <i>E. coli</i> ATCC 25922.....	60
Figura 21 – Perfil eletroforético do DNA cromossômico total das bactérias produtoras mais proeminentes.....	62

Figura 22 – Perfil eletroforético dos produtos de PCR obtidos com os primers ( <i>Forward</i> 1 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'; <i>Reverse</i> 2 5'- AAGGAGGTGATCCAGCC-3').....	63
Figura 23 – Análise BLAST utilizando a base de dados NCBI.....	65

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Identificação bioquímica de bactérias isoladas de Terra Preta Antropogênica.....	42
Tabela 2 – Índice enzimático (IE) de bactérias amilolíticas isoladas de Terra Preta Antropogênica.....	55
Tabela 3 – Índice enzimático (IE) de bactérias celulolíticas isoladas de Terra Preta Antropogênica.....	56
Tabela 4 – Índice enzimático (IE) de bactérias proteolíticas isoladas de Terra Preta Antropogênica.....	57
Tabela 5 – Atividade antagonista de bactérias isoladas de Terra Preta Antropogênica.....	59

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	15
<b>2.1 Terra Preta Antropogênica</b> .....	15
<b>2.2 Microrganismos – Gêneros <i>Corynebacterium</i> e <i>Bacillus</i></b> .....	17
<b>2.3 Resistência a antimicrobianos (RAM)</b> .....	19
2.3.1 Mecanismos de ação e classes de antimicrobianos .....	21
2.3.2 Mecanismos de resistência bacteriana .....	23
<b>2.4 Testes de sensibilidade a antimicrobianos</b> .....	25
<b>2.5 Produção de enzimas de interesse biotecnológico</b> .....	26
2.5.1 Amilases .....	28
2.5.2 Celulases .....	29
2.5.3 Proteases .....	30
<b>2.6 Potencial antagonista de microrganismos</b> .....	31
<b>3 OBJETIVO GERAL</b> .....	34
<b>3.1 Objetivos específicos</b> .....	34
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	35
<b>4.1 Amostragem e Obtenção dos isolados bacterianos</b> .....	35
<b>4.2 Perfil fenotípico de resistência a antimicrobianos</b> .....	37
<b>4.3 Potencial enzimático (celulase, amilase e protease) dos isolados</b> .....	38
<b>4.4 Atividade antagônica dos isolados bacterianos</b> .....	39
<b>4.5 Análise Estatística</b> .....	40
<b>4.6 Procedimento de identificação molecular</b> .....	40
4.6.1 Extração de DNA total .....	40
4.6.2 Sequenciamento do gene 16S rRNA .....	41
4.6.3 Análise de Eletroferograma .....	41
<b>4.7 Cadastro no SisGen</b> .....	41
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	42
<b>5.1 Identificação bioquímica dos isolados</b> .....	42
<b>5.2 Perfil fenotípico de resistência</b> .....	43
<b>5.3 Atividade enzimática</b> .....	53
<b>5.4 Atividade antagonista</b> .....	59
<b>5.5 Identificação molecular dos isolados</b> .....	61
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	66

<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>66</b>
---	-----------

## 1 INTRODUÇÃO

Nosso planeta possui uma diversidade biológica que favorece a manutenção da vida humana na Terra (LAGOA; RODRIGUES, 2016), especialmente pela funcionalidade que estes seres vivos exercem nos ambientes. No que tange ao potencial biotecnológico de microrganismos, existem lacunas importantes no conhecimento acerca das possibilidades de aplicação, especialmente sobre bactérias de fontes ambientais que apresentam um diverso *pool* genético nessas comunidades (LIMA, 2016; MOREIRA, 2021).

A Terra Preta Antropogênica (TPA) é um solo que possui cor escura, grande riqueza de matéria orgânica, restos de materiais arqueológico, alta quantidade de nutrientes (ex: C, N, P, K, Ca, Mg, dentre outros) e alteração de diversas propriedades físicas e químicas em comparação com outros tipos de solo adjacentes (WINKLERPRINS, 2014; SOLOMON et al., 2016; NICOSIA; DEVOS; MACPHAIL, 2017). Devido a coloração escura, esse tipo de solo recebe diferentes denominações como Terra Preta, Terra Preta de Índio, Terra Preta Antropogênica e Terra Preta Arqueológica (KÄMPF et al., 2010).

Os grandes estoques de matéria orgânica presente em solo de Terra Preta Antropogênica (TPA) e o manejo deste solo promove o crescimento de plantas e microrganismos benéficos que contribuem para que este seja reservatório genético da biodiversidade em solos amazônicos (SOUZA, 2017).

Tem sido demonstrado que estudar os ARG (Genes de Resistência Antimicrobiana) em isolados de amostras ambientais é uma alternativa interessante para entender a relação entre os microrganismos resistentes e os hospedeiros, como ocorre a aquisição de resistência aos antimicrobianos, e nesse sentido, os resistomas de microrganismos ambientais tem demonstrado conter muito mais genes de resistência do que os resistomas encontrados em patógenos (FORSBERG et al., 2012; NESME et al., 2014; ALÓS, 2015).

Para além da resistência antimicrobiana, os microrganismos também são amplamente investigados quanto a capacidade de produção de enzimas de interesse biotecnológico. As enzimas são proteínas com estruturas especiais e estão presentes em todas as células vivas, envolvidas em todos os processos bioquímicos exercendo a função de catalisadoras de reações químicas, como o catabolismo e anabolismo, que fazem parte do metabolismo microbiano. As enzimas podem ser obtidas de diferentes fontes como plantas, animais e microrganismos (SILVA et al., 2018; GHATTAVI; HOMAEI, 2023).

As enzimas provenientes do metabolismo de microrganismos vem sendo a principal fonte de produção dessas moléculas para uso industrial, pois, moléculas obtidas de origem

microbiana possibilitam otimizar a produção, que é facilitada por processos fermentativos em grande escala e requerem nutrientes mais simples (SINGH et al., 2016a; SILVA et al., 2018). Além disso, possuem maior estabilidade molecular, processamento intracelular mais eficiente e podem auxiliar na mudança de síntese de fármacos para aumentar a diversidade de estruturas desses componentes (VÍLCHEZ; CONORADO, 2012).

Dentre as enzimas de interesse comercial atualmente mais buscadas estão: protease, amilase, celulase, lipase, com grande possibilidade de aplicação nas mais diversas áreas: indústria de alimentos e bebidas, têxtil, de cosméticos, farmacêutica, dentre outras (MORAL; RAMÍREZ-COUTIÑO; GARCÍA-GÓMEZ, 2015; IMRAN et al., 2016; RIGO et al., 2021).

Além da produção de enzimas, os microrganismos também são capazes de agir em antagonismo a outro microrganismo, ou seja, através da produção de substâncias tais como: a produção de ácidos, peróxido de hidrogênio e bacteriocinas antagônicas, um microrganismo é capaz de inibir o crescimento de patógenos (BARBOSA et al., 2011). As bacteriocinas, que são peptídeos antimicrobianos (AMP), são as mais conhecidas e estudadas formas de antagonismo microbiano, sendo as suas aplicações determinadas por suas funções, em que essas podem ser divididas em: sinalização e proteção de um nicho ecológico, aplicações na saúde humana, preservação de alimentos, alternativa aos antibióticos tradicionais, dentre outras (CHIKINDAS et al., 2018). Esses peptídeos podem ser produzidos tanto por bactérias Gram-positivo quanto bactérias Gram-negativo e podem exibir atividade contra o mesmo grupo de Gram e/ou ao grupo oposto (COTTER; ROSS; HILL, 2013).

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Terra Preta Antropogênica**

A Terra Preta não é um fenômeno que não ocorre exclusivamente na Amazônia, pois solos antrópicos podem ser encontrados em outras regiões ao redor do mundo, como é o caso dos solos escuros encontrados na África, Europa e Austrália, que são similares a Terra Preta encontrada na região amazônica (DOWNIE et al., 2011; WIEDNER et al., 2014; SOLOMON et al., 2016; NICOSIA; DEVOS; MACPHAIL, 2017). No entanto, a Terra Preta Amazônica é notável porque contrasta fortemente com a fertilidade especialmente pobre dos solos tropicais tipicamente encontrados nessa região. Ao contrário de outros locais ao redor do mundo onde a agricultura era viável mesmo em solos não modificados, a formação da Terra

Preta Amazônica pode ter desempenhado um papel fundamental em permitir o desenvolvimento de antigas sociedades agrícolas na região (SCHMIDT et al., 2023).

As duas principais teorias a respeito da origem da Terra Preta, que não se excluem mutuamente, envolvem atividades humanas (WOODS; MCCANN, 1999). A primeira teoria é o modelo de depósito de resíduos, que sugere que a Terra Preta resulta principalmente do descarte de lixo doméstico deixados por antigos grupos humanos. A segunda é o modelo agrícola, que atribui a formação da Terra Preta às práticas de cultivo (WOODS; MCCANN, 1999; DENEVAN, 2004). Ambos os modelos consideram a possibilidade deste tipo de solo ter sido formado intencionalmente para melhorar a produção agrícola, mas nenhum deles exige essa condição. Essas teorias surgiram a partir da observação de que os sítios de Terra Preta geralmente apresentam áreas centrais com solo mais escuro, rico em nutrientes e carvão, e com abundância de artefatos, o que inspirou o modelo de depósito de resíduos. Em contraste, as áreas periféricas desses sítios têm solo mais claro, com alta matéria orgânica e carvão, porém com menor teor de nutrientes e menos artefatos, o que deu origem ao modelo agrícola (WOODS; MCCANN, 1999; KERN et al., 2017; BARBOSA et al., 2020). No entanto, em vez de se dividir em duas categorias distintas, a terra escura frequentemente exhibe um continuum entre esses dois extremos, com variações na cor do solo e outras características entre os diferentes sítios arqueológicos (FRASER et al., 2011; KERN et al., 2017).

Dessa maneira, a formação de Terra Preta está ligada diretamente a atividades humanas antigas, pré-colombianas, que envolvem práticas agrícolas, uso do solo com queimadas e fertilização, mineração, fundição de ferramentas, dentre outras (DAZZI; PAPA, 2015; HOWARD, 2017). Com essas práticas regulares, a alteração na paisagem natural ocorreu em diferentes momentos arqueológicos, modificando os solos naturais pelo acúmulo de biomassa de carvão e cinzas, o que afeta as características físicas, a cor do solo, a química e o pH, dando origem a um solo rico em nutrientes (DAZZI; PAPA, 2015; SOUZA et al., 2016; ASARE, 2022).

Apesar de essa teoria ser a mais aceita atualmente sobre a origem do solo de Terra Preta, Silva et al. (2021) publicaram uma hipótese diferente sobre a gênese deste solo, em que seus dados revelam entradas externas de carbono e elementos minerais, vários milhares de anos antes, e em várias ordens de magnitude maiores do que aquelas esperadas da atividade humana. Os níveis elevados de fósforo e cálcio, que são frequentemente interpretados como evidência de atividade humana em outros sítios de TPA, correlacionam-se espacialmente com elementos traço que indicam fontes minerais exógenas em vez de deposição in situ, como normalmente é compreendido. Os autores sugerem ainda que os povos indígenas usaram seu conhecimento

para identificar e preferencialmente se estabelecer em áreas de alta fertilidade antes do surgimento do cultivo de plantas, aproveitando os processos naturais de formação da paisagem, e em seu uso podem ter enriquecido ainda mais os perfis do solo, o que levou às propriedades únicas da Terra Preta, mas não foram responsáveis por sua gênese.

Ainda que não haja um consenso acerca da origem desse tipo de solo, a TPA apresenta uma característica importante, que é a sustentabilidade de seus nutrientes. A fertilidade desse tipo de solo está ligada ao tipo de resíduo, à taxa e ao período de deposição, bem como ao conteúdo específico desses resíduos (GLASER; BIRK, 2012; SCHMIDT et al., 2014). Os principais materiais associados à formação dessas terras incluem cinzas, carvão, restos de comida, ossos, fezes humanas e artefatos cerâmicos (MAEZUMI et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2018; BARBOSA et al., 2020). Nesse quesito, os microrganismos desempenham um papel fundamental na manutenção da fertilidade (FERREIRA, 2007).

As Terras Pretas apresentam uma maior diversidade microbiana em comparação com solos adjacentes (RUIVO et al., 2009; GROSSMAN et al., 2010; GLASER; BIRK, 2012). Essa diversidade é considerada uma consequência das condições específicas do solo de terra preta, e não uma causa (TSAI et al., 2009). Tem sido argumentado que essa população microbiana pode influenciar a dinâmica dos nutrientes e do carbono, ajudando a manter a estabilidade da terra preta e, portanto, sua persistência ao longo do tempo (GLASER; BIRK, 2012; TAKETANI et al., 2013; LIMA et al., 2015; MAXWEL et al., 2016).

A decomposição da matéria orgânica, participação no ciclo de carbono, nitrogênio e fósforo, fixação de N<sub>2</sub> atmosférico, produção de compostos que podem interferir no desenvolvimento de outros organismos, são processos governados principalmente pela comunidade microbiana presente no solo TPA (NAIR; NGOUAJIO, 2012; QUEVEDO; NISHISAKA; MENDES, 2023). Além dessas funções, essa microbiota possui grande potencial biotecnológico, com possibilidade de aplicação tanto no setor agropecuário, no controle biológico, como em outros segmentos (NAKAMURA, 2014; CID, 2015).

## **2.2 Microrganismos – Gêneros *Corynebacterium* e *Bacillus***

Os microrganismos atualmente são importantes fontes de matéria-prima utilizadas em processos biotecnológicos, vindo a serem empregados nas indústrias alimentícias, farmacêutica, têxtil, celulose e papel, cosméticos, na produção de detergentes, biofertilizantes, dentre outras (CHOI; HAN; KIM, 2015; PALIT, 2018; GHOLAMI-SHABANI; SHAMS-GHAHFAROKHI; RAZZAGHI-ABYANEH, 2023). Alguns táxons atualmente possuem

reconhecido potencial biotecnológico, em que se destacam: *Acetobacter* spp., *Bacillus* spp., *Saccharomyces* spp., *Streptomyces* spp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., *Lactobacillus* spp., *Clostridium* spp., dentre outros (SILVA, 2012; OSTOS-ORTÍZ; ROSAS-ARANGO; DEVIA-GONZÁLEZ, 2019; DU et al., 2020; MACIEL et al., 2020).

*Streptomyces* pertence a classe Actinobacteria, suas espécies são consideradas promissores microrganismos na indústria, assim como outros gêneros também tem atraído interesse na busca de potenciais biotecnológicos como *Corynebacterium*, *Terrabacter*, *Nocardia* e *Mycobacterium*, sendo utilizados na produção de enzimas para degradação de hidrocarbonetos, aplicação agrícola, dentre outros (SILVA et al., 2015; SANTOS et al., 2021; MATOS NETO et al., 2022).

O gênero *Corynebacterium* é composto por bacilos Gram-positivos, catalase positivo, aeróbio e não esporulado, e possui 251 espécies e 17 subespécies atualmente conhecidas, entre estas espécies algumas são toxigênicas (OLIVEIRA et al., 2017; LPSN, 2024). Há espécies de *Corynebacterium* que fazem parte da microbiota natural no meio ambiente, na pele e mucosa humana e de animais (ALIBI et al., 2017; ARAÚJO et al., 2018; MANGUTOV; KHARSEEVA; ALUTINA, 2021). Existem ainda, espécies oportunistas que podem causar infecções quando o sistema imunológico do indivíduo está comprometido (PÉREZ-PARRA et al., 2016; SANTOS et al., 2019).

Grande parte das espécies de *Corynebacterium* spp. destacam-se pelo potencial toxigênico, entre elas estão *C. diphtheriae*, *C. ulcerans* e *C. pseudotuberculosis*, sendo as duas últimas, consideradas agentes zoonóticos (CORTI et al., 2012; HIRATA JÚNIOR et al., 2015; TYLER JUNIOR et al., 2022). *C. glutamicum*, espécie não patogênica possui aplicações biotecnológicas em processos de fermentação de biossíntese de compostos aromáticos, aminoácidos para produção industrial, e entre outros processos (LEE et al., 2016; STELLA et al., 2019; ZHA et al., 2023).

*Bacillus* pertence ao filo Firmicutes, classe Bacilli, ordem Bacillales e família Bacillaceae (HARIRCHI et al., 2022). Atualmente há mais de 200 espécies descritas para esse gênero, no entanto, diversas pesquisas estão sendo realizadas para revisar a relação filogenética entre elas, haja vista que é um gênero polifilético e de grande heterogeneidade (GUPTA et al., 2020; PATEL; GUPTA, 2020).

O gênero *Bacillus* é composto por bacilos Gram-positivo, esporogênicos e exibem capacidades metabólicas tanto em condições aeróbicas quanto anaeróbicas (DOBRZYŃSKI; WRÓBEL; GÓRSKA, 2023). As espécies desse gênero são encontradas nos mais diversos ambientes, como solo, ar, sedimentos, águas doces ou marinhas, fontes termais (acidófilos e

termófilos), lagos salinos, além de serem encontradas em alimentos, resíduos, compostos, amostras clínicas, dentre outros (MÁRQUEZ; SÁNCHEZ-PORRO; VENTOSA, 2011; SATYANARAYANA; LITTLECHILD; KAWARABAYASI, 2013; MANDIC-MULEC; STEFANIC; VAN ELSAS, 2016).

Entre as espécies, *Bacillus subtilis*, *B. anthracis*, *B. cereus*, *B. thuringiensis* e *B. licheniformis*, dentre outras, algumas destas patogênicas e promissoras para aplicações biotecnológicas, os estudos têm sido direcionados principalmente para as espécies mais conhecidas desse gênero (EHLING-SCHULZ; LERECLUS; KOEHLER, 2019; COSTA JÚNIOR et al., 2021; LAHIRI et al., 2021). Além de possuírem expoente capacidade de produção de enzimas, algumas espécies expressam atividade antagonista contra patógenos de plantas, de animais e humanos (SHAFI; TIAN; JI, 2017; FIRA et al., 2018; FOYSAL; LISA, 2018; KABEERDASS et al., 2021).

### **2.3 Resistência a antimicrobianos (RAM)**

Os antibióticos são fármacos que revolucionaram a medicina, se tornaram ferramentas terapêuticas importantes no tratamento de infecções causadas por microrganismos, reduzindo consideravelmente a taxa de morbidade e mortalidade advinda de doenças causadas por bactérias e fungos, além de contribuir para o desenvolvimento de procedimentos médicos complexos, como amputação cirúrgica, transplante de órgãos, dentre outros (MUNITA; ARIAS, 2016; COSTA; SILVA JUNIOR, 2017). Entretanto, o mau uso desses fármacos vem contribuindo para acelerar o processo de resistência das bactérias aos antibióticos, uma vez que, no ambiente natural, as populações microbianas produzem antimicrobianos como estratégia de competição por nutrientes e por espaço dentro do micro-habitat que ocupam (MONTEIRO et al., 2020; BRITO; TREVISAN, 2021).

O uso inadequado de antimicrobianos, exerce uma pressão seletiva e com isso tem-se registrado um aumento de casos de multirresistência e pan-resistência bacteriana (BAPTISTA et al., 2015). A multirresistência definida como a não susceptibilidade a pelo menos um agente em três ou mais categorias de antimicrobianos, e pan-resistência é caracterizada como a resistência a todos os agentes em todas as categorias antimicrobianas (MAGIORAKOS et al., 2012). Essas bactérias multirresistentes ou pan-resistentes podem ser encontradas em diferentes ambientes, como esgoto de hospitais, esgoto doméstico, águas de rios contaminados (ABREU et al., 2010; RAVE et al., 2018).

A resistência aos antibióticos é atualmente um dos maiores problemas mundiais de saúde pública, e grande motivo de preocupação, com impacto clínico e econômico aos sistemas de saúde (LOUREIRO et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2020). Em um ambiente em que os microrganismos são repetidamente e excessivamente expostos a antibióticos, a seleção de microrganismos resistentes ocorrerá inevitavelmente, com o uso desses antimicrobianos, maior e mais diferentes são os níveis e complexidades dos mecanismos de resistência exibidos pelas bactérias (DAVIES; DAVIES, 2010; LIMA; BENJAMIM; SANTOS, 2017).

Em termos de saúde pública, a resistência bacteriana representa um crescente risco à qualidade de vida humana conquistada pelos avanços nas áreas de microbiologia, farmacologia, medicina, imunologia e engenharias, comprometendo economicamente os sistemas de saúde, públicos ou privados, além de intensificar outro grande problema de saúde pública: as infecções hospitalares (GONÇALVES et al., 2016; COSTA; SILVA JUNIOR, 2017).

Os microrganismos multirresistentes estão frequentemente associados às infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS). Um número cada vez maior de microrganismos resistentes a antimicrobianos de amplo espectro de ação, resulta em IRAS de difícil tratamento, conseqüentemente há aumento na morbidade, mortalidade, tempo de internação e custos dos tratamentos (GONÇALVES et al., 2016; NOGUEIRA et al., 2016).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) publicou uma lista de alerta sobre bactérias multirresistentes, incluindo como grupo de Risco Crítico: *Acinetobacter baumannii* (carbapenem resistente) e bactérias da ordem Enterobacterales (cefalosporina resistente e carbapenem resistente); Alto Risco: *Salmonella* Typhi (fluoroquinolona resistente), *Shigella* spp. (fluoroquinolona resistente), *Enterococcus faecium* (vancomicina resistente), *Pseudomonas aeruginosa* (carbapenem resistente), *Salmonella* não-typhoidal (fluoroquinolona resistente), *Neisseria gonorrhoeae* (cefalosporina e /ou fluoroquinolona resistente) e *Staphylococcus aureus* (metilina resistente); Risco Médio: Estreptococos grupo A (macrolídeo resistente), *Streptococcus pneumoniae* (macrolídeo resistente), *Haemophilus influenzae* (ampicilina resistente) e Estreptococos grupo B (penicilina resistente). Essas espécies podem causar infecções graves e muitas vezes mortais, como infecções na corrente sanguínea e pneumonia, apresentando uma ameaça particular em hospitais (WHO, 2024a).

Aliado a essa problemática, está a *One Health* ou Saúde Única, uma abordagem integrada que visa equilibrar e otimizar a saúde das pessoas, animais e ecossistemas, reconhecendo que a saúde humana, animal, vegetal e ambiental estão intimamente ligadas e interdependentes. Através dessa conexão, a Saúde Única aborda de maneira mais ampla todo o

controle de doenças, como a prevenção, detecção, preparação, resposta e gestão, contribuindo para a segurança sanitária global em situações como pandemias, resistência antimicrobiana, mudanças climáticas e outras ameaças à saúde (MS, 2024; WHO, 2024b).

Para que a Saúde Única seja uma estratégia e possa ser utilizada de maneira integrada na resistência antimicrobiana, alguns documentos têm sido criados para abordar, esclarecer e organizar essa ferramenta, de maneira que tanto países desenvolvidos como subdesenvolvidos consigam adotar medidas e realizar pesquisas, a fim de combater e criar novas estratégias de combate a bactérias multirresistentes (OECD, 2023; WHO, 2023).

Após quase um século de descoberta da penicilina, por Alexander Fleming em 1928, a humanidade se vê diante de uma corrida por novas drogas, como alternativa para os antimicrobianos existentes, vindo a ser fator essencial para tratar e controlar infecções e doenças bacterianas (LAXMINARAYAN, 2013; ASLAM et al., 2018).

### 2.3.1 Mecanismos de ação e classes de antimicrobianos

Os antimicrobianos podem ser classificados de acordo com: sua origem, sua ação sobre as células bacterianas e de acordo com seu mecanismo farmacodinâmico.

No quesito origem, os antimicrobianos podem ser divididos em três tipos: naturais, quando obtidos a partir de organismos vivos; semissintéticos, quando possuem substâncias de origem natural submetidas a síntese em laboratório; e sintéticos, produzidos exclusivamente em laboratório (GUIMARÃES et al., 2010). Quanto a sua ação sobre as células bacterianas, podem ser bactericidas ou bacteriostáticos. Os fármacos bactericidas atuam eliminando o microrganismo diretamente, enquanto os bacteriostáticos inibem o crescimento e a multiplicação bacteriana, sendo a eliminação do patógeno realizada pelo sistema imunológico do hospedeiro (HOLMES; PELLECCIA, 2016). Os mecanismos farmacodinâmicos dos antibióticos, podem ser: 1) inibição da síntese da parede celular; 2) inibição da síntese de proteínas; 3) inibição da síntese de ácidos nucleicos; 4) desestabilização da membrana celular bacteriana; 5) inibição da síntese de folato (NOGUEIRA et al., 2016; COSTA; SILVA JUNIOR, 2017).

Para cada mecanismo farmacodinâmico, há diferentes classes de antimicrobianos atuantes, podendo serem divididas da seguinte forma (Quadro 1).

**Quadro 1** – Mecanismo de ação das principais classes de antimicrobianos.

<b>Ação sobre a parede celular</b>		<b><math>\beta</math>-lactâmicos Glicopeptídeos</b>
Ação sobre a síntese proteica	Inibidores de 30S	Aminoglicosídeos Tetraciclina
	Inibidores de 50S	Anfenicóis Macrolídeos Lincosamidas Oxazolidinonas
Ação sobre a estrutura e função do DNA	Inibidores de DNA girase	Quinolonas
	Inibidores de RNA polimerase	Rifampicinas
Ação sobre a estabilidade da membrana celular		Polimixinas
Ação sobre o metabolismo do folato		Sulfonamidas Trimetoprima

Fonte: Adaptado de Nogueira et al. (2016).

A inibição da síntese da parede celular (PC) tem como princípio a ação sobre polímeros de peptidoglicanos que compõem a PC bacteriana. Os peptidoglicanos são constituídos por subunidades dissacarídeo-pentapeptídeo. O dissacarídeo, constituído por N-acetilglucosamina se liga ao ácido N-acetilmurâmico que por sua vez se encontra ligado a um peptídeo com quatro aminoácidos: L-alanina (L-Ala), D-alanina (D-Ala), ácido D-glutâmico e L-lisina nas bactérias Gram-positivo ou o ácido diaminopimélico nas bactérias Gram-negativo (GROSSO, 2022).

Os antimicrobianos que possuem esse mecanismo de ação, atuam inibindo a síntese de peptidoglicanos. Os  $\beta$ -lactâmicos constituem a principal classe de fármacos inibidores da síntese da PC, tendo como representantes as penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos e monobactâmicos, e que possuem o anel  $\beta$ -lactâmico em seu núcleo estrutural, com ação bactericida (SANTOS et al., 2018; BALSALOBRE; BLANCO; ALARCÓN, 2019). Além dos glicopeptídeos, como a vancomicina, também agem na síntese de PC, pois impede a ligação cruzada entre o N-acetilglucosamina e o ácido N-acetilmurâmico que formam o peptidoglicano da parede celular (BUTLER et al., 2014; SARKAR; HALDAR, 2019).

Os inibidores da síntese proteica atuam sobre os ribossomos bacterianos. Os ribossomos bacterianos são organelas constituídas por duas subunidades a 30S e 50S, que possuem como função sintetizar proteínas (SANTOS et al., 2018). Entre os fármacos atuantes nesse processo incluem os aminoglicosídeos, tetraciclina, anfenicóis, macrolídeos, lincosamidas e oxazolinidona, que inibem ou interferem a síntese proteica, impedindo a

produção de enzimas necessárias para o funcionamento do metabolismo e impedindo também o crescimento bacteriano (CARDOSO, 2022; PEREIRA 2022).

Alguns antimicrobianos atuam na inibição da síntese de ácidos nucleicos. Para que ocorra a replicação do DNA é necessária a ação da enzima DNA-girase. Isto ocorre após a separação dos filamentos individuais da dupla fita de DNA, através da DNA-helicase, com a formação da forquilha de replicação do DNA, seguida da formação de superespirais positivos que se não interrompidos, que impedem a continuidade do processo. Para resolver esse problema e para que aconteça a replicação, a DNA-girase insere superespirais negativos no DNA bacteriano. Outra enzima essencial para o processo de replicação do DNA bacteriano é a topoisomerase IV, que atua na separação das moléculas-filhas de DNA interligadas, fazendo parte dos produtos da replicação (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

Entre os antimicrobianos que interferem na síntese do ácido nucleico incluem as quinolonas e fluoroquinolonas, antibióticos sintéticos como a ciprofloxacina, norfloxacina e ofloxacina, que inibem a ação das enzimas DNA-girase e topoisomerase IV bacterianas. Além da rifampicina que atua também inibindo a RNA-polimerase, enzima responsável pela transcrição, que impede a síntese de mRNA, e por conseguinte a síntese proteica (GAUTHIER; UNGER, 2016; CONCEIÇÃO, 2022).

A desestabilização da membrana celular (MC) é outra maneira encontrada para que os antibióticos ajam sobre as bactérias, e as polimixinas representam os principais fármacos que agem desta maneira (NOGUEIRA et al., 2016). As polimixinas são moléculas anfipáticas tensoativas que interagem com os lipopolissacarídeos presentes na MC das bactérias, removendo o cálcio e magnésio que mantém a estabilidade da membrana, levando a alteração da permeabilidade e consequente liberação do conteúdo, levando à morte da célula (KISGEN, 2016a; LEDGER; SABNIS; EDWARDS, 2022).

A inibição da síntese de folato, cofator necessário para a síntese de enzimas como purinas, pirimidinas, aminoácidos e timidinas, é outra forma de ação de antimicrobianos frente a bactérias (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). As sulfonamidas atuam nessa via, configurando ação bacteriostática. Enquanto a trimetoprima também atua como um bacteriostático, porém com ação inibidora em uma diferente etapa da síntese de folato (CONCEIÇÃO, 2022).

### 2.3.2 Mecanismos de resistência bacteriana

A resistência aos antimicrobianos (RAM) pode ocorrer das seguintes maneiras: a) por características intrínsecas do microrganismo, sendo estrutural ou funcional inerente da espécie (BLAIR et al., 2015); b) pode ser adquirida, como resultado de mutações e ocorrem durante o processo de replicação celular ou por indução a partir de agentes mutagênicos capazes de alterar genes bacterianos, como radiações ionizantes e não ionizantes, agentes alquilantes, dentre outros (BAPTISTA, 2013); c) pode ser adquirida por aquisição de material genético exógeno proveniente de outros microrganismos que contenham genes de resistência a antimicrobianos e que são propagados por meio de transferência gênica horizontal, pela conjugação (COSTA; SILVA JUNIOR, 2016).

A emergência e disseminação de diversos microrganismos resistentes é uma questão multifatorial entre estes estão: pressão seletiva exercida por condições do meio, que podem acarretar no favorecimento e difusão de microrganismos resistentes; disseminação e proliferação de clones multirresistentes, que podem ocorrer em todo o mundo, além dos mencionados no parágrafo anterior (BLAIR et al., 2015; MUNITA; ARIAS, 2016).

Os mecanismos bioquímicos que conferem resistência antimicrobiana aos microrganismos, incluem: a formação de enzimas que destroem ou modificam a estrutura química do fármaco, antes que este possa surtir efeito; alteração no local de ligação do antimicrobiano através de modificações na MC ou PC bacteriana; presença de bombas de efluxo; mutações que alteram o sítio alvo; e capacidade de formação de biofilmes (TEIXEIRA; FIGUEIREDO; FRANÇA, 2019).

De acordo com Casellas (2020), as bactérias que primeiro expressam os mecanismos de resistência o fazem como resposta ao ambiente hostil que encontram. Segundo Färina (2016) diversos fatores podem levar a resistência, como: uso inadequado de antimicrobianos, inexistência de programas de prevenção e controle de contaminação, profissionais da saúde com deficiente ou nenhuma capacitação a respeito de resistência, descobertas insipientes quanto a introdução de novos fármacos ou modificação dos existentes para torná-los mais eficientes, fragilidade na atuação da vigilância e regulação por parte pública e privada do uso de antimicrobianos.

O uso e controle dos antimicrobianos envolve diversos profissionais que atuam nos locais de assistência à saúde entre estes estão médicos, enfermeiros e farmacêuticos, e até mesmo a população em geral (LIMA; BENJAMIM; SANTOS, 2017). Para o controle da resistência bacteriana aos antibióticos é essencial que algumas medidas sejam tomadas, como o uso racional dos antibióticos, a indicação correta dos fármacos, o controle e prevenção da disseminação de microrganismos resistentes, assim como a busca por novas substâncias

eficientes contra os microrganismos patogênicos, dentre outros (GUIMARÃES et al., 2010; SANTOS, 2017).

#### 2.4 Testes de sensibilidade a antimicrobianos

Atualmente, há diversos testes laboratoriais utilizados para detectar a resistência a antimicrobianos e para avaliar a sensibilidade *in vitro* de um determinado microrganismo (VAZQUEZ-PERTEJO, 2022). Dentre estes, os testes mais utilizados são a difusão em disco e a diluição em ágar ou caldo. Desta forma, é possível avaliar se um microrganismo é sensível ou resistente a um determinado agente antimicrobiano e estimar a menor concentração necessária para inibir o crescimento do microrganismo teste, pela zona ou diâmetro do halo de inibição (mm) e/ou pela Concentração Inibitória Mínima - CIM ( $\mu\text{g/mL}$ ), respectivamente (GAJIC et al., 2022; SALAM et al., 2023).

O teste de difusão em disco é popularmente conhecido como “difusão em disco Kirby-Bauer” e foi desenvolvido na década de 1940 (HEATLEY, 1944). Trata-se de um método qualitativo realizado em um meio de cultura sólido (ágar) em que o microrganismo em teste é inoculado, e sobre a placa contendo o inóculo são aplicados discos de papel impregnados com antimicrobianos com diferentes concentrações (BAUER et al., 1966; VERMA; BALEKAR, 2023). Após o período de incubação é realizada a leitura do diâmetro do halo entorno do disco exibido na placa, e de acordo com o tamanho dos halos, é feita a classificação do microrganismo em sensível, intermediário e resistente conforme os padrões estabelecidos pelo CLSI (CLSI, 2024a).

O método de diluição em ágar ou caldo é um método quantitativo, no qual os antimicrobianos são diluídos em concentrações consecutivas e incorporados ao meio de cultura e cada concentração é misturada ao ágar em placas individuais seguida da inoculação do microrganismo teste (WIEGAND; HILPERT; HANCOCK, 2008; RAMOS, 2020). A diluição em caldo, pode ser feita pela macrodiluição ou por microdiluição, em que o resultado é observado pela presença ou ausência de turvação do meio, após incubação, indicando crescimento ou inibição bacteriana, respectivamente (NICARETA, 2019; SALAM et al., 2023).

A macrodiluição é realizada em tubos contendo diferentes concentrações dos antimicrobianos em caldo. Esta é uma metodologia que exige maior tempo, espaço e materiais utilizados se comparada à microdiluição. Já o método de microdiluição é realizado em microplacas de 96 poços, em que são adicionados um volume menor de meio de cultura e de antibióticos. Além disso, em cada microplaca pode ser testado mais de um tipo de

antimicrobiano, demonstrando ser uma técnica mais prática, versátil e econômica (RELLER et al., 2009; BALOUIRI; SADIKI; IBNSOUDA, 2016; GAJIC et al., 2022).

A Concentração Inibitória Mínima (CIM), utilizando o método de microdiluição, é caracterizada como a menor concentração em mg/mL da substância antimicrobiana capaz de inibir o crescimento de microrganismos após 24 horas de incubação (CLSI, 2012; BENKOVA; SOUKUP; MAREK, 2020; KOWALSKA-KROCHMAL; DUDEK-WICHER, 2021). Essa é uma medida quantitativa da susceptibilidade *in vitro* e é um método comumente aplicado na prática para agilizar o direcionamento para o tratamento de infecções microbianas (KISGEN, 2016b; ABDUL-AZIZ et al., 2022).

A determinação da CIM pela microdiluição pode ser feita pela leitura visual ou por meio de espectrofotômetro. Através da adição de substâncias reveladoras de células viáveis é possível obter uma maior confiabilidade da susceptibilidade cepa teste aos antimicrobianos. Além disso, a depender do microrganismo que está sendo testado, em pouco tempo a leitura do resultado da CIM pode ser obtida (OSTROSKY et al., 2008; BALOUIRI; SADIKI; IBNSOUDA, 2016; MIRANDA et al., 2023).

Posteriormente à determinação da CIM, é possível realizar o teste de Concentração Bactericida Mínima (CBM), que se caracteriza pela concentração mínima da substância antimicrobiana a ser testada capaz de inibir pelo menos 99,9% do inóculo bacteriano (COSTA et al., 2021). Para isso, as amostras obtidas do caldo cultivado com a substância teste na CIM observada, são subcultivadas em placas de Petri em ágar, para observar se a concentração testada apresentou efetiva ação bactericida (ALMEIDA et al., 2020; SILVA et al., 2024).

## **2.5 Produção de enzimas de interesse biotecnológico**

As enzimas são catalisadores biológicos produzidas pelos organismos vivos, sendo em sua maioria de origem proteica, que possuem como função acelerar reações bioquímicas vitais (SILVA; BARBOSA, 2019; GUPTA et al., 2021). O potencial catalítico das enzimas é amplamente utilizado pelas indústrias em todo o mundo, pois estas são aplicadas não somente nos clássicos processos de fermentação, mas também em processos de biotransformações para a catálise de reações químicas de interesse industrial, sendo amplamente utilizadas na área farmacológica, alimentícia, cosmética, bem como na produção de papel e indústria têxtil, dentre outros (CHOI; HAN; KIM, 2015; PALIT, 2018; THATOI; MOHAPATRA; DAS, 2021).

As enzimas podem ser divididas em sete classes, de acordo com o tipo de reações que catalisam: oxirredutases (catalisam reações de oxidação-redução ou transferência de

elétrons); transferases (transferem grupos funcionais entre moléculas); hidrolases (catalisam reações de hidrólise de ligação covalente); liases (adição de grupos a duplas ligações ou remoção de grupos deixando dupla ligação); isomerases (reações de interconversão entre isômeros óticos ou geométricos); ligases (condensação de duas moléculas, sempre às custas de energia, geralmente do ATP) e translocases (incorporam enzimas que catalisam o movimento de íons ou moléculas através das membranas ou sua separação dentro das membranas) (SANTOS et al., 2017; VANDENBERGHE et al., 2020; MCDONALD; TIPTON, 2023).

O uso de enzimas em processos de catálise industrial apresenta algumas vantagens quando comparado aos métodos químicos tradicionais. A utilização das enzimas confere alta especificidade nas reações, não são consumidas durante o processo, aumentam a velocidade das reações por diminuírem a energia de ativação, são estereoseletivas, atuam em pH e temperatura brandas, e são produtos naturais biológicos e biodegradáveis (CHAPMAN; ISMAIL; DINU, 2018; AMATTO et al., 2021).

Para que uma determinada enzima possa ser utilizada na indústria, é necessário apresentar algumas características específicas e desejadas, além de ser produzida em grande quantidade e em pouco tempo (JEMLI et al., 2016; VIVEK; SANDHIA SUBRAMANIYAN, 2022). Atualmente, uma das maiores dificuldades neste ramo de pesquisa é encontrar enzimas capazes de suportar algumas condições industriais como altas temperaturas e diferentes faixas de pH (ARCUS et al., 2020; MESBAH, 2022).

Esses biocatalisadores podem ser extraídos de plantas, animais e microrganismos. Embora as enzimas provenientes de vegetais e animais ainda sejam bastante utilizadas, as enzimas microbianas se destacam por apresentarem vantagens como: possibilidade de produção em larga escala, menor tempo de produção, amplo espectro de características físico-químicas, possibilidade da utilização de substratos baratos, produção independentes de fatores sazonais, dentre outros (SINGH et al., 2016a; OKPARA, 2022; LIU; KOKARE, 2023).

A busca por microrganismos que produzam essas enzimas vem crescendo cada vez mais, e juntamente com isso, as técnicas de pesquisa vem se aperfeiçoando, incluindo técnicas de biologia molecular (SILVA; CARUSO, 2015; WANI et al., 2022; DWIVEDI et al., 2023). A identificação de novas fontes microbianas, principalmente aquelas que não são tóxicas ao ser humano, é de interesse estratégico, pois, além de trazer novas alternativas que podem suprir carências em diversos processos industriais, torna possível a descoberta de novos processos enzimáticos que não poderiam ser realizados utilizando enzimas provenientes de plantas ou animais (SINGH et al., 2016a; KOCABAS; LYNE; USTUNOL, 2022; TATTA et al., 2022).

### 2.5.1 Amilases

As amilases são enzimas do grupo das hidrolases e atuam sobre a molécula de amido, degradando esta em dextrina, maltose e unidades de glicose (COELHO et al., 2018). As amilases podem ser classificadas em 4 subclasses: endoamilases, exoamilases, enzimas desramificadoras e transferases. As endoamilases possuem a capacidade de hidrolisar aleatoriamente as ligações glicosídicas dentro da molécula de amido, sendo conhecidas desse grupo as  $\alpha$ -amilases; as exoamilases que hidrolisam o amido em posições específicas da molécula, tendo como representantes as  $\beta$ -amilases e glucoamilases; as enzimas desramificadoras hidrolisam ligações do tipo  $\alpha$ -1,6 presentes no amido, desfazendo as ramificações, como exemplo tem-se as isoamilase e pululanase; e as transferases que atuam formando novas ligações  $\alpha$ -1,4 e/ou  $\alpha$ -1,6, incorporando novos monômeros numa cadeia linear ou na forma de ramificações na cadeia amilácea, tendo como exemplo a ramificação 1,4- $\alpha$ -glicana, amilomaltase e ciclodextrina glicosiltransferase. Sendo estes mecanismos atuantes tanto de forma individual como concomitante (CINELLI, 2012; SILVA NETO, 2020; REHMAN et al., 2023; MADHUMITA; NAYAK; NANDI, 2024).

A  $\alpha$ -amilase é capaz de romper as ligações glicosídicas do tipo  $\alpha$ -1,4 de forma randômica resultando na produção de oligossacarídeos e dextrinas (FAROOQ et al., 2021; PUTERI et al., 2022). Enquanto a  $\beta$ -amilase possui a capacidade de hidrolisar  $\alpha$ -1,4 das extremidades não redutoras do amido, gerando maltose (THALMANN et al., 2019; SINGH et al., 2022). As glucoamilases atuam rompendo ligações do tipo  $\alpha$ -1,4 do amido na extremidade não redutora e mais lentamente nas ligações do tipo  $\alpha$ -1,6 resultando na liberação de glicose, em que pode ocorrer a completa quebra do amido e ser produzido 100% de glicose, a depender das condições do processo de hidrólise (WANG et al., 2020; ZONG et al., 2022; OLAWOYE et al., 2023).

As enzimas amilolíticas ou amilases constituem um dos mais importantes e antigos grupos de enzimas industriais, com capacidade de hidrolisar o amido, modificar sua estrutura e gerar produtos finais de alto valor agregado, faz com que estas desempenhem papel fundamental em vários processos dos setores industriais, como: alimentício, têxtil, farmacêutico, químico, e na produção de detergentes e biocombustíveis, além de processos de biorremediação, dentre outros. Adicionalmente, a grande maioria dessas enzimas são provenientes de microrganismos (PINTO; DORN; FELTES, 2020; TANG et al., 2020; LIM; OSLAN, 2021; MONDAL et al., 2022).

Na indústria alimentícia, especialmente na panificação, as amilases atuam modificando ou hidrolisando o amido presente na massa para posteriormente oferecer açúcares para a fermentação. Tal processo implica em diversos aspectos das etapas de produção, atuando diretamente no aumento do volume do pão, no aumento da quantidade de açúcar presente na massa, influenciando sabor, textura, viscosidade e em outras características (HASHIM, 2019; RAMESH et al., 2020).

Na indústria de sucos e cerveja, as amilases atuam no processo pré-fermentativo para a geração de mono e oligossacarídeos que serão fermentados e utilizados no processo de clarificação das bebidas (SOUZA; MAGALHÃES, 2010; PARK et al., 2017; ABOLORE et al., 2023). Na produção de xaropes de glucose e frutose, essas enzimas são utilizadas para hidrolisar as moléculas de amido (SINGH; SINGH; SACHAN, 2019; WINARTI; ANGGREINI, 2022).

Na indústria têxtil e de celulose, as enzimas amilolíticas podem ser utilizadas no amaciamento, modificação, limpeza e no processo de retirada de goma de fibras têxteis e folhas, além de poder serem utilizadas para proteção das fibras celulósicas contra danos mecânicos e melhoria no acabamento final do produto (SINGH et al., 2016a; JUJAVARAPU; DHAGAT, 2019; KUMAR et al., 2021; REHMAN et al., 2023). Enquanto na produção de detergentes, as amilases fornecem uma maior capacidade de limpeza e remoção de manchas através da degradação de certos resíduos que contêm amido (SINGH et al., 2018; SHARMA et al., 2022; NIYONZIMA et al., 2023).

### 2.5.2 Celulases

As celulases são enzimas capazes de hidrolisar as ligações glicosídicas  $\beta$ -1,4 da celulose, principal componente do tecido vegetal, resultando na liberação de oligossacarídeos, celobiose e glicose (PANDEY; KUILA; TULI, 2021). De acordo com seu local de ação no substrato celulósico, as celulases podem ser classificadas em três grupos: endoglucanases, exoglucanases e  $\beta$ -glucosidades, que atuam de forma sinérgica na degradação da cadeia polimérica da celulose (RANJAN et al., 2023).

As endoglucanases são responsáveis por iniciar o processo de hidrólise no complexo celulolítico, clivando aleatoriamente ligações  $\beta$ -1,4-glicosídicas intramoleculares acessíveis das cadeias de celulose, produzindo novas extremidades de cadeia, sendo estes redutores ou não-redutores, liberando diversos oligossacarídeos com diferentes graus de polimerização (CREMONESI; CASOLI, 2021; BERISIO et al., 2022; LIMA et al., 2022).

As exoglucanases (divididas em 1, 4- $\beta$ -D-glucano e celobiohidrolases tipo I e II) clivam progressivamente as cadeias de celulose nas extremidades para liberar celobiose ou glicose solúvel. A celobiohidrolase tipo I hidrolisa os terminais redutores e a tipo II hidrolisa os terminais não redutores da celulose (ISLAM; ROY, 2021; SINGHAL; BHAGYWANT; SRIVASTAVA, 2021).

As  $\beta$ -glicosidases hidrolisam a celobiose em açúcares mais simples e libera monômeros de glicose. A partir dos resíduos glicosil terminais não redutores nos celo-oligossacarídeos, elas clivam a celobiose e outros celo-oligômeros em açúcares únicos chamados monômeros de glicose (RAJ et al., 2022; SAROJ; NARASIMHULU, 2022).

As celulases possuem uma ampla gama de aplicações industriais, sendo principalmente empregadas na indústria têxtil e na produção de detergentes. Na indústria alimentícia são utilizadas na extração de sucos de frutas, vegetais e produção de polpa. Também é aplicada na filtração e como aditivos na preparação do malte de cerveja, para melhoria do aroma de vinhos. Na indústria de ração animal melhoram a digestibilidade de produtos derivados de vegetais. Bem como na produção de biocombustíveis, na fermentação de álcool de grãos, dentre outros (SRIVASTAVA et al., 2018; VERMA; KUMAR; BANSAL, 2018; SULYMAN; IGUNNU; MALOMO, 2020; SILVA; OLIVEIRA; PORTO, 2021).

### 2.5.3 Proteases

As proteases representam um grande e diverso grupo de enzimas que decompõem e hidrolisam proteínas ou peptídeos, atuando nas ligações peptídicas que unem os resíduos de aminoácidos adjacentes em uma molécula de proteína e os clivam, levando à formação de peptídeos e aminoácidos mais curtos, sendo classificadas de acordo com seu local de ação, estrutura do local ativo da enzima e mecanismos de reação específicos no sítio catalítico (SINGH et al., 2016b; RAZZAQ et al., 2019; SOLANKI et al., 2021). As proteases têm um envolvimento bioquímico e/ou fisiológico em muitos aspectos da função celular e do organismo, incluindo nutrição, renovação de proteínas, crescimento, adaptação, regulação, esporulação e germinação, entre outros. Além disso, essas enzimas participam da regulação de diversos processos que ocorrem no corpo humano, incluindo as funções celulares essenciais de diferenciação, motilidade, divisão e morte celular (PATEL et al., 2018; BOND, 2019; CASTRO et al., 2022).

De acordo com o local de ação nas cadeias polipeptídicas, as proteases são classificadas em dois grupos: exopeptidases e endopeptidases. As exopeptidases agem apenas

perto das extremidades das cadeias polipeptídicas, e são posteriormente subclassificadas como aminopeptidases e carboxipeptidases com base nos pontos terminais de nitrogênio e carbono, respectivamente (SINGH et al., 2016b; NAVEED et al., 2021; SONG et al., 2023).

As aminopeptidases atuam em um terminal N livre da proteína e, como resultado, liberam um resíduo de monoaminoácido, um dipeptídeo ou um tripeptídeo. As aminopeptidases são secretadas como aminopeptidases intracelulares e extracelulares. Enquanto as carboxipeptidases atuam em um terminal C livre, liberando apenas um resíduo de aminoácido ou um dipeptídeo (MÓTYÁN; TÓTH; TÓZSÉR, 2013; NAVEED et al., 2021; SHANKAR; UPADHYAY; KUMAR, 2021). Dependendo do caráter do aminoácido residual no sítio ativo, as carboxipeptidases são agrupadas em três classificações, como: serina carboxipeptidases, metalo carboxipeptidases e cisteína carboxipeptidases (RAWLINGS, 2020).

As endopeptidases atacam as ligações peptídicas em localizações mais centrais da cadeia polipeptídica, ou seja, mais remotas dos terminais N e C (WARD, 2011; SHANKAR; UPADHYAY; KUMAR, 2021). A classificação das endopeptidases ocorre de acordo com o tipo químico do grupo que é o principal responsável pela atividade catalítica da enzima. As endopeptidases são divididas em quatro subgrupos: proteases de cisteína, proteases de serina, proteases de ácido aspártico e metaloproteases (LI et al., 2013; GURUMALLESH et al., 2019; ASHRAF et al., 2023; SONG et al., 2023).

As proteases podem ser obtidas de plantas, animais e microrganismos, embora o uso de enzimas microbianas tenha se destacado na indústria de enzimas devido a capacidade de produção em larga escala com altas taxas de rendimento (SINGH et al., 2016a; RAZZAQ et al., 2019; MATTER; AL-OMARI; MOHAMMED, 2023). As proteases fazem parte de um dos três maiores grupos de enzimas industriais, e seu mercado global vem se tornando cada vez maior, desempenhando um papel decisivo em diferentes setores, sendo utilizadas para a produção de detergentes, no processamento de alimentos, na indústria de couro, têxtil e na indústria farmacêutica (RAZZAQ et al., 2019; SOLANKI et al., 2021; ADETUNJI et al., 2023; ASHRAF et al., 2023; FERNANDES et al., 2023; SONG et al., 2023).

## **2.6 Potencial antagonista de microrganismos**

Desde o início do século XX, a capacidade das bactérias de matar ou inibir o crescimento de outras bactérias tem sido reconhecida, especialmente após a descoberta dos primeiros antibióticos produzidos por *Streptomyces* spp. (DUBOS, 1939; WAKSMAN, 1941). No entanto, à medida que a bacteriologia se desenvolveu como uma disciplina focada no estudo

de organismos em culturas puras, o exame das interações bacterianas caiu em desuso. O estudo do antagonismo bacteriano passou a se concentrar predominantemente na busca por moléculas inibitórias com relevância clínica. Com o advento do século XXI, foi descoberto que as bactérias também podem antagonizar vizinhos próximos por meio de toxinas antibacterianas liberadas através de sistemas de secreção especializados (AOKI et al., 2005; HOOD et al., 2010). Isso revelou que tais mecanismos são amplamente disseminados, levando a um renascimento no estudo das interações antagonistas entre bactérias (AOKI et al., 2010; PETERSON; BERTOLLI; MOUGOUS, 2020).

O antagonismo se caracteriza pela ação de um organismo que suprime ou interfere no crescimento, desenvolvimento e atividades de outro organismo. Em relação ao antagonismo microbiano, essa ação ocorre na forma de “microrganismo contra microrganismo”, em que um desses há produção de substâncias que afeta o outro (FADER; ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK, 2021).

Os mecanismos de ação dos microrganismos antagônicos incluem: antibiose (em que um metabólito inibitório ou antibiótico é produzido pelo antagonista), micoparasitismo (o antagonista deriva alguns ou todos os seus nutrientes do hospedeiro fúngico), produção de enzimas líticas da parede celular, competição por nutrientes e espaço, formação de biofilmes, detoxificação de fatores de virulência, liberação de antifúngico volátil e difusível, sendo estes os principais mecanismos exibidos (DI FRANCESCO; MARTINI; MARI, 2016; DUKARE et al., 2019; ALIZADEH; VASEBI; SAFAIE, 2020; VERO et al., 2023).

Dentre as substâncias geradas por bactérias, encontram-se proteínas capazes de matar outras bactérias. Em conjunto, essas proteínas são chamadas de bacteriocinas e podem apresentar diferentes atividades bactericidas e/ou bacteriostáticas (SILVA et al., 2015; DAI et al., 2021; XU et al., 2022). Os mecanismos de ação desses peptídeos antimicrobianos (AMP) envolvem: a permeabilização da membrana celular por meio da formação de poros o que acarreta na inibição do transporte de aminoácidos; a inibição da síntese de parede celular (PC); inibição da atividade de DNA, RNA e proteínas da célula-alvo; e podem atuar tanto contra bactérias Gram-positivo quanto bactérias Gram-negativo (SHARMA et al., 2021; PIRCALABIORU et al., 2021).

As bacteriocinas podem ser produzidos tanto por bactérias Gram-positivo quanto por bactérias Gram-negativo, diferem entre si em termos de tamanho, alvos microbianos, mecanismos de imunidade, composição de aminoácidos, biossíntese e modo de ação (COTTER; ROSS; HILL, 2013; DARBANDI et al., 2022). Uma das primeiras bacteriocinas caracterizadas é a colicina, que são compostos proteínáceos produzidos por *Escherichia coli* e

outros membros da família Enterobacteriaceae, sendo ativas, principalmente, contra bactérias mais relacionadas. Dentre as bacteriocinas conhecidas atualmente, estão as nisinas, pediocinas, lacticinas, lactococinas, leuconocinas, plantaricinas, enterocinas, carnobacteriocinas, entre outras (OGAKI; FURLANETO; MAIA, 2015; FATHIZADEH et al., 2022; FERNANDES; JOBBY, 2022).

Embora as bacteriocinas possuam um espectro de atividade menor que os antibióticos, comparativamente, podem ser mais potentes que esses, e diferem dos mesmos em dois aspectos: primeiro, as bacteriocinas são peptídeos produzidos nos ribossomos das células, enquanto os antibióticos são sintetizados por enzimas. Em segundo lugar, as bacteriocinas possuem um espectro mais estreito de bactérias alvo, enquanto os antibióticos podem agir sobre uma ampla gama de bactérias, além disso, a concentração inibitória das bacteriocinas é menor, se comparada com a dos antibióticos (COTTER; ROSS; HILL, 2013; TIWARI et al., 2020; SOLTANI et al., 2021; DARBANDI et al., 2022).

Diante do atual cenário de resistência aos antimicrobianos (RAM) que diversas bactérias têm demonstrado nas últimas décadas, as bacteriocinas podem ser utilizadas como métodos alternativos para o combate a esses microrganismos ou mesmo associada a antimicrobianos como uma forma de terapia conjunta. As características das bacteriocinas que destacam sua viabilidade como alternativa aos antibióticos convencionais incluem: (1) cinética de ataque único, ou seja, uma única molécula de bacteriocina pode invadir a célula-alvo sendo capaz de matá-la; (2) atividade biológica contra diversos patógenos humanos e animais conhecidos e eficiência em tratar um amplo espectro de infecções; (3) mecanismos de inibição/morte rápida contra células metabolicamente latentes e ativas; (4) valores de CIM (Concentração Inibitória Mínima) comparáveis aos dos antibióticos convencionais; (5) atividade antimicrobiana estável sob uma ampla gama de fatores ecológicos; e (6) a seleção para mutações associadas à resistência às bacteriocinas não está ocorrendo em várias espécies ao mesmo tempo, como no caso dos antibióticos (RILEY et al., 2013; PIRCALABIORU et al., 2021; NEVES, 2022). A estrutura diversa das bacteriocinas e o alto nível de modificações pós-traducionais (ciclização, pontes dissulfeto e aminoácidos não convencionais) as tornam tipicamente menos instáveis que os antibióticos, portanto, podem suportar altas temperaturas e pH extremo, o que as coloca como importantes alternativas a serem estudadas (PIRCALABIORU et al., 2021).

As bacteriocinas atualmente são utilizadas na preservação de alimentos, na indústria farmacêutica, no tratamento de câncer, na medicina, no tratamento de infecções, na produção de probióticos (MATHUR et al., 2017; CHANDRAKASAN et al., 2019; ZHANG et al., 2020;

HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ et al., 2021; MOLUJIN et al., 2022; UMAIR et al., 2022). Apesar de grandes avanços nos estudos acerca dessas substâncias, há ainda muitas pesquisas a serem feitas, de modo que a busca por cepas produtoras de novas bacteriocinas com propriedades e características únicas pode ampliar sua área de aplicação industrial e abrir novas perspectivas de uso (ZIMINA et al., 2020).

Embora o estudo do antagonismo bacteriano seja uma área ativa de pesquisa, ainda estamos nos primeiros passos para entender como essas interações afetam os ambientes naturais e influenciam a estrutura, a dinâmica e a composição das comunidades microbianas complexas (GARCÍA-BAYONA; COMSTOCK, 2018). O antagonismo pode tanto impedir a invasão de organismos em ecossistemas quanto facilitar essa invasão. Células mortas liberam DNA que pode ser absorvido por outros organismos, resultando na evolução do genoma. Além disso, o material liberado dessas células pode alterar as respostas do hospedeiro, potencializando a transmissão de patógenos. O antagonismo também desempenha um papel na manutenção da diversidade microbiana, promovendo a segregação espacial de diferentes genótipos e favorecendo a cooperação entre células relacionadas (LYONS et al., 2016; WHOLEY et al., 2016; GARCIA, 2018; ZHAO et al., 2018).

### **3 OBJETIVO GERAL**

Caracterizar o perfil de resistência a antimicrobianos e avaliar o potencial enzimático e antagonista de *Corynebacterium* spp. e *Bacillus* spp. isoladas de Terra Preta Antropogênica da Amazônia, Pará, Brasil.

#### **3.1 Objetivos específicos**

Isolar e identificar bactérias na microbiota da TPA;

Avaliar o perfil fenotípico de resistência a antimicrobianos comerciais em bactérias do microbiota da TPA;

Detectar a atividade enzimática hidrolítica extracelular nos isolados bacterianos;

Avaliar o potencial antagônico dos isolados bacterianos frente a cepas padrão Gram-positivo e Gram-negativo ATCC.

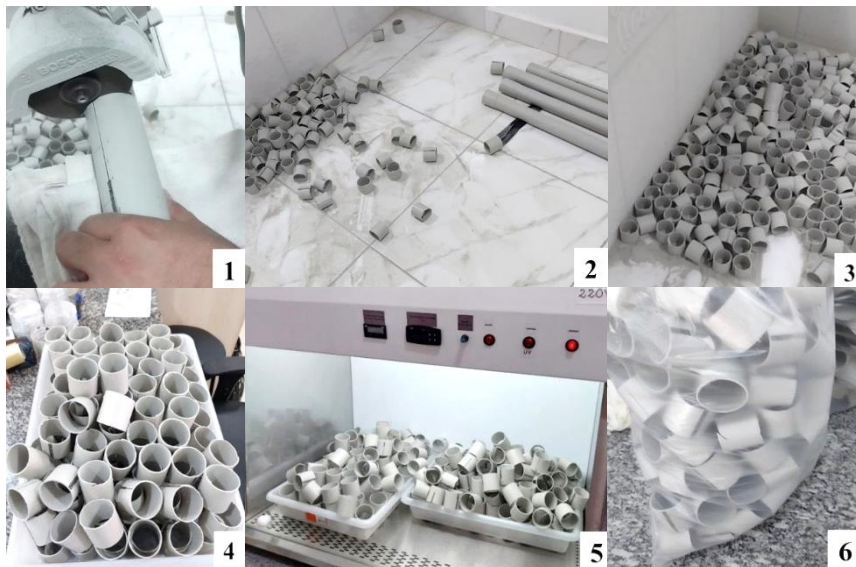
## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Amostragem e Obtenção dos isolados bacterianos

A coleta de Terra Preta Antropogênica (TPA) foi realizada no mês de março de 2023 pela equipe do Laboratório de Bacteriologia da Universidade Federal do Oeste do Pará, na Comunidade Salgado, no município de Oriximiná/PA. A viagem de barco de Santarém (cidade onde ocorreram as análises) até Oriximiná dura aproximadamente 11 horas e o trajeto até a comunidade onde foram coletadas as amostras de solo durou em média 3 horas de carro.

As amostras de solo foram coletadas utilizando tubos de PVC (5 cm de comprimento por 50 mm de diâmetro) previamente cortados, esterilizados e embalados (Figuras 1 a 6).

**Figuras 1 a 6** – Corte, separação, esterilização e embalagem dos tubos de PVC.



Fonte: Mateus Terceti (2023).

Em uma trincheira de 1 m x 1m e, aproximadamente com 60 cm de profundidade, as amostras foram coletadas em quatro profundidades: 7,5 a 12 cm; 20 a 25 cm; 32,5 a 37,5 cm e 45 a 50 cm, com seis repetições em cada profundidade (Figura 7). Para a análise em laboratório foi utilizada uma repetição de cada profundidade, totalizando quatro amostras processadas.

**Figura 7** – Solo de TPA coletado em diferentes profundidades, no município de Oriximiná, PA.



Fonte: Mateus Terceti (2023).

Após a coleta, as amostras de solo foram acondicionadas em sacos do tipo *zip-lock*, armazenadas em caixas isotérmicas sob baixa temperatura e encaminhadas ao Laboratório de Bacteriologia da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA).

Para o processamento, foram pesadas 3g de solo de cada amostra, diluídas separadamente em 27 mL de Tryptic Soy Broth (TSB) e agitadas com auxílio de vórtex, sendo estas correspondentes a diluição  $10^{-1}$ . Em seguida foi realizada a diluição seriada até  $10^{-6}$  em que também foram agitadas em vórtex, e todas as diluições foram inoculadas com volume de 100  $\mu$ L de amostra em cada placa, contendo o meio Plate Count Agar (PCA-Kasvi®) em duplicata, através da técnica de *spread plate* com auxílio de alças *Drigalski*. Após a inoculação, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C por 24-48h, posteriormente, foram escolhidas e retiradas colônias com auxílio de agulha bacteriológica e isoladas em meio Tryptic Soy Agar (TSA-Kasvi®), seguido de incubação em estufa bacteriológica a 37 °C por 24h.

Para a realização deste estudo foram selecionadas as cepas pertencentes aos gêneros *Corynebacterium* spp. e *Bacillus* spp., por conta de sua reconhecida capacidade biotecnológica, especialmente de *Bacillus*, e dessa forma, procurou-se investigar particularmente a respeito de cepas desses gêneros provenientes de solo de TPA.

Para a identificação bioquímica dos isolados de ambos os gêneros, utilizou-se a chave de Bergey et al. (2000), sendo realizado o teste morfotintorial pela coloração de Gram e microscopia, seguindo-se para os testes de coloração de Ziehl-Neelsen e teste de catalase.

## 4.2 Perfil fenotípico de resistência a antimicrobianos

Para o teste de resistência a antibióticos foi utilizado o método de Kirby-Bauer (BAUER et al., 1966) pela técnica de difusão em disco. O processo inicia com a retirada de uma porção de massa bacteriana cultivada em TSA (Kasvi®) por 24h à 37 °C, com auxílio de uma alça bacteriológica e suspensa em solução salina 0,85% estéril até obter-se turbidez correspondente ao padrão da escala de McFarland a 0,5, verificado em espectrofotometria, o que equivale a  $1,5 \times 10^8$  UCF/mL.

Utilizando *swabs* estéreis embebidos na suspensão bacteriana, foi feito um tapete em toda a extensão da placa contendo Ágar Müller-Hinton (Kasvi®). Para a difusão em disco foram utilizados os seguintes antimicrobianos: Amoxicilina+Ácido Clavulânico – AMC (20/10 µg), Amicacina – AMI (30 µg), Ampicilina – AMP (10 µg), Ciprofloxacina – CIP (5 µg), Cloranfenicol – CLO (30 µg), Eritromicina – ERI (15 µg), Gentamicina – GEN (10 µg), Imipenem – IPM (10 µg), Nitrofurantoína – NIT (300 µg), Oxacilina – OXA (1 µg), Penicilina – PEN (G 10 U), Tetraciclina – TET (30 µg) e Vancomicina – VAN (30 µg).

As placas de Petri com o inóculo foram colocadas em estufa bacteriológica à 37 °C por 24h, e após o cultivo, os halos formados foram medidos em mm, com auxílio de paquímetro digital.

Os diâmetros dos halos foram comparados com medidas padrão, bem como as classificações de sensível (S), sensível aumentando exposição (I) e resistente (R), estabelecidas pelas normas vigentes do Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST, 2023).

Para o gênero *Corynebacterium* os pontos de corte do diâmetro dos halos não estão disponíveis nas diretrizes do BrCAST para os antibióticos AMC, AMP, CLO, ERI e OXA e desta forma foram utilizados os critérios interpretativos do BrCAST para *Streptococcus pneumoniae*. Da mesma maneira, os pontos de corte para diâmetro dos halos recomendados pelo BrCAST para *Streptococcus* dos grupos A, B, C e G foram utilizados para IPM e NIT, e para os antibióticos AMI e GEN foi utilizado o ponto de corte para a espécie *Staphylococcus aureus* especificado no documento do BrCAST (2023).

Nas diretrizes do BrCAST acerca do gênero *Bacillus*, não estão disponíveis os pontos de corte para diâmetros dos halos dos antibióticos AMI, GEN, PEN e TET, sendo utilizado os parâmetros para *Staphylococcus aureus* do BrCAST, e para os antibióticos CLO e NIT foram utilizados os critérios interpretativos de *S. aureus* disponíveis no documento da CLSI (2024b).

### 4.3 Potencial enzimático (celulase, amilase e protease) dos isolados

A produção enzimática das cepas bacterianas foi realizada de forma semi-quantitativa, através da determinação do Índice Enzimático (IE), representado pela fórmula abaixo.

$$\text{IE} = \frac{\text{diâmetro do halo de hidrólise (mm)}}{\text{diâmetro da colônia (mm)}}$$

Esta técnica permite avaliar a potencialidade dos microrganismos quanto à atividade de enzimas. A formação de um halo translúcido ao redor de cada colônia no meio de cultivo representa a presença da enzima. O teste enzimático foi realizado em triplicata, gerando três valores para os halos de hidrólise e respectivas colônias de cada isolado. O tratamento estatístico foi dado através da média desses valores para cada isolado avaliado.

As cepas isoladas foram inoculadas em placas de Petri contendo os meios específicos para a detecção de produção de cada enzima: Ágar Celulose (adaptado de PALHETA et al., 2011); Ágar Amido (PALHETA et al., 2011) e Ágar Protease (adaptado de ARAÚJO et al., 2014).

#### Ágar Celulose

Plate Count Agar .....	18 g
Carboximetilcelulose .....	10 g
Água destilada .....	1000 mL

#### Ágar Amido

Ágar Nutriente .....	1 g
Amido solúvel .....	5 g
Água destilada .....	100 mL

#### Ágar Protease

Triptona .....	5 g
Extrato de levedura .....	2,5 g
Glicose .....	1,0 g
NaCl .....	2,5 g

Plate Count Agar .....	15 g
Água destilada .....	900 mL
Leite desnatado .....	100 mL

Após a incubação em estufa bacteriológica, para os meios Ágar Celulose e Ágar Amido foram utilizadas substâncias reveladoras de atividade enzimática, a saber:

**Celulase** – Foi adicionado à solução aquosa de vermelho do Congo 0,1% em cada placa, até cobrir toda a superfície do meio e aguardado 20 minutos. Após o tempo decorrido, a solução foi descartada e adicionou-se sobre as placas solução de NaCl 1M e aguardado mais 20 minutos, posteriormente a solução foi descartada. Com esse procedimento o meio adquire coloração avermelhada, e a ação enzimática é observada pela presença de halos translúcidos ao redor da colônia.

**Amilase** – Foi adicionado em uma placa de Petri uma pequena quantidade de iodo e a placa contendo o extrato enzimático foi vertida sobre o iodo ressublimado e aguardado a liberação do vapor do iodo sobre a placa inoculada. É observada coloração lilás no meio cultivado, exceto no halo de degradação de amido, em que há a formação de halos translúcidos ao redor de cada colônia.

O meio Ágar Protease não necessita de substâncias reveladoras, sendo que o próprio substrato funciona como indicador, em que há a formação de um halo translúcido ao redor de cada colônia.

#### **4.4 Atividade antagônica dos isolados bacterianos**

Os isolados bacterianos foram cultivados em meio Tryptic Soy Broth (TSB-Kasvi®) por 24h em *shaker* sob rotação a 150 rpm. Os microrganismos-teste escolhidos para avaliar a atividade antagônica dos isolados bacterianos deste estudo foram *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Escherichia coli* (ATCC 25922), estes foram semeados em meio TSA por 24h em estufa bacteriológica à 37 °C. Deste cultivo, retirou-se uma porção de massa bacteriana para ajuste e padronização da densidade do inóculo através do controle de turbidez, verificada em espectrofotômetro em comprimento de onda de 600 nm em que a absorbância do inóculo variou entre 0,08 a 0,10 o que corresponde ao número de turvação 0,5 ( $1,5 \times 10^8$  UFC/mL) da escala de McFarland (NCCLS, 2003).

A semeadura dos inóculos preparados foi realizada introduzindo um *swab* estéril na suspensão bacteriana ajustada e semeando-a em placas contendo Ágar Müeller-Hinton, em três direções diferentes, sendo o teste feito em triplicata. Após esse procedimento perfurou-se o ágar com ponteiros estéreis e foi adicionado 50 µL do extrato bacteriano e incubou-se as placas a 37 °C por 24h. As cepas que demonstraram halos de inibição ao redor do crescimento foram classificadas como positivo.

#### **4.5 Análise Estatística**

Para avaliar a diferença entre os perfis resistente e sensível dentro de cada gênero e a diferença do perfil resistente e sensível entre os gêneros de *Corynebacterium* e *Bacillus* foi utilizado o teste de Mann-Whitney. O teste Qui quadrado foi realizado para verificar a dependência de produção entre as enzimas testadas e a capacidade ou não dos gêneros produzirem tais enzimas e utilizado também para verificar se houve diferença entre os isolados de acordo com a profundidade do solo nos testes realizados.

#### **4.6 Procedimento de identificação molecular**

Os isolados mais promissores nos testes enzimáticos e de antagonismo foram selecionados, sendo realizada a extração do DNA total e enviados para sequenciamento.

##### **4.6.1 Extração de DNA total**

A extração de DNA foi realizada no Laboratório de Bacteriologia da Ufopa, seguindo os seguintes passos: Foi adicionado ao precipitado 200 µL de tampão de lise (NaCl 1 M; Tris-HCl pH 8,0 1M; EDTA 0,5M pH 8,0; SDS 10%), após, os tubos foram centrifugados a 15.000 rpm por 20 min, quando o sobrenadante foi transferido para outro tubo. Foi adicionado então 500 µL de álcool absoluto gelado e o tubo colocado por 30 min em congelador. Posteriormente, foi novamente centrifugado a 15.000 rpm por 20 min e descartado o sobrenadante. Ao precipitado de DNA foi adicionado etanol 70% e centrifugado novamente, sendo descartado o sobrenadante e após a evaporação do etanol, o precipitado foi eluído em 100 µL de TE (Tris-HCl 10 mM, pH 7,5 e EDTA 1 mM, pH 8,0) (SAMBROOK; FRITSCH; MANIATIS, 1989).

Os produtos da extração de DNA foram visualizados por meio de eletroforese em gel de agarose (1%) acrescido de corante Gel *Loading Dye Purple* (New England BioLabs®) para auxiliar na visualização das bandas no gel com aplicação de luz fluorescente em um transiluminador Dual LED Blue / White Light (Kasvi®). A corrida eletroforética foi conduzida em tampão de Tris-EDTA (45 mM; pH 7.8; 1 mM EDTA) a 100 V por 60 minutos.

#### 4.6.2 Sequenciamento do gene 16S rRNA

O DNA extraído foi enviado para sequenciamento para empresa Omikka Ltda, e realizado através do sequenciamento Sanger, no equipamento 3500xl (*Applied biosystems*) e utilizando o kit big de terminator v3 de acordo com as instruções do fabricante. Os *primers* utilizados para o sequenciamento do gene 16S rRNA foram (*Forward* 1 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'; *Reverse* 2 5'- AAGGAGGTGATCCAGCC-3'). As sequências foram editadas manualmente, usando o programa BioEdit v7.2.5 (HALL, 1999) e alinhadas/analizadas através *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) do banco de dados do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI).

#### 4.6.3 Análise de Eletroferograma

A interpretação de um eletroferograma de sequenciamento de DNA envolve a leitura dos picos para determinar a sequência de nucleotídeos do fragmento de DNA e avaliar a qualidade do sequenciamento. O eletroferograma foi analisado no programa BioEdit v7.2.5, com cada primer, sendo os primers *Forward* 1 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' e *Reverse* 2 5'- AAGGAGGTGATCCAGCC-3'. É possível avaliar se houve uma boa qualidade do sequenciamento do DNA se os picos se apresentarem bem definidos, com altura, forma e intensidade uniformes.

### 4.7 Cadastro no SisGen

O projeto de pesquisa foi cadastrado no SisGen – Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado, com o número de cadastro A2CD080.

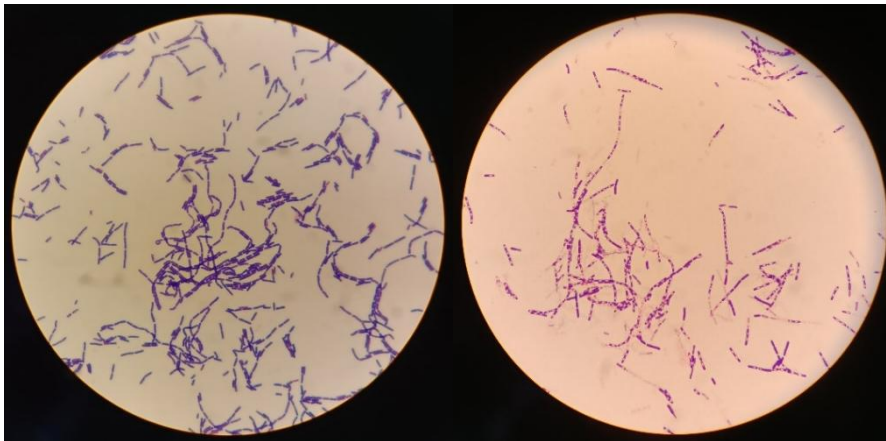
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Identificação bioquímica dos isolados

Foram isoladas 25 bactérias provenientes das amostras de solo, selecionadas por apresentarem grau de pureza e características típicas para os gêneros escolhidos neste estudo.

Todas as cepas isoladas foram submetidas a coloração de Gram, microscopia e testes bioquímicos, como coloração de Ziehl-Neelsen e teste de catalase de acordo com a chave de Bergey et al. (2000). Dentre as cepas selecionadas, o resultado indicou que a morfologia dos microrganismos isolados apresentou bastonetes Gram-positivo com e sem esporos (Figura 8).

**Figura 8** – Micrografia em 1000x mostrando estipes bacterianas com morfologia de Bastonetes Gram-positivo obtidos da Terra Preta Antropogênica (Município de Oriximiná/PA).



Fonte: Autores (2024).

Dentre os 25 isolados, 14 pertencem ao gênero *Corynebacterium* e 11 pertencem ao gênero *Bacillus*. A identificação bioquímica das bactérias isoladas de acordo com a profundidade da amostra de solo é apresentada na tabela abaixo (Tabela 1).

Tabela 1 – Identificação bioquímica de bactérias isoladas de Terra Preta Antropogênica.

Isolados	Gêneros
<b>Profundidade 1 – 7,5 cm</b>	
P1C1	<i>Bacillus</i> sp.1
P1C2	<i>Bacillus</i> sp.2
P1C3	<i>Bacillus</i> sp.3

P1C5	<i>Bacillus</i> sp.4
P1C8	<i>Bacillus</i> sp.5
P1C9	<i>Bacillus</i> sp.6
P1C10	<i>Bacillus</i> sp.7
<b>Profundidade 2 – 20 cm</b>	
P2C2	<i>Corynebacterium</i> sp.1
P2C3	<i>Corynebacterium</i> sp.2
P2C6	<i>Bacillus</i> sp.8
P2C10	<i>Corynebacterium</i> sp.3
<b>Profundidade 3 – 32,5 cm</b>	
P3C1	<i>Bacillus</i> sp.9
P3C2	<i>Corynebacterium</i> sp.4
P3C3	<i>Corynebacterium</i> sp.5
P3C5	<i>Corynebacterium</i> sp.6
P3C6	<i>Corynebacterium</i> sp.7
P3C7	<i>Corynebacterium</i> sp.8
P3C8	<i>Corynebacterium</i> sp.9
P3C10	<i>Corynebacterium</i> sp.10
<b>Profundidade 4 – 45 cm</b>	
P4C1	<i>Bacillus</i> sp.10
P4C4	<i>Corynebacterium</i> sp.11
P4C5	<i>Corynebacterium</i> sp.12
P4C7	<i>Corynebacterium</i> sp.13
P4C9	<i>Bacillus</i> sp.11
P4C10	<i>Corynebacterium</i> sp.14

Fonte: Autores (2024).

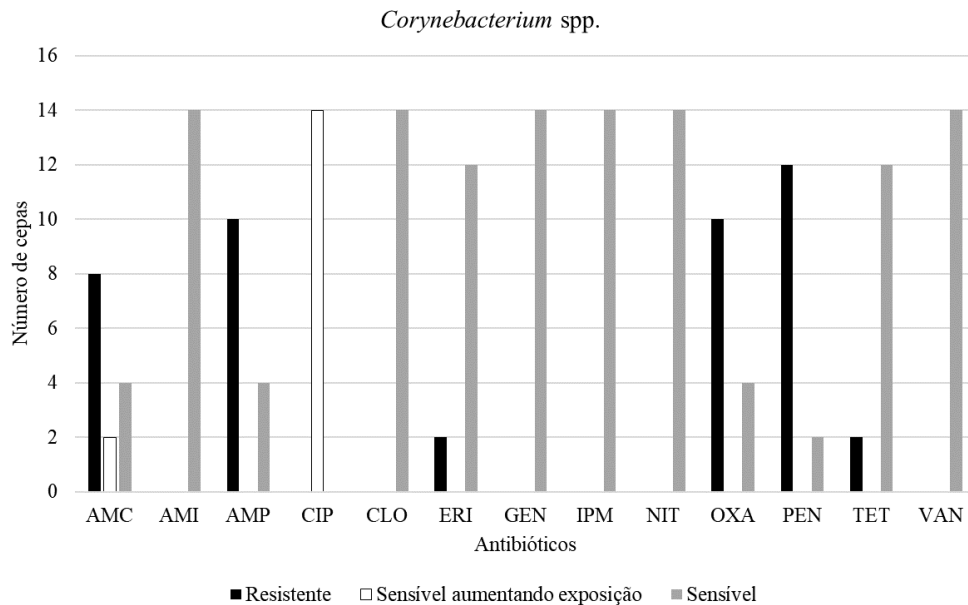
## 5.2 Perfil fenotípico de resistência

Todas as 25 cepas isoladas neste estudo foram testadas quanto ao perfil de resistência a antibióticos.

Dentre as 14 cepas de *Corynebacterium* spp., 85,7% apresentaram resistência ao antibiótico penicilina, 71,4% apresentaram resistência a ampicilina e oxacilina, 57,1%

resistentes a amoxicilina + ácido clavulânico e 14,3% resistentes a eritromicina e tetraciclina. Todas as cepas testadas foram susceptíveis a amicacina, cloranfenicol, gentamicina, imipenem, nitrofurantoína e vancomicina (Figura 9).

**Figura 9** – Perfis fenotípicos de expressão de resistência frente a antibióticos testados em cepas de *Corynebacterium* spp. isoladas de Terra Preta Antropogênica.



Legenda: AMC – Amoxicilina + Ácido Clavulânico; AMI – Amicacina; AMP – Ampicilina; CIP – Ciproflaxacin; CLO – Cloranfenicol; ERI – Eritromicina; GEN – Gentamicina; IPM – Imipenem; NIT – Nitrofurantoína; OXA – Oxacilina; PEN – Penicilina; TET – Tetraciclina; VAN – Vancomicina.

Fonte: Autores (2024).

A comparação estatística entre os perfis resistente e sensível das cepas do gênero *Corynebacterium* demonstrou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) com o perfil sensível apresentando maior valor de mediana (Figura 10).

**Figura 10** – Comparação estatística entre os perfis resistente e sensível das cepas de *Corynebacterium* spp.

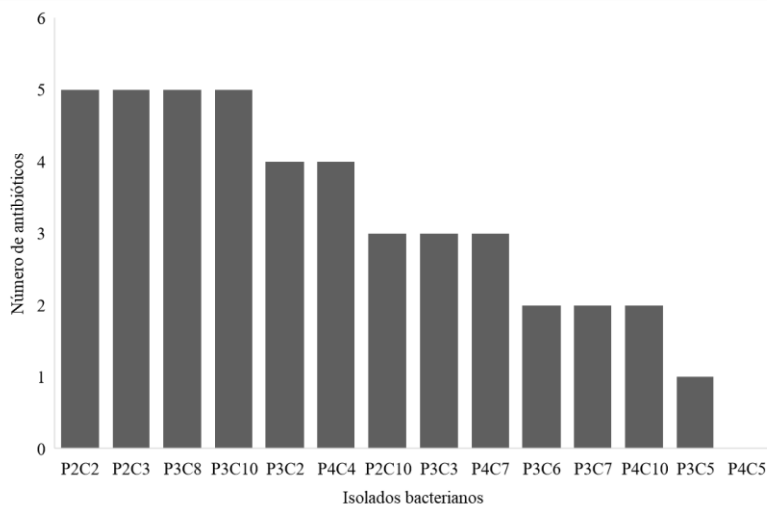


Fonte: Autores (2024).

Quando comparado os perfis de susceptibilidade entre os isolados considerando a profundidade do solo, não houve diferença significativa.

Em termos de multirresistência, dentre as cepas de *Corynebacterium* spp., 28,6% mostraram-se resistentes a cinco antibióticos (AMC, AMP, OXA, PEN e VAN) 14,3% resistentes a quatro antibióticos e 21,4% demonstraram resistência a três antibióticos, e uma cepa foi sensível a todos os antibióticos testados (Figura 11).

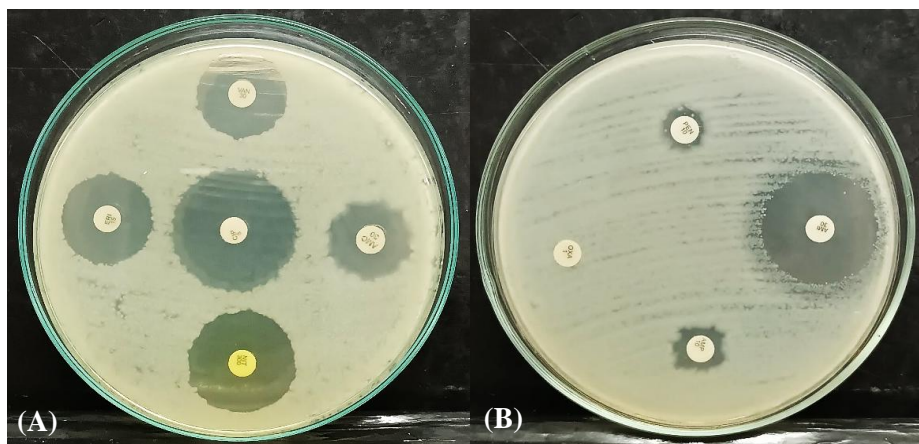
**Figura 11** – Cepas de *Corynebacterium* spp. resistentes, organizadas em forma decrescente de resistência, isoladas de Terra Preta Antropogênica.



Fonte: Autores (2024).

Em Hawari (2008), para *C. pseudotuberculosis* os antibióticos ampicilina, eritromicina, penicilina, tetraciclina e estreptomicina apresentaram-se total ou parcialmente ineficazes. Neste estudo foi detectado entre as cepas uma alta porcentagem de resistência a penicilina, ampicilina e oxacilina (Figura 12 A-B), porém, a resistência a eritromicina e tetraciclina mostrou-se inferior, com apenas duas cepas resistentes a cada, resultado similar ao encontrado por Pereira et al. (2008) ao testar cepas de *C. diphtheriae* clínicas isoladas do Brasil.

**Figura 12 A-B** – Perfil de resistência das cepas de *Corynebacterium* sp. (sp.1 e sp.2), respectivamente, isoladas de Terra Preta Antropogênica com diferentes halos de resistência antimicrobiana.



Fonte: Autores (2024).

O resultado encontrado neste estudo sobre a resistência das cepas não era o esperado, haja visto que as amostras são provenientes de local com pouca influência de atividade humana. Portanto, esperava-se que o índice de sensibilidade fosse maior, levando em consideração também a teoria a respeito da origem do solo de Terra Preta ser proveniente de atividades humanas pré-colombianas, ou seja, muito antigas (DAZZI; PAPA, 2015).

Neste estudo foram encontradas oito cepas resistentes ao antibiótico amoxicilina + ácido clavulânico (AMC), duas classificadas como I – sensível aumentando exposição e quatro cepas como sensíveis. O ácido clavulânico é um agente inibidor das  $\beta$ -lactamases, portanto, age impedindo a destruição dos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, como a amoxicilina, que são substratos dessas enzimas (HUTTNER et al., 2020). No entanto, em contraposição a este estudo, a grande maioria das pesquisas relatam cepas de *Corynebacterium* suscetíveis a esse antibiótico, sendo até mesmo indicado como tratamento de infecções por bactérias patogênicas desse gênero (TURK; TURKMEN; AYTIMUR, 2011; DOBINSON et al., 2015; NOUSSAIR et al., 2019).

Deve-se levar em consideração que as cepas isoladas neste estudo são de amostras ambientais, portanto, a resistência ou sensibilidade a determinados antimicrobianos pode estar ligada a natureza da amostra. A diversidade de resistência a antibióticos em espécies do gênero *Corynebacterium* está estritamente ligada aos locais onde ocorrem as cepas testadas, com cepas provenientes de diferentes ambientes podendo apresentar diferentes perfis de susceptibilidade a antibióticos (OLENDER, 2012).

Um fato preocupante atualmente é a descoberta de novas cepas multirresistentes de *Corynebacterium*, o que sugere um caráter progressivo de multirresistência nesse grupo. Este fato é confirmado pela descrição em 2005 de uma nova espécie de *C. resistens* multirresistente (OTSUKA et al., 2005), assim como as posteriores descobertas de multirresistência em outras espécies desse gênero como *C. jeikeium*, *C. urealyticum*, *C. amycolatum*, *C. pseudodiphtheriticum*, *C. afermentans*, e *C. striatum* (CAMELLO et al., 2003; RENOM et al., 2007; SCHOEN et al., 2009; BAIO et al., 2013; SHARIFF; ADITI; BERI, 2018).

Algumas espécies de *Corynebacterium*, como *C. striatum*, *C. pseudotuberlucosis*, demonstraram resistência a penicilina, que embora há muito tempo sejam documentadas como suscetíveis a este antibiótico, e ainda hoje seja utilizado em testes de triagem e tratamento para cepas clínicas desse gênero, os resultados atuais e outros relatados na literatura, sugerem o aparecimento de cepas resistentes, apesar de ainda não estar esclarecido o mecanismo de resistência de cepas deste gênero a este antibiótico (DUNO et al., 2016; BATISTA, 2023).

Estudos apontam que diferentes espécies de *Corynebacterium* podem apresentar resistência a antibióticos fabricados a partir de diferentes compostos químicos (OLIVEIRA et al., 2017). Além disso, os resultados desses estudos poderiam explicar e demonstrar que elementos genéticos extracromossômicos estão associados na transmissão de genes de resistência tanto patogênicos quanto potencialmente patogênicos – oportunistas e tipicamente não patogênicos, por exemplo, presentes no solo ou em cepas de *Corynebacterium* spp. (ADDERSON; BOUDREAUX; HAYDEN, 2008; FERNANDEZ-ROBLAS et al., 2009).

Foram relatados diferentes ARG associados a elementos genéticos móveis, incluindo plasmídeos, integrons (In), sequências de inserção (IS) e transposons (Tn) em *Corynebacterium* (NEŠVERA; HOCHMANNOVÁ; PÁTEK, 1998; TAUCH et al., 2003; TSUCHIDA et al., 2010; OLENDER, 2012; HENNART et al., 2020). Em espécies de *Corynebacterium* spp. normalmente os genes de resistência a antibióticos estão localizados em plasmídeos grandes, como por exemplo o plasmídeo pTP10 descrito em *C. striatum* M82B (inicialmente identificada incorretamente como *C. xerosis*) que carrega resistência a

tetraciclina, cloranfenicol, eritromicina e estreptomicina (KONO; SASATSU; AOKI, 1983; DEB; NATH, 1999; TAUCH et al., 2000).

Há diferentes mecanismos de resistência encontrados em cepas de *Corynebacterium*, o que resulta da expressão dos genes responsáveis, por exemplo, a resistência a tetraciclina é ligada aos genes *tetA*, *tetB* e *tetM* (ROBERTS et al., 1992; TAUCH et al., 1999); a resistência a fluoroquinolonas é correlacionada ao gene *gyrA*, com simples ou múltiplas mutações (SIERRA et al., 2005; RAMOS et al., 2020); e a resistência a macrolídeos, lincosamidas e estreptogramina B (MLSB) através do gene *ermX* (OLENDER, 2014; SZEMRAJ et al., 2014).

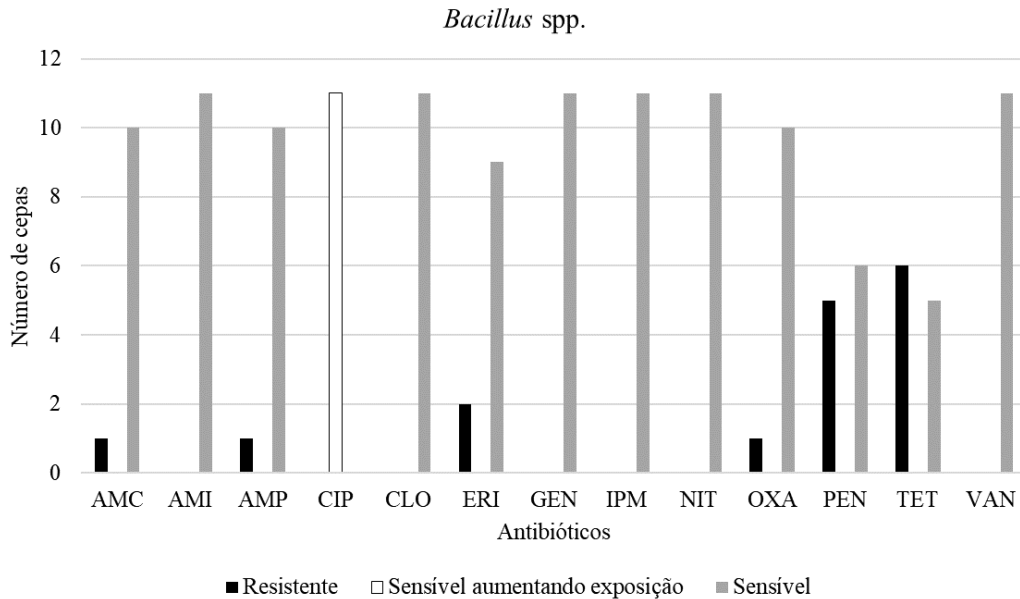
A grande maioria das cepas de *Corynebacterium* spp. utilizadas em testes de resistência antimicrobianas são provenientes de amostras clínicas, sejam de seres humanos ou de animais, demonstrando uma importância em estudar a susceptibilidade de cepas obtidas de amostras ambientais. No presente estudo, algumas cepas mostraram-se resistentes ao antibiótico AMC, enquanto cepas clínicas em outros estudos mostraram-se sensíveis, como explicado acima, demonstrando que o perfil de resistência de cepas ambientais pode diferir das cepas clínicas.

Os resultados encontrados neste estudo para a susceptibilidade dos isolados de *Corynebacterium* spp. quanto aos antibióticos pertencentes as classes dos glicopeptídeos, macrolídeos, fluoroquinolonas e tetraciclinas corroboram com os perfis apresentados por Gallardo et al. (2019) e similar a Barberis et al. (2018). Em Olender (2014), imipenem e vancomicina foram altamente eficientes contra *Corynebacterium* spp., da mesma maneira como identificado neste estudo. Em Join-Lambert et al. (2006) a espécie *C. pseudotuberculosis* apresentou-se suscetível a ciproflaxacin e gentamicina. Martinez-Martinez et al. (1995) e Navas et al. (2016) reportaram que cepas de *C. striatum* foram sensíveis a amicacina, assim como Alibi et al. (2017) em testes com esta mesma espécie encontrou susceptibilidade para os antibióticos vancomicina, amicacina e gentamicina.

Em casos clínicos como relatados por Henneveld et al. (2012) e Aoki et al. (2021), cepas de *Corynebacterium* spp. mostraram-se suscetíveis a cloranfenicol, corroborando com o presente em que todas as cepas se apresentaram sensíveis. Apesar de que em outros estudos espécies desse gênero serem comumente resistentes a esse antibiótico (OLENDER, 2012; LEYTON et al., 2021). A susceptibilidade de cepas desse gênero ao antibiótico nitrofurantoína já foi documentada, apesar de serem escassos os registros (LUND et al., 2015; GILA et al., 2018).

Dentre as 11 cepas de *Bacillus* spp., 54,5% apresentaram resistência a tetraciclina, 45,4% a penicilina e 18,2% para eritromicina. Para amoxicilina + ácido clavulânico, ampicilina, e oxacilina apenas 9,09% apresentaram resistência a esses antibióticos (Figura 13).

**Figura 13** – Perfis fenotípicos de expressão de resistência frente a antibióticos testados em cepas de *Bacillus* spp. isoladas de Terra Preta Antropogênica.

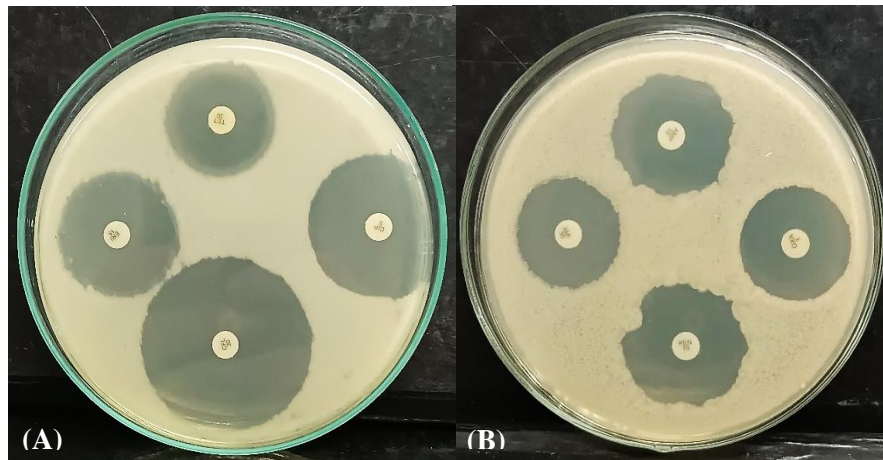


Legenda: AMC – Amoxicilina + Ácido Clavulânico; AMI – Amicacina; AMP – Ampicilina; CIP – Ciproflaxacin; CLO – Cloranfenicol; ERI – Eritromicina; GEN – Gentamicina; IPM – Imipenem; NIT – Nitrofurantoína; OXA – Oxacilina; PEN – Penicilina; TET – Tetraciclina; VAN – Vancomicina.

Fonte: Autores (2024).

Para os antibióticos amicacina, cloranfenicol, gentamicina, imipenem, nitrofurantoína e vancomicina, 100% das cepas de *Bacillus* spp. foram suscetíveis. Enquanto houve pequeno percentual de resistência, de acordo com os diferentes tamanhos de halo e diretrizes de classificação (Figura 14 A-B).

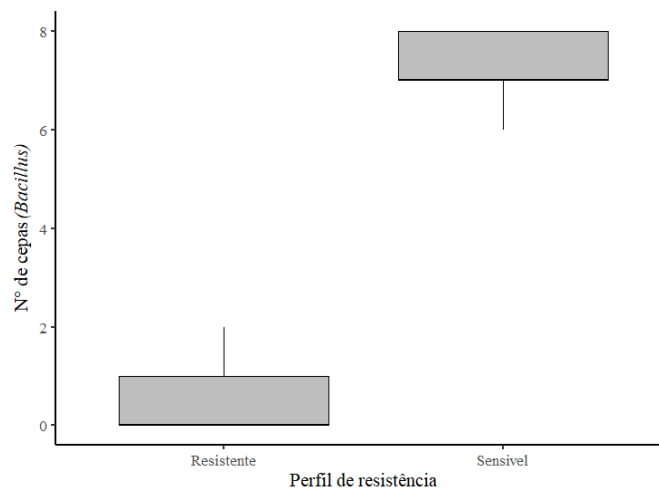
**Figura 14 A-B** – Perfil de resistência das cepas de *Bacillus* sp. (sp.3 e sp.8), respectivamente, isoladas de Terra Preta Antropogênica com diferentes halos de resistência antimicrobiana.



Fonte: Autores (2024).

A comparação estatística entre os perfis resistente e sensível de cepas do gênero *Bacillus* demonstrou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) com o perfil sensível apresentando maior valor de mediana (Figura 15).

**Figura 15** – Comparação estatística entre os perfis resistente e sensível a antimicrobianos das cepas de *Bacillus* spp.



Fonte: Autores (2024).

Quando comparado os perfis de susceptibilidade entre os isolados considerando a profundidade do solo, não houve diferença significativa.

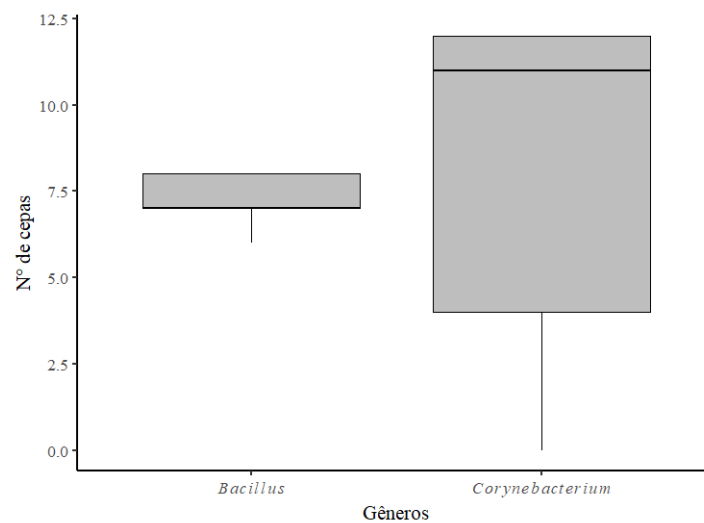
Dentre as 11 cepas testadas, apenas quatro (36,4%) mostraram-se resistentes a mais de um antibiótico, sendo eles: amoxicilina + ácido clavulânico, ampicilina, eritromicina, oxacilina, penicilina e tetraciclina. A maior parte desses antibióticos pertencem ao grupo das penicilinas, que fazem parte dos  $\beta$ -lactâmicos (ARRUDA et al., 2019). A resistência bacteriana aos  $\beta$ -lactâmicos é normalmente atribuída a síntese de  $\beta$ -lactamases, pelos genes *bla1* e *bla2*, os quais já foi reportada na espécie *B. anthracis* (CHEN et al., 2003).

Em Deng et al. (2021) cepas de *Bacillus* spp. mostraram-se resistentes a tetraciclina, assim como encontrados neste estudo. De acordo com pesquisas anteriores, a resistência de *Bacillus* spp. a tetraciclina está ligada principalmente a presença de genes móveis de resistência, como *tet(B)* e *tet(45)*, que podem potencialmente atuar nessas cepas como reservatórios de genes de resistência para outras espécies e gêneros (ZHU et al., 2016; CUI et al., 2020; FU et al., 2020).

Fiedler et al. (2019) ao pesquisar a resistência antimicrobiana de cepas de *B. cereus*, encontraram susceptibilidade aos antibióticos cloranfenicol (98,6%), amicacina (98%), imipenem (93,9%), eritromicina (91,8%), gentamicina (88,4%) e tetraciclina (76,2%), resultados similares aos encontrados nesta pesquisa.

A comparação entre os gêneros *Bacillus* e *Corynebacterium* acerca do perfil sensível aos antibióticos, demonstrou que não houve diferença significativa entre as cepas dos dois gêneros ( $p > 0,05$ ) (Figura 16).

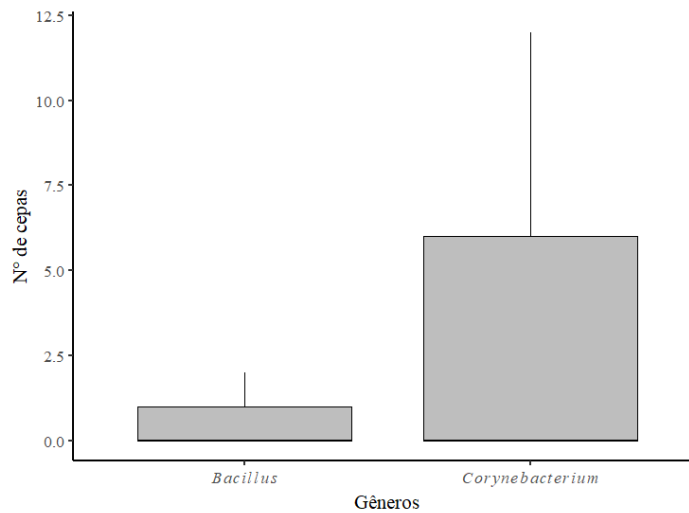
**Figura 16** – Comparação do perfil sensível aos antibióticos entre as cepas dos gêneros *Bacillus* spp. e *Corynebacterium* spp.



Fonte: Autores (2024).

Para o perfil resistente, a comparação entre os gêneros *Bacillus* e *Corynebacterium* demonstrou que não houve diferença significativa entre as cepas dos dois gêneros ( $p>0,05$ ) (Figura 17).

**Figura 17** – Comparação estatística perfil resistente aos antibióticos entre os gêneros *Bacillus* spp. e *Corynebacterium* spp.



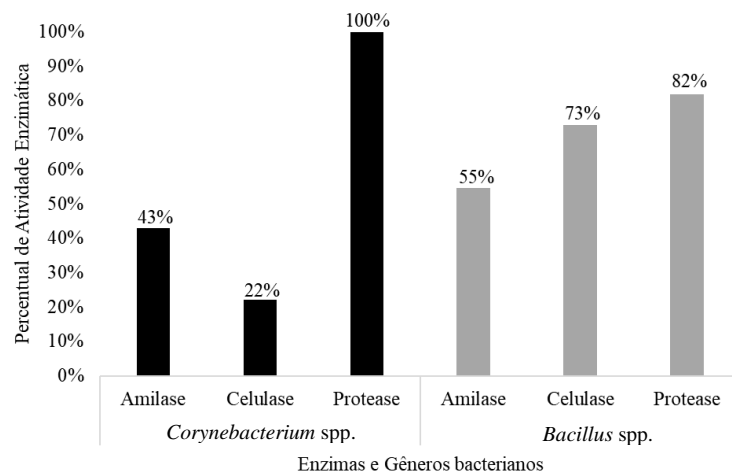
Fonte: Autores (2024).

Em um contexto ecológico, a resistência aos antibióticos encontrada neste estudo evidencia um papel importante nas interações complexas existentes inter e intra-espécies nos ecossistemas do solo (D’COSTA; GRIFFITHS; WRIGHT, 2007). Aliado a isso, está o fato de que mais de 80% dos antibióticos conhecidos foram isolados de microrganismos provenientes do solo. Os antibióticos podem atuar como substâncias moduladoras da expressão gênica e interações nas populações bacterianas (WRIGHT, 2007; YIM; HUIMI WANG; DAVIES, 2007; MARTÍNEZ, 2008; BULGAKOVA et al., 2014). Além disso, de um ponto clínico, a resistência a antibióticos detectada pode ser vista como um reservatório de resistência para patógenos clinicamente relevantes (RIESENFELD; GOODMAN; HANDELSMAN, 2004; HEUER; SCHMITT; SMALLA, 2011). De acordo com alguns estudos é possível que haja conjugação entre espécies do gênero *Corynebacterium* e *Bacillus* e outras bactérias (DAI et al., 2012; LEYTON et al., 2021; HINNEKENS et al., 2022). Dessa forma, é possível observar a importância de investigar a resistência de bactérias provenientes de ambientes naturais para uma melhor compreensão desses mecanismos de formas a proporcionar uma visão ampla da interferência das cepas ambientais e ocorrência de patologias causadas por cepas de mesmo perfil de resistência.

### 5.3 Atividade enzimática

Para a avaliação da atividade enzimática das cepas testadas de *Corynebacterium* spp., 43% dos isolados apresentaram potencial de enzima amilolítica, 22% celulolítica e 100% proteolítica (Figura 18). Dentre as cepas de *Bacillus* spp., 55% mostraram-se capazes de produzir amilase, 73% celulase e 82% protease (Figura 18). Demonstrando um importante potencial biotecnológico dessas cepas, principalmente para os isolados produtores de protease.

**Figura 18** – Percentual de atividade enzimática de cepas de *Corynebacterium* spp. e *Bacillus* spp. isoladas de Terra Preta Antropogênica.



Fonte: Autores (2024).

Na análise estatística do Qui quadrado, para o gênero *Bacillus* o teste não demonstrou dependência entre as variáveis de capacidade ou não de produção das enzimas. Para o gênero *Corynebacterium* a dependência entre as variáveis, foi significativa ( $p < 0,05$ ). No entanto, essa dependência foi positiva somente para a enzima protease. Dessa forma, é possível compreender que o gênero *Corynebacterium* possui maior potencial de produção da enzima protease em comparação com as outras enzimas, e para o gênero *Bacillus* não houve diferença significativa sobre essa capacidade entre as enzimas testadas.

Quando comparado os perfis enzimáticos dos isolados considerando a profundidade do solo, não houve diferença significativa.

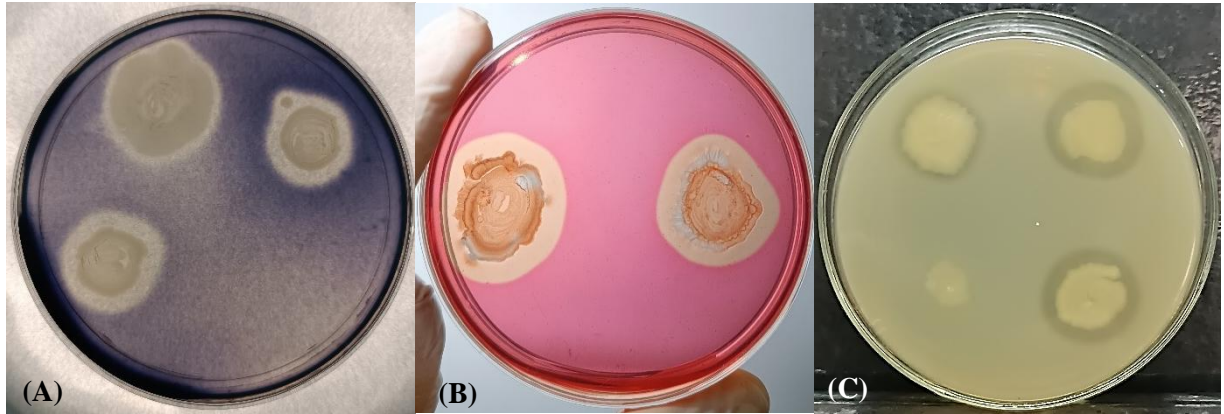
O quadro 2 demonstra o perfil enzimático (em positivo e negativo) de cada cepa de acordo com as enzimas testadas.

**Quadro 2** –Perfil enzimático de cepas isoladas de Terra Preta Antropogênica.

Isolados	Gêneros	Amilase	Celulase	Protease
<b>Profundidade 1 – 7,5 cm</b>				
P1C1	<i>Bacillus</i> sp.1	+	+	+
P1C2	<i>Bacillus</i> sp.2	+	+	+
P1C3	<i>Bacillus</i> sp.3	+	+	+
P1C5	<i>Bacillus</i> sp.4	-	+	-
P1C8	<i>Bacillus</i> sp.5	+	-	+
P1C9	<i>Bacillus</i> sp.6	-	+	+
P1C10	<i>Bacillus</i> sp.7	+	+	+
<b>Profundidade 2 – 20 cm</b>				
P2C2	<i>Corynebacterium</i> sp.1	+	-	+
P2C3	<i>Corynebacterium</i> sp.2	+	+	+
P2C6	<i>Bacillus</i> sp.8	-	+	+
P2C10	<i>Corynebacterium</i> sp.3	-	-	+
<b>Profundidade 3 – 32,5 cm</b>				
P3C1	<i>Bacillus</i> sp.9	-	-	-
P3C2	<i>Corynebacterium</i> sp.4	+	+	+
P3C3	<i>Corynebacterium</i> sp.5	-	-	+
P3C5	<i>Corynebacterium</i> sp.6	-	-	+
P3C6	<i>Corynebacterium</i> sp.7	-	-	+
P3C7	<i>Corynebacterium</i> sp.8	-	-	+
P3C8	<i>Corynebacterium</i> sp.9	+	-	+
P3C10	<i>Corynebacterium</i> sp.10	+	-	+
<b>Profundidade 4 – 45 cm</b>				
P4C1	<i>Bacillus</i> sp.10	+	-	+
P4C4	<i>Corynebacterium</i> sp.11	-	-	+
P4C5	<i>Corynebacterium</i> sp.12	+	-	+
P4C7	<i>Corynebacterium</i> sp.13	-	-	+
P4C9	<i>Bacillus</i> sp.11	-	+	+
P4C10	<i>Corynebacterium</i> sp.14	-	+	+

A figura 19 (A-C) mostra o resultado do teste de produção de enzimas pelas cepas, verificada através da formação de halos ao redor das colônias.

**Figura 19 A-C** – Resultado de atividade enzimática pela presença dos halos. (A) Amilase; (B) Celulase; (C) Protease.



Fonte: Autores (2024).

De acordo com Ten et al. (2004) o diâmetro do halo de hidrólise é útil para a seleção de cepas que podem degradar de forma eficiente polissacarídeos como a amilose e a celulose. Além disso, o índice enzimático (IE), obtido pela correlação do diâmetro da colônia com o diâmetro do halo de hidrólise, é uma ferramenta prática que facilita selecionar e avaliar comparativamente diferentes cepas quanto a capacidade de produção enzimática, haja visto que esse índice considera a correlação direta entre o tamanho do halo e a capacidade de degradação dos microrganismos (FUNGARO; MACCHERONI, 2002; RUEGGER; TAUKTORNISIELO, 2004).

Dentre as 25 cepas testadas sobre o potencial de produção de enzimas, 12 destas apresentaram atividade amilolítica (Tabela 2), 11 cepas apresentaram atividade celulolítica (Tabela 3) e 23 destas apresentaram atividade proteolítica (Tabela 4). O diâmetro das colônias e dos halos de hidrólise foram medidos e obteve-se o Índice Enzimático (IE) para cada tipo de enzima, conforme demonstram as tabelas abaixo.

Tabela 2 – Índice enzimático (IE) de bactérias com atividade amilolítica isoladas de Terra Preta Antropogênica.

Isolados	Gênero	Diâmetro da colônia (mm)	Diâmetro do halo (mm)	IE
<b>Profundidade 1 – 7,5 cm</b>				
PIC1	<i>Bacillus</i> sp.1	9,1	11,75	1,29

P1C2	<i>Bacillus</i> sp.2	11,34	13,21	1,16
P1C3	<i>Bacillus</i> sp.3	10,05	12,01	1,20
P1C8	<i>Bacillus</i> sp.5	7,72	11,87	1,54
P1C10	<i>Bacillus</i> sp.7	9,92	12,58	1,27
<b>Profundidade 2 – 20 cm</b>				
P2C2	<i>Corynebacterium</i> sp.1	14,72	16,7	1,13
P2C3	<i>Corynebacterium</i> sp.2	7,63	10,23	1,34
<b>Profundidade 3 – 32,5 cm</b>				
P3C2	<i>Corynebacterium</i> sp.4	13,18	15,24	1,16
P3C8	<i>Corynebacterium</i> sp.9	13,82	15,62	1,13
P3C10	<i>Corynebacterium</i> sp.10	13,9	16,7	1,20
<b>Profundidade 4 – 45 cm</b>				
P4C1	<i>Bacillus</i> sp.10	24,05	26,43	1,09
P4C5	<i>Corynebacterium</i> sp.12	14,48	19,18	1,32

Fonte: Autores (2024).

Tabela 3 – Índice enzimático (IE) de bactérias com atividade celulolíticas isoladas de Terra Preta Antropogênica.

Isolados	Gênero	Diâmetro da colônia (mm)	Diâmetro do halo (mm)	IE
<b>Profundidade 1 – 7,5 cm</b>				
P1C1	<i>Bacillus</i> sp.1	19,28	22,58	1,17
P1C2	<i>Bacillus</i> sp.2	28,67	30,97	1,08
P1C3	<i>Bacillus</i> sp.3	22,89	25,73	1,12
P1C5	<i>Bacillus</i> sp.4	11,44	15,88	1,39
P1C9	<i>Bacillus</i> sp.6	15,91	19,99	1,26
P1C10	<i>Bacillus</i> sp.7	22,54	26,34	1,16
<b>Profundidade 2 – 20 cm</b>				
P2C3	<i>Corynebacterium</i> sp.2	12,39	19,7	1,58
P2C6	<i>Bacillus</i> sp.8	19,34	24,62	1,27
<b>Profundidade 3 – 32,5 cm</b>				
P3C2	<i>Corynebacterium</i> sp.4	13,24	16,44	1,24

<b>Profundidade 4 – 45 cm</b>				
P4C9	<i>Bacillus</i> sp.11	26,33	29,95	1,14
P4C10	<i>Corynebacterium</i> sp.14	7,87	13,9	1,77

Fonte: Autores (2024).

Tabela 4 – Índice enzimático (IE) de bactérias com atividade proteolíticas isoladas de Terra Preta Antropogênica.

<b>Isolados</b>	<b>Gênero</b>	<b>Diâmetro da colônia (mm)</b>	<b>Diâmetro do halo (mm)</b>	<b>IE</b>
<b>Profundidade 1 – 7,5 cm</b>				
P1C1	<i>Bacillus</i> sp.1	19,66	28,82	1,46
P1C2	<i>Bacillus</i> sp.2	24,51	30,17	1,23
P1C3	<i>Bacillus</i> sp.3	23,11	27,05	1,17
P1C8	<i>Bacillus</i> sp.5	18,95	21,41	1,13
P1C9	<i>Bacillus</i> sp.6	14,98	16,45	1,10
P1C10	<i>Bacillus</i> sp.7	23,28	30,82	1,32
<b>Profundidade 2 – 20 cm</b>				
P2C2	<i>Corynebacterium</i> sp.1	9	12,48	1,38
P2C3	<i>Corynebacterium</i> sp.2	8,05	11,17	1,38
P2C6	<i>Bacillus</i> sp.8	10,33	13,45	1,30
P2C10	<i>Corynebacterium</i> sp.3	7,61	11,62	1,52
<b>Profundidade 3 – 32,5 cm</b>				
P3C2	<i>Corynebacterium</i> sp.4	8,66	12,4	1,43
P3C3	<i>Corynebacterium</i> sp.5	15,07	21,8	1,45
P3C5	<i>Corynebacterium</i> sp.6	13,7	22,4	1,64
P3C6	<i>Corynebacterium</i> sp.7	20,97	23,38	1,11
P3C7	<i>Corynebacterium</i> sp.8	19,92	22,38	1,12
P3C8	<i>Corynebacterium</i> sp.9	28,5	32,5	1,14
P3C10	<i>Corynebacterium</i> sp.10	17,03	21,6	1,27
<b>Profundidade 4 – 45 cm</b>				
P4C1	<i>Bacillus</i> sp.10	17,14	19,72	1,15
P4C4	<i>Corynebacterium</i> sp.11	17,16	20,15	1,17

P4C5	<i>Corynebacterium</i> sp.12	15,34	23,31	1,51
P4C7	<i>Corynebacterium</i> sp.13	12,54	14,83	1,18
P4C9	<i>Bacillus</i> sp.11	10,24	12,21	1,19
P4C10	<i>Corynebacterium</i> sp.14	10,84	13,65	1,26

Fonte: Autores (2024).

A literatura não determina um valor padrão para o índice enzimático. Porém alguns autores sugerem valores para o IE, como Fungaro e Maccheroni (2002), que estabelece que valores acima de 1,0 indicam a produção enzimática. Nesta pesquisa os índices variaram de 1,08 a 1,77, demonstrando, portanto, que todas as cepas testadas apresentaram valores superiores aos sugeridos na literatura e podem ser consideradas como boas produtoras de uma ou mais enzimas.

O gênero *Bacillus* identificado neste estudo, demonstrou eficiente capacidade como produtor enzimático, pois, das 11 cepas testadas, nove destas apresentaram-se capazes em produzir pelo menos duas das enzimas testadas.

De acordo como indicado na literatura, as bactérias do gênero *Bacillus*, estão entre as mais promissoras e utilizadas para a produção de protease (MIENDA et al., 2014), e isso ocorre principalmente pela alta capacidade que diversas espécies de *Bacillus* expressam em produzir e secretar proteínas (HARWOOD; CRANENBURGH, 2008; CUI et al., 2018).

Dentre os microrganismos produtores de amilase, o gênero *Bacillus* se destaca, e a maioria das enzimas já aplicadas comercialmente são provenientes de diversas espécies como *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis* and *Geobacillus stearothermophilus* relatadas como matéria prima na produção de amilase em escala industrial (BALAKRISHNAN; KUMAR; SUGATHAN, 2019; RAMESH et al., 2020; FARIAS, KAWAGUTI; KOBLITZ, 2021).

Para a produção de celulasas por bactérias, *Bacillus* também está dentre os gêneros mais conhecidos e utilizados, principalmente porque essas bactérias são fáceis de cultivar e reproduzir, possuem poucas exigências nutricionais e produzem grandes quantidades de enzimas (BALLA et al., 2022).

Dentre os isolados testados entre os gêneros nesta pesquisa, as cepas de *Corynebacterium* apresentaram os maiores índices enzimáticos, com dois isolados apresentando IE superiores a 1,5 para celulase e três isolados com IE para protease que superam esse valor.

As espécies de *Corynebacterium* produtoras de enzimas extracelulares, *C. glutamicum*, *C. alkanolyticum* e *C. lipophiloflavum* foram reportadas como produtoras de protease, amilase e celulase (SAKTHIVEL et al., 2010; VERTÈS, 2012; BANERJEE et al., 2016). A espécie *C. glutamicum* apesar de ser uma bactéria comumente encontrada no solo, produz poucas proteínas extracelulares e apresenta baixa atividade proteolítica extracelular, o que representa duas vantagens intrínsecas importantes para o desenvolvimento de um sistema de expressão proteica (VERTÈS; INUI; YUKAWA, 2012). No entanto, ainda é necessária uma otimização adicional para tornar as corinebactérias úteis para a fabricação de proteínas em escala industrial (VERTÈS, 2012). Na literatura ainda há poucos estudos relacionados a capacidade enzimática de cepas de *Corynebacterium* spp., dessa forma, há ainda muito o que ser compreendido e pesquisado a respeito desse gênero e a produção de enzimas.

#### 5.4 Atividade antagonista

Para o teste de antagonismo, das 25 cepas isoladas e testadas, 10 destas (40%) apresentaram atividade antagonista contra as espécies *S. aureus* (ATCC 6538) e *E. coli*. (ATCC 25922). Dentre os isolados positivos, cinco cepas apresentaram atividade para ambos os microrganismos teste (Tabela 5).

Tabela 5 – Atividade antagonista de bactérias isoladas de Terra Preta Antropogênica.

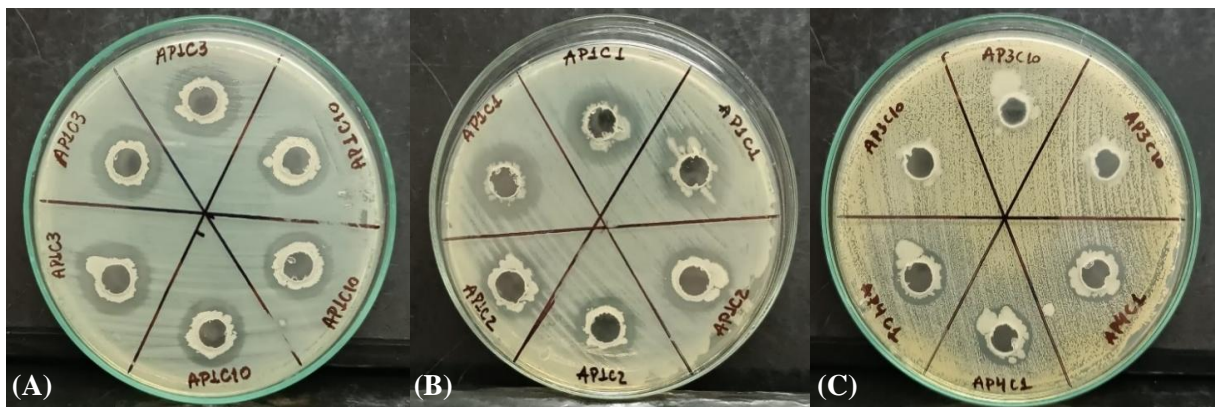
Isolados	Gênero	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
<b>Profundidade 1 – 7,5 cm</b>			
P1C1	<i>Bacillus</i> spp.	+	+
P1C2	<i>Bacillus subtilis</i>	+	+
P1C3	<i>Bacillus</i> spp.	-	+
P1C10	<i>Bacillus</i> spp.	-	+
<b>Profundidade 2 – 20 cm</b>			
P2C2	<i>Corynebacterium</i> spp.	+	-
P2C10	<i>Corynebacterium</i> spp.	+	-
<b>Profundidade 3 – 32,5 cm</b>			
P3C2	<i>Corynebacterium</i> spp.	+	+
P3C8	<i>Corynebacterium</i> spp.	+	+
<b>Profundidade 4 – 45 cm</b>			

P4C1	<i>Bacillus</i> spp.	+	+
P4C4	<i>Corynebacterium</i> spp.	+	-

Fonte: Autores (2024).

O teste de antagonismo foi realizado em triplicata para ambas as espécies testadas, conforme demonstrado na figura 20 A-C.

**Figura 20 A-C** – Teste de antagonismo de bactérias isoladas de Terra Preta Antropogênica contra *S. aureus* (ATCC 6538) e *E. coli* (ATCC 25922).



Fonte: Autores (2024).

Os isolados bacterianos deste estudo demonstraram atividade antagonista similar, com 8 cepas exibindo atividade contra *S. aureus* (ATCC 6538) e 7 cepas contra *E. coli* (ATCC 25922).

Quando comparado a atividade antagonista entre os isolados considerando a profundidade do solo, não houve diferença significativa.

Para o gênero *Corynebacterium* já foram registrados antagonismo contra *S. aureus* e *S. aureus* MRSA (HARDY et al., 2019; MENBERU et al., 2021). Uma substância inibidora semelhante a bacteriocina, foi isolada de uma cepa de *Corynebacterium* spp. e descobriu-se que tem efeitos contra *S. aureus*, *S. epidermidis*, *C. diphtheriae* e *Propionibacterium* spp. (WYSOCKI; KWASZEWSKA; SZEWCZYK, 2011). Além dessas espécies, Bomar et al. (2016) mostraram que *Corynebacterium accolens* inibe o crescimento de *Streptococcus pneumoniae*.

Algumas espécies de *Corynebacterium* spp. possuem a capacidade de inibir o crescimento e a formação de biofilmes, e algumas cepas apresentam atividade bactericida pronunciada contra microrganismos oportunistas (MENBERU et al., 2021; HUANG et al.,

2022). A presença dessas características torna esse grupo de microrganismos promissor para pesquisas em diversos campos da biotecnologia, biologia e medicina.

De acordo com o encontrado na literatura, diversas espécies de *Bacillus* spp. apresentaram antagonismo a *S. aureus* (ATCC – 25923), *P. fluorescens* (RSKK – 240), *B. megaterium* (RSKK – 578), *B. thuringiensis* (RSKK – 380), *M. flavus*, *B. cereus* F2, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, dentre outras (YILMAZ; SORAN; BEYATLI, 2006; POWTHONG; SUNTORNTHITICHAROEN, 2017).

O resultado encontrado neste trabalho corrobora com o resultado de Powthong e Suntornthiticharoen (2017), que registraram através de cepas de *Bacillus* spp. provenientes de amostras de solo, atividade antagonista contra *S. aureus* e *E. coli*. Outra pesquisa, desta vez de Moshafi et al. (2011), também demonstrou que a partir de *Bacillus* sp. isolada de solo, foi capaz de inibir o crescimento de ambas as cepas testadas neste estudo e de outras cepas patogênicas. Da mesma maneira, que foi registrado antagonismo a partir de *B. subtilis* contra *E. coli*, embora esta fosse uma cepa selvagem (AN; GREBENSHCHIKOVA; MATSYURA, 2018).

O gênero *Bacillus* é uma das mais abundantes bactérias presentes no solo, além de possuir uma grande diversidade genética e metabólica, é capaz de produzir diversos compostos antimicrobianos com várias propriedades químicas, por isso as bactérias desse gênero têm se tornado cada vez mais interessantes para testes de atividade antagonista (SANSINENEA; ORTIZ, 2011; PUAN et al., 2023).

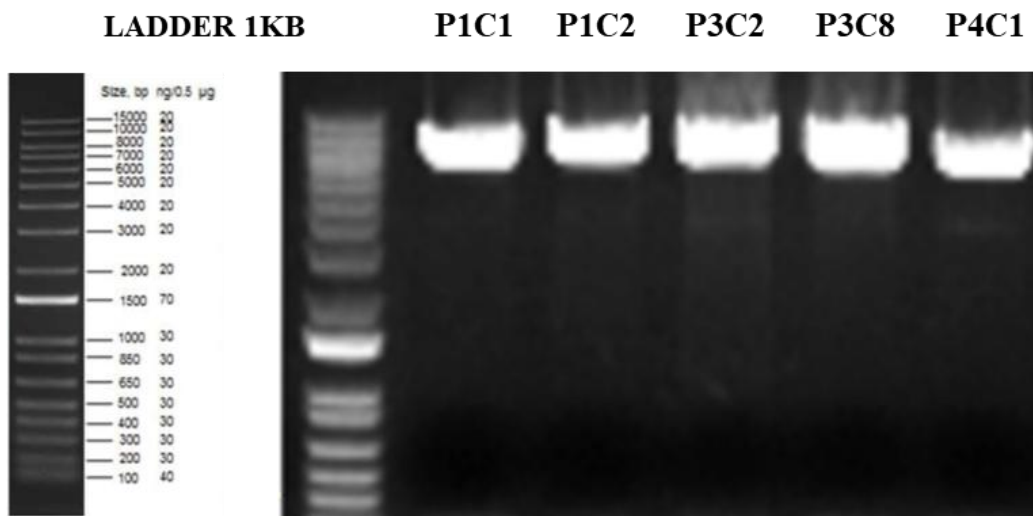
Atualmente com a crise global de microrganismos resistentes a muitos dos antibióticos usuais, procura-se alternativas para mitigar e combater essa crise, através, principalmente da busca por novas substâncias capazes de apresentar atividade antagonista contra patógenos. Através do uso de microrganismos, sejam bactérias ou fungos, que apresentam essa capacidade, os problemas de resistência poderiam ser elucidados. No entanto, apenas uma pequena parcela da potencialidade antimicrobiana produzida por ambos os gêneros identificados foi estudada nesta pesquisa, demonstrando a importância que mais estudos nesse sentido sejam realizados.

## 5.5 Identificação molecular dos isolados

Após os resultados dos testes enzimáticos e de antagonismo, cinco isolados (P1C1, P1C2, P3C2, P3C8, P4C1) apresentaram resultados promissores para ambos os testes.

As cepas P1C1, P1C2 e P3C2 exibiram atividade enzimática para amilase, celulase e protease, enquanto P3C8 e P4C1 mostraram atividade amilolítica e proteolítica. No teste de antagonismo esses cinco isolados apresentaram-se eficientes frente a *S. aureus* (ATCC 6538) e *E. coli* (ATCC 25922). Assim, elas foram selecionadas para se realizar a identificação molecular e o resultado da extração do DNA cromossômico é demonstrado na figura 21.

**Figura 21** – Perfil eletroforético do DNA cromossômico total das bactérias produtoras de enzimas e antagonismo mais proeminentes.



Fonte: Autores (2024).

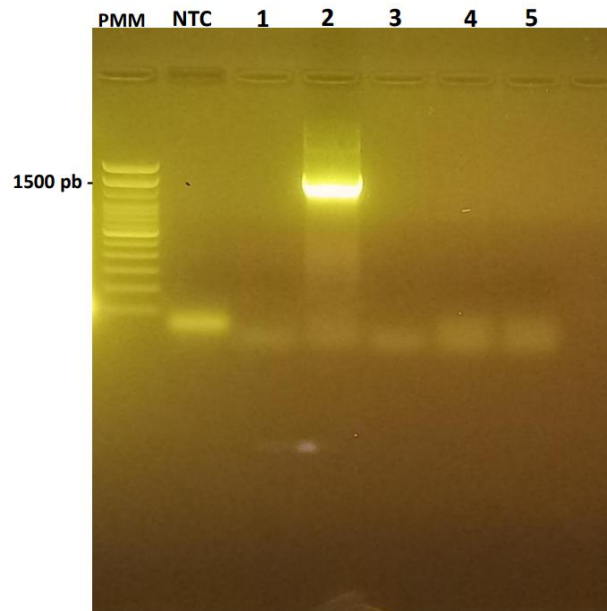
A análise do DNA pode ser utilizada para identificar comunidades microbianas dos mais diversos ambientes, seja solo, água, ar, alimentos, dentre outros. Para isso, são utilizadas diversas técnicas, desde convencionais até as mais modernas (BUSZEWSKI et al., 2017). A identificação molecular e genética fornece informações importantes sobre o mundo microbiano, da evolução microbiana à diversidade microbiana, das interações hospedeiro-patógeno à variação genética causadora de doenças, e dos microrganismos que produzem enzimas industrialmente importantes para os micróbios promotores do crescimento das plantas, permitindo conhecer e entender sobre os microrganismos (TRIPATHI et al., 2019).

A subunidade 16S do RNA ribossômico por apresentar algumas características como: distribuição universal, estrutura e função conservadas entre os táxons, ausência de transferência lateral e tamanho adequado (cerca de 1.500 nucleotídeos) para estudos filogenéticos (AMANN; LUDWIG, 2000), fez com que o estudo das sequências do rRNA 16S tenha se tornado padrão entre os procariotos para a avaliação da diversidade em amostras ambientais, na determinação de relações filogenéticas e na detecção e quantificação de

populações específicas (HEAD; SAUNDERS; PICKUP, 1998). Além disso, por apresentar uma estrutura primária com regiões mais ou menos conservadas, é possível investigar distâncias filogenéticas, desde o nível de domínio até a espécie (LUDWIG; SCHLIFER, 1994).

Dentre as cinco cepas enviadas para sequenciamento, somente uma cepa (P1C2) obteve amplificação na PCR (Figura 22), e, portanto, a única amostra sequenciada com sucesso. Isso pode ter ocorrido devido as condições de transporte e a distância até o local onde ocorreu o sequenciamento (de Santarém - PA a São Paulo - SP), possivelmente as amostras perderam sua viabilidade no trajeto.

**Figura 22** – Perfil eletroforético dos produtos de PCR obtidos com os primers (*Forward* 1 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'; *Reverse* 2 5'-AAGGAGGTGATCCAGCC-3').



Legenda: Amostra 1: P1C1; Amostra 2: P1C2; Amostra 3: P3C2; Amostra 4: P3C8; Amostra 5: P4C1.  
Fonte: Omikka Ltda (2024).

Após as sequências serem editadas manualmente (eliminação das extremidades de baixa qualidade), usando o programa BioEdit v7.2.5, foi possível obter sequências de alta qualidade para a realização do BLASTn. O formato FASTA destas sequências pode ser observado abaixo:

>P1C2\_primer FW1

```
GCTATACATGCAGTCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCTGATGTTAGCGGCG
GACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGA
AACCGGGGCTAATACCGGATGGTTGTTTGAACCGCATGGTTCAAACATAAAAAGGT
```

GGCTTCGGCTACCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGT  
AACGGCTCACCAAGGCRACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACA  
CTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTC  
CGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTCG  
GATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTCGAATAGGGCGGTAC  
CTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGT  
AATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGGCTCGCAGG  
CGTTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGA  
AACTGGGGAAGTTGAGTGCRGAAGAGGAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGA  
AATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTA  
ACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATAACCCTGGTA  
GTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTC

>P1C2\_ primer RV2

GACTTCACCCCAATCATCTGTCCCACCTTCGGCGGCTGGCTCCTAAAAGGTTACCT  
CACCGACTTCGGGTGTTACAACTCTCGTGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGC  
CCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCAGCTT  
CACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAAGTGAAGAACAGATTTGTGGGATTGG  
CTTAACCTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTTCTGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCC  
CAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCTCCGGTTTGTC  
CCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTG  
CGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATG  
CACCACCTGTCACTCTGCCCCGAAGGGGACGTCCTATCTCTAGGATTGTCAGAG  
GATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACACCATGCTCC  
ACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTC  
CCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGACTAAGGGGCGGAAACCCCT  
AACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTC  
GCTCCCCACGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGAGAGTCGCCCTTCGC  
CACTGGTGTTCCTCCACATCTCTACGCATTTACCGCTACACGTGGAATTCCACTC  
TCTCTTCTGCACTCAGTTCCAGTTTCATGACCCTCCCCGGGTGAGCCGGGGGCTT  
TCCATCGACTAGAATCGTCTGCCA

A análise do eletroferograma resultante do sequenciamento do gene 16S rRNA do isolado P1C2, demonstrou que a maioria das sequências foram de alta qualidade, apresentando picos bem definidos, com altura, forma e intensidade uniformes.

Para identificar a bactéria presente na amostra P1C2, foi realizada uma análise BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) utilizando a base de dados NCBI. Os parâmetros adotados incluíram a utilização do algoritmo BLASTn, com um *e-value* de 0,0 para garantir a significância estatística das correspondências encontradas. A análise BLAST resultou na identificação de diversas sequências com alta similaridade com a bactéria *Bacillus subtilis* (Figura 23). As sequências obtiveram uma identidade de 99,75%, com uma cobertura de 100% da sequência consultada, resultando na identificação de *Bacillus subtilis*, confirmando o

resultado obtido pela identificação bioquímica. A utilização da análise BLAST demonstrou-se eficaz para a identificação precisa da espécie bacteriana.

**Figura 23** – Análise BLAST utilizando a base de dados NCBI.

The screenshot displays the NCBI BLAST interface. The search parameters are as follows:

- Job Title: 2\_FW1
- RID: 6C2842C8013
- Program: BLASTN
- Database: nt
- Query ID: lcl|Query\_6441281
- Description: 2\_FW1
- Molecule type: dna
- Query Length: 804

The filter results section shows the following settings:

- Organism: (empty)
- Percent Identity: (empty) to (empty)
- E value: (empty) to (empty)
- Query Coverage: (empty) to (empty)

The table below shows the sequences producing significant alignments:

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Bacillus subtilis strain S-8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	<i>Bacillus subtilis</i>	1478	1478	100%	0.0	99.75%	1234	MT588731.1
Bacillus subtilis strain 3667 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	<i>Bacillus subtilis</i>	1478	1478	100%	0.0	99.75%	1448	MT538531.1
Bacillus subtilis strain AB986572.1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	<i>Bacillus subtilis</i>	1478	1478	100%	0.0	99.75%	1097	MT427735.1
Bacillus subtilis strain HSY21 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	<i>Bacillus subtilis</i>	1478	1478	100%	0.0	99.75%	1491	MT513998.1

Fonte: National Center for Biotechnology Information (2024).

A espécie *Bacillus subtilis* pertence ao filo Firmicutes, classe Bacilli, ordem Bacillales e família Bacillaceae. É uma bactéria Gram-positivo, aeróbia, de crescimento rápido, com células em forma de bastonete, e sob algumas condições de crescimento, como déficit de nutrientes, as células podem formar endósporos, que são liberados pela lise da célula-mãe (ERRINGTON; AART, 2020).

A espécie *B. subtilis* é comumente encontrada no solo, especificamente no solo rizosférico, atuando em benefícios das plantas, sendo uma das mais utilizadas e estudadas bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) que ajuda na absorção de nutrientes e crescimento de raízes (BLAKE; CHRISTENSEN; KOVÁCS, 2021).

A busca por microrganismos provenientes de fontes ambientais, como solos, promove novas e interessantes descobertas para promissores usos biotecnológicos, aliada a análise molecular, pode-se compreender e ampliar o entendimento do funcionamento desses microrganismos em interação com o ambiente no qual são originários, a interação entre espécies

e até mesmo mecanismos de resistência, produção de enzimas e atividade antagonista. O gênero *Bacillus*, especificamente a espécie *Bacillus subtilis* é uma das mais estudadas e reconhecida por seu potencial de produção e atividade dos mais variados tipos, a identificação desta espécie em solo de Terra Preta Antropogênica de uma região da Amazônia oriental contribui e abre portas para que novas pesquisas acerca desses microrganismos sejam realizadas.

A cepa *Bacillus subtilis* identificada molecularmente neste estudo demonstrou interessante atividade enzimática e antagônica, porém, é necessário que mais testes com viés quantitativo sejam realizados para confirmar o potencial e a viabilidade desta cepa para ser utilizada na indústria biotecnológica.

## 6 CONCLUSÃO

A presente pesquisa identificou resistência a antimicrobianos em cepas de *Corynebacterium* spp. e *Bacillus* spp. provenientes de amostras de solo, principalmente aos  $\beta$ -lactâmicos, como penicilina, oxacilina e ampicilina. Não houve diferença significativa nos perfis de susceptibilidade entre os isolados considerando a profundidade do solo.

Foram identificadas cepas de ambos os gêneros com atividade enzimática para amilase, celulase e protease. E cepas com capacidade de produzir ao menos duas das enzimas testadas, em que cepas de *Corynebacterium* spp. e *Bacillus* spp. se destacaram para protease. Não houve diferença significativa nos perfis enzimáticos entre os isolados considerando a profundidade do solo.

No antagonismo antibacteriano, 40% das cepas testadas foram capazes de apresentar atividade antagonista contra *S. aureus* (ATCC 6538) e *E. coli* (ATCC 25922). Não houve diferença significativa no antagonismo entre os isolados considerando a profundidade do solo.

Dentre os isolados bacterianos mais promissores, foi identificada através de biologia molecular uma cepa, pertencente a espécie *Bacillus subtilis*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASIAN, Firouz *et al.* A comprehensive review of aliphatic hydrocarbon biodegradation by bacteria. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 176, p. 670-699, 2015.

ABDEL-SHAFY, Hussein I.; MANSOUR, Mona S. M. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: source, environmental impact, effect on human health and remediation. **Egyptian Journal of Petroleum**, v. 25, n. 1, p. 107-123, 2016.

ABDUL-AZIZ, Mohd H *et al.* Therapeutic drug monitoring of antibiotics: defining the therapeutic range. **Therapeutic Drug Monitoring**, v. 44, n. 1, p. 19-31, 2022.

ABOLORE, Rasaq S. *et al.* An overview of industrial enzymes in beverage production and processing. *In*: KUDDUS, Mohammed; HOSSAIN, Mohammad. (Eds.). **Value-addition in Beverages Through Enzyme Technology**, [S. l.]: Elsevier, 2023. p. 1-26.

ABREU, Elenice Tavares *et al.* Avaliação da resistência a antibióticos de bactérias isoladas de efluente hospitalar. **Acta Scientiarum Technology**, v. 32, n. 1, p. 1-5, 2010.

ADDERSON, Elisabeth E.; BOUDREAUX, Jan W.; HAYDEN, Randall T. Infections caused by coryneform bacteria in pediatric oncology patients. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 27, n. 2, p. 136-141, 2008.

ADEDEJI, Jeremiah A *et al.* Microbial Bioremediation and Biodegradation of Petroleum Products—A Mini Review. **Applied Sciences**, v. 12, n. 23, p. 12212, 2022.

ADETUNJI, Adegoke Isiaka *et al.* Microbial proteases: A next generation green catalyst for industrial, environmental and biomedical sustainability. **Food Materials Research**, v. 3, n. 12, p. 1-15, 2023.

ALIBI, Sana *et al.* Occurrence of *Corynebacterium striatum* as an emerging antibiotic-resistant nosocomial pathogen in a Tunisian hospital. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-8, 2017.

ALMEIDA, Josiane Elizabeth *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) da oleorresina de copaíba. **Revista Uningá**, v. 57, n. 2, p. 12-22, 2020.

ALÓS, Juan-Ignacio. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 33, n. 10, p. 692-699, 2015.

ALIZADEH, Mehrdad; VASEBI, Yalda; SAFAIE, Naser. Microbial antagonists against plant pathogens in Iran: A review. **Open Agriculture**, v. 5, n. 1, p. 404-440, 2020.

AMANN, Rudolf; LUDWIG, Wolfgang. Ribosomal RNA-targeted nucleic acid probes for studies in microbial ecology. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 24, n. 5, p. 555-565, 2000.

AMATTO, Isabela Victorino da Silva *et al.* Enzyme engineering and its industrial applications. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 69, n. 2, p. 389-409, 2021.

AN, Irkitova; GREBENSHCHIKOVA, A. V.; MATSYURA, A. V. Antagonistic activity of *Bacillus subtilis* strains isolated from various sources. **Ukrainian Journal of Ecology**, v. 8, n. 2, p. 354-364, 2018.

AOKI, Stephanie K. *et al.* Contact-dependent inhibition of growth in *Escherichia coli*. **Science**, v. 309, n. 5738, p. 1245-1248, 2005.

AOKI, Stephanie K. *et al.* A widespread family of polymorphic contact-dependent toxin delivery systems in bacteria. **Nature**, v. 468, n. 7322, p. 439-442, 2010.

AOKI, Takanori *et al.* Current evidence for *Corynebacterium* on the ocular surface. **Microorganisms**, v. 9, n. 2, p. 254, 2021.

ARAÚJO, Carlos Leonardo *et al.* The Genus *Corynebacterium* in the Genomic Era. In: ENANY, S. (Ed.). **Basic Biology and Applications of Actinobacteria**. London, UK: IntechOpen, 2018. p. 59-77.

ARAÚJO, Wellington Luiz *et al.* **Micro-organismos endofíticos: Aspectos teóricos e práticos de isolamento e caracterização**. Santarém, PA: UFOPA, 2014. 257 p.

ARCUS, Vickery L *et al.* Enzyme evolution and the temperature dependence of enzyme catalysis. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 65, p. 96-101, 2020.

ARRUDA, Camila Janaina Manguiera de *et al.* Revisão bibliográfica de antibióticos beta-lactâmicos. **Revista Saúde em Foco**, p. 982-995, 2019.

ASARE, Michael O. Anthropogenic dark earth: evolution, distribution, physical, and chemical properties. **European Journal of Soil Science**, v. 73, n. 5, p. e13308, 2022.

ASHRAF, Mubeen *et al.* Bioprospecting microbial proteases in various industries/sectors. In: KUMAR, Ajay; BILAL, Muhammad; FERREIRA, Luiz Fernando Romanholo; KUMARI, Madhuree. **Microbial Biomolecules: Emerging Approach in Agriculture, Pharmaceuticals and Environment Management**. [S. l.]: Academic Press, 2023. p. 301-324.

ASLAM, Bilal *et al.* Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. **Infection and Drug Resistance**, v. 11, p. 1645-1658, 2018.

BAIO, Paulo Victor Pereira *et al.* Clonal multidrug-resistant *Corynebacterium striatum* within a nosocomial environment, Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, p. 23-29, 2013.

BALAKRISHNAN, Divya; KUMAR, Swaroop S.; SUGATHAN, Shiburaj. Amylases for food applications — Updated information. In: PARAMESWARAN, Binod; VARJANI, Sunita; RAVEENDRAN, Sindhu. (Ed.). **Green Bio-processes: Enzymes in Industrial Food Processing**. Singapore: Springer, 2019. p. 199-227.

BALLA, Amel *et al.* Screening of cellulolytic bacteria from various ecosystems and their cellulases production under multi-stress conditions. **Catalysts**, v. 12, n. 7, p. 769, 2022.

BALOUIRI, Mounyr; SADIKI, Moulay; IBNSOUDA, Saad Koraichi. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 6, n. 2, p. 71-79, 2016.

BALSALOBRE, Luz; BLANCO, Ana; ALARCÓN, Teresa. Beta-lactams. In: CAPELO-MARTÍNEZ, José-Luis; IGREJAS, Gilberto (Ed.). **Antibiotic Drug Resistance**. John Wiley & Sons, 2019. p. 57-72.

BANERJEE, Goutam *et al.* Purification and characterization of extracellular protease and amylase produced by the bacterial strain, *Corynebacterium alkanolyticum* ATH3 isolated from fish gut. **Arabian Journal for Science and Engineering**, v. 41, p. 9-16, 2016.

BAPTISTA, Anderson Barbosa *et al.* Diversidade de bactérias ambientais e de pacientes no Hospital Geral de Palmas-TO. **Journal of Bioenergy and Food Science**, v. 2, n. 4, p. 160-164, 2015.

BAPTISTA, Maria Galvão de Figueiredo Mendes. **Mecanismos de Resistência aos Antibióticos**. 2013. 42 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, Lisboa, 2013.

BARBERIS, Claudia M *et al.* Comparison between disk diffusion and agar dilution methods to determine in vitro susceptibility of *Corynebacterium* spp. clinical isolates and update of their susceptibility. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 14, p. 246-252, 2018.

BARBOSA, Flávio Henrique Ferreira *et al.* Produção de substâncias envolvidas no fenômeno de antagonismo bacteriano. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 11, n. 1, p. 1-10, 2011.

BARBOSA, Julierme Zimmer *et al.* Elemental signatures of an Amazonian Dark Earth as result of its formation process. **Geoderma**, v. 361, p. 114085, 2020.

BATISTA, Victor Hugo Teixeira. **Eficiência antisséptica do extrato pirolenhoso de eucalipto no coto umbilical de ovinos**. 2023. 65 f. Monografia (Graduação) – Bacharelado em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Semi-árido, Mossoró/RN, 2023.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, p. 149-158, 1966.

BENKOVA, M.; SOUKUP, O.; MAREK, J. Antimicrobial susceptibility testing: currently used methods and devices and the near future in clinical practice. **Journal of Applied Microbiology**, v. 129, n. 4, p. 806-822, 2020.

BERGEY, D. H.; HOLT, J. G. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.

BERISIO, Rita *et al.* Structural and Biochemical Characterization of Endo- $\beta$ -1, 4-glucanase from *Dictyoglomus thermophilum*, a Hyperthermostable and Halotolerant Cellulase. **Catalysts**, v. 12, n. 3, p. 302, 2022.

BLAIR, Jessica *et al.* Molecular mechanisms of antibiotic resistance. **Nature Reviews Microbiology**, v. 13, n. 1, p. 42-51, 2015.

BLAKE, Christopher; CHRISTENSEN, Mathilde Nordgaard; KOVÁCS, Ákos T. Molecular aspects of plant growth promotion and protection by *Bacillus subtilis*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 34, n. 1, p. 15-25, 2021.

BOMAR, Lindsey *et al.* *Corynebacterium accolens* releases antipneumococcal free fatty acids from human nostril and skin surface triacylglycerols. **MBio**, v. 7, n. 1, 2016.

BOND, Judith S. Proteases: History, discovery, and roles in health and disease. **Journal of Biological Chemistry**, v. 294, n. 5, p. 1643-1651, 2019.

BrCAST. **Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos de inibição**. Versão BrCAST 15-03-2023. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2023.

BRITO, Guilherme Borges; TREVISAN, Márcio. O uso indevido de antibióticos e o eminente risco de resistência bacteriana. **Revista Artigos. Com**, v. 30, p. e7902-e7902, 2021.

BULGAKOVA, V. G *et al.* Action of antibiotics as signalling molecules. **Antibiotiki i Khimioterapiia= Antibiotics and Chemotherapy [sic]**, v. 59, n. 1-2, p. 36-43, 2014.

BUSZEWSKI, Bogusław *et al.* Identification of microorganisms by modern analytical techniques. **Journal of AOAC International**, v. 100, n. 6, p. 1607-1623, 2017.

BUTLER, Mark S *et al.* Glycopeptide antibiotics: back to the future. **The Journal of Antibiotics**, v. 67, n. 9, p. 631-644, 2014.

CAMELLO, Thereza Cristina Ferreira *et al.* Nondiphtherial *Corynebacterium* species isolated from clinical specimens of patients in a university hospital, Rio de Janeiro, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, p. 39-44, 2003.

CARDOSO, Olga. Grupo MLS. *In*: OLIVEIRA, Catarina da Luz; CAETANO, Marisa. (Org.). **Manual da Associação Portuguesa de Farmacêuticos Hospitalares sobre Antimicrobianos**. Coimbra: Associação Portuguesa de Farmacêuticos Hospitalares, 2022. p. 34-37.

CASELLAS, José María. Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 30, n. 6, p. 519-528, 2011.

CASTRO, Anna Raquel Silva de *et al.* Proteases. *In*: LIBERATO, Maria da Conceição Tavares Cavalcanti; AGUIAR, Geovana Costa. (Org.). **Pesquisas Bibliográficas Realizadas por Alunos das Disciplinas de Bioquímica e Química dos Alimentos UECE-2022**. Belo Horizonte, MG: Poisson, 2022. p. 27-30.

CHANDRAKASAN, Gobinath *et al.* Bacteriocin encapsulation for food and pharmaceutical applications: advances in the past 20 years. **Biotechnology Letters**, v. 41, p. 453-469, 2019.

CHANDRA, Subhash *et al.* Application of bioremediation technology in the environment contaminated with petroleum hydrocarbon. **Annals of Microbiology**, v. 63, n. 2, p. 417-431, 2013.

CHAPMAN, Jordan; ISMAIL, Ahmed E.; DINU, Cerasela Zoica. Industrial applications of enzymes: Recent advances, techniques, and outlooks. **Catalysts**, v. 8, n. 6, p. 238, 2018.

CHEN, Yahua *et al.*  $\beta$ -Lactamase genes of the penicillin-susceptible *Bacillus anthracis* Sterne strain. **Journal of Bacteriology**, v. 185, n. 3, p. 823-830, 2003.

CHIKINDAS, Michael L *et al.* Functions and emerging applications of bacteriocins. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 49, p. 23-28, 2018.

CHOI, Jung-Min; HAN, Sang-Soo; KIM, Hak-Sung. Industrial applications of enzyme biocatalysis: Current status and future aspects. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 7, p. 1443-1454, 2015.

CID, Wenderson dos Santos. **Diversidade microbiana e atividade enzimática de fungos provenientes de terra preta antropogênica do Baixo Amazonas**. 2015. 96 f. Dissertação (Mestrado) - Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos, Universidade Federal do Amazonas, Itacoatiara, 2015.

CINELLI, Bernardo Alves. **Produção de etanol a partir da fermentação simultânea à hidrólise do amido granular de resíduo agroindustrial**. 2012. 183 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

CLSI. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**. 9. ed. CLSI document M07-A9. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.

CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**. 14. ed. CLSI standard M02. [S.l.]: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2024a.

CLSI. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 34. ed. CLSI supplement M100. Wayne, Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2024b.

COELHO, Glauciane Danusa *et al.* Potencial de fungos da Caatinga para produção de enzimas amilolíticas. **Revista Saúde & Ciência Online**, v. 7, n. 2, p. 286-297, 2018.

CONCEIÇÃO, Jaime. Quinolonas e Antimetabolitos. *In*: OLIVEIRA, Catarina da Luz; CAETANO, Marisa. (Org.). **Manual da Associação Portuguesa de Farmacêuticos Hospitalares sobre Antimicrobianos**. Coimbra: Associação Portuguesa de Farmacêuticos Hospitalares, 2022. p. 43-50.

CORTI, M. A. M *et al.* Rare human skin infection with *Corynebacterium ulcerans*: transmission by a domestic cat. **Infection**, v. 40, n. 5, p. 575-578, 2012.

COSTA, Anderson Luiz Pena; SILVA JUNIOR, Antonio Carlos Souza. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica**, v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017.

COSTA, Bianca Maria Beserra *et al.* Atividade antimicrobiana do óleo essencial do alecrim associado ao hidróxido de cálcio. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 16, p. e522101623865-e522101623865, 2021.

- COSTA JÚNIOR, Jefferson Alves da *et al.* Biotechnology: identification and evaluation of the *Bacillus cereus* amyolytic activity. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 13, p. e437101321301-e437101321301, 2021.
- COTTER, Paul D.; ROSS, R. Paul; HILL, Colin. Bacteriocins — A viable alternative to antibiotics?. **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, n. 2, p. 95-105, 2013.
- CRAWFORD, Ronald L. Biodegradation: Principles, Scope, and Technologies. *In: MOO-YOUNG, Murray. (Ed.). Comprehensive Biotechnology*. 2. ed. [S. l.]: Pergamon, 2011. p. 3-13.
- CREMONESI, Paolo; CASOLI, Antonella. Enzymes as tools for conservation of works of art. **Journal of Cultural Heritage**, v. 50, p. 73-87, 2021.
- CUI, Wenjing *et al.* Exploitation of *Bacillus subtilis* as a robust workhorse for production of heterologous proteins and beyond. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 34, p. 1-19, 2018.
- CUI, Yifang *et al.* Toxins and mobile antimicrobial resistance genes in *Bacillus* probiotics constitute a potential risk for One Health. **Journal of Hazardous Materials**, v. 382, p. 121266, 2020.
- D’COSTA, Vanessa M.; GRIFFITHS, Emma; WRIGHT, Gerard D. Expanding the soil antibiotic resistome: exploring environmental diversity. **Current Opinion in Microbiology**, v. 10, n. 5, p. 481-489, 2007.
- DAI, Mengdi *et al.* A novel bacteriocin from *Lactobacillus pentosus* ZFM94 and its antibacterial mode of action. **Frontiers in Nutrition**, v. 8, p. 710862, 2021.
- DAI, Menghong *et al.* In vitro development and transfer of resistance to chlortetracycline in *Bacillus subtilis*. **Journal of Microbiology**, v. 50, p. 807-812, 2012.
- DARBANDI, Atieh *et al.* Bacteriocins: Properties and potential use as antimicrobials. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, v. 36, n. 1, p. e24093, 2022.
- DAVIES, Julian; DAVIES, Dorothy. Origins and evolution of antibiotic resistance. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 74, n. 3, p. 417-433, 2010.
- DAZZI, Carmelo; PAPA, Giuseppe Lo. Anthropogenic soils: general aspects and features. **Ecocycles**, v. 1, n. 1, p. 3-8, 2015.
- DEB, J. K.; NATH, Niharika. Plasmids of corynebacteria. **FEMS Microbiology Letters**, v. 175, n. 1, p. 11-20, 1999.
- DENG, Fengru *et al.* Antimicrobial resistance, virulence characteristics and genotypes of *Bacillus* spp. from probiotic products of diverse origins. **Food Research International**, v. 139, p. 109949, 2021.

DI FRANCESCO, A.; MARTINI, C.; MARI, M. Biological control of postharvest diseases by microbial antagonists: how many mechanisms of action?. **European Journal of Plant Pathology**, v. 145, p. 711-717, 2016.

DOBINSON, Hazel C *et al.* Antimicrobial treatment options for granulomatous mastitis caused by *Corynebacterium* species. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 53, n. 9, p. 2895-2899, 2015.

DOBRZYŃSKI, Jakub; WRÓBEL, Barbara; GÓRSKA, Ewa Beata. Taxonomy, Ecology, and Cellulolytic Properties of the Genus *Bacillus* and Related Genera. **Agriculture**, v. 13, n. 10, p. 1979, 2023.

DOWNIE, Adriana E. *et al.* Terra Preta Australis: Reassessing the carbon storage capacity of temperate soils. **Agriculture, ecosystems & environment**, v. 140, n. 1-2, p. 137-147, 2011.

DUBOS, René J. Studies on a bactericidal agent extracted from a soil *Bacillus*: I. Preparation of the agent. Its activity in vitro. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 70, n. 1, p. 1, 1939.

DUKARE, Ajinath Shridhar *et al.* Exploitation of microbial antagonists for the control of postharvest diseases of fruits: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 9, p. 1498-1513, 2019.

DUNO, Alexander Delgado *et al.* Caracterización epidemiológica de la linfadenitis caseosa en rebaños caprinos de la península de Paraguaná, Venezuela. **Revista de Medicina Veterinaria**, n. 31, p. 35-45, 2016.

DU, Yuanfen *et al.* Advances and applications of *Clostridium* co-culture systems in biotechnology. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 560223, 2020.

DWIVEDI, Shruti *et al.* Mining of Novel Microbial Enzymes Using Metagenomics Approach for Efficient Bioremediation: An Overview. *In*: KUMAR, Vineet; BILAL, Muhammad; FERREIRA, Luiz Fernando Romanholo; IQBAL, Hafiz M. N. (Eds.). **Genomics Approach to Bioremediation: Principles, Tools, and Emerging Technologies**. [S. l.]: Wiley, 2023. p. 183-198.

EHLING-SCHULZ, Monika; LERECLUS, Didier; KOEHLER, Theresa M. The *Bacillus cereus* group: *Bacillus* species with pathogenic potential. **Microbiology Spectrum**, v. 7, n. 3, 2019.

ERRINGTON, Jeffery; AART, Lizah T. van der. Microbe Profile: *Bacillus subtilis*: model organism for cellular development, and industrial workhorse. **Microbiology**, v. 166, n. 5, p. 425-427, 2020.

FADER, Robert C; ENGELKIRK, Paul G; DUBEN-ENGELKIRK, Janet. **Burton Microbiologia para Ciências da Saúde**. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2021.

FARIAS, Ticiane Carvalho; KAWAGUTI, Haroldo Yukio; KOBLITZ, Maria Gabriela Bello. Microbial amylolytic enzymes in foods: Technological importance of the *Bacillus* genus. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 35, p. 102054, 2021.

- FARIÑA, Norma. Resistencia bacteriana: un problema de salud pública mundial de difícil solución. **Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud**, v. 14, n. 1, p. 04-05, 2016.
- FAROOQ, Muhammad Adeel *et al.* Biosynthesis and industrial applications of  $\alpha$ -amylase: A review. **Archives of Microbiology**, v. 203, p. 1281-1292, 2021.
- FATHIZADEH, Hadis *et al.* Bacteriocins: recent advances in its application as an antimicrobial alternative. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 23, n. 8, p. 1028-1040, 2022.
- FERNANDES, Abigail; JOBBY, Renitta. Bacteriocins from lactic acid bacteria and their potential clinical applications. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 194, n. 10, p. 4377-4399, 2022.
- FERNANDES, Vienna Dorothy *et al.* Versatile action, properties, application and mechanism of eco-friendly microbial enzyme-proteases. In: PATIL, Sharangouda J. (Ed.). **Enzymes-Mechanisms and Action**. Delhi, India: Jaya Publishing House, 2023. p. 155-184.
- FERNANDEZ-ROBLAS, R *et al.* In vitro activity of tigecycline and 10 other antimicrobials against clinical isolates of the genus *Corynebacterium*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 33, n. 5, p. 453-455, 2009.
- FERREIRA, Luciana Chaves. **Aspectos bioquímicos e moleculares de bactérias isoladas de Terra Preta Antropogênica (TPA) na região da Amazônia brasileira**. 2007. 90 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Sorocaba, 2007.
- FIEDLER, Gregor *et al.* Antibiotics resistance and toxin profiles of *Bacillus cereus*-group isolates from fresh vegetables from German retail markets. **BMC Microbiology**, v. 19, p. 1-13, 2019.
- FIRA, Djordje *et al.* Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species. **Journal of Biotechnology**, v. 285, p. 44-55, 2018.
- FORSBERG, Kevin J *et al.* The shared antibiotic resistome of soil bacteria and human pathogens. **Science**, v. 337, n. 6098, p. 1107-1111, 2012.
- FOYSAL, Md Javed; LISA, Asura Khanam. Isolation and characterization of *Bacillus* sp. strain BC01 from soil displaying potent antagonistic activity against plant and fish pathogenic fungi and bacteria. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 16, n. 2, p. 387-392, 2018.
- FRASER, James *et al.* Anthropogenic soils in the Central Amazon: from categories to a continuum. **Area**, v. 43, n. 3, p. 264-273, 2011.
- FUNGARO, Maria Helena Pelegrinelli; MACCHERONI Jr, Walter. Melhoramento genético para produção de enzimas aplicadas a Indústria de Alimentos. In: MELO, Itamar Soares de; VALADARES-INGLIS, Maria Cléria; NASS, Luciano Lourenço; VALOIS, Afonso Celso

Candeira. **Recursos Genéticos e Melhoramento-Microrganismo**. Jaguariúna, São Paulo: Embrapa Meio Ambiente, 2002. p. 426-453.

FU, Songzhe *et al.* National safety survey of animal-use commercial probiotics and their spillover effects from farm to humans: an emerging threat to public health. **Clinical Infectious Diseases**, v. 70, n. 11, p. 2386-2395, 2020.

GAJIC, Ina *et al.* Antimicrobial susceptibility testing: a comprehensive review of currently used methods. **Antibiotics**, v. 11, n. 4, p. 427, 2022.

GALLARDO, Adriana A *et al.* *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar ovis: evaluación de la sensibilidad antibiótica in vitro. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 51, n. 4, p. 334-338, 2019.

GARCÍA-BAYONA, Leonor; COMSTOCK, Laurie E. Bacterial antagonism in host-associated microbial communities. **Science**, v. 361, n. 6408, p. eaat2456, 2018.

GARCIA, Erin C. Contact-dependent interbacterial toxins deliver a message. **Current Opinion in Microbiology**, v. 42, p. 40-46, 2018.

GAUTHIER, Timothy P; UNGER, Nathan R. Quinolonas, antagonistas do ácido fólico e antissépticos do trato urinário. *In*: WAHLEN, Karen; FINKEL, Richard; PANAVELIL, Thomas A. **Farmacologia Ilustrada**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. p. 513-523.

GHATTAVI, Saba; HOMAELI, Ahmad. Marine enzymes: Classification and application in various industries. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 230, p. 123136, 2023.

GHOLAMI-SHABANI, Mohammadhassan; SHAMS-GHAHFAROKHI, Masoomeh; RAZZAGHI-ABYANEH, Mehdi. Food Microbiology: Application of Microorganisms in Food Industry. *In*: ARSHAD, Muhammad Sajid; KHALID, Waseem. **Health Risks of Food Additives - Recent Developments and Trends in Food Sector**. [S.l.]: IntechOpen, 2023.

GIBRAN, Khalil. **O Profeta**. 1ª ed. São Paulo: Editora Ajna, 2021.

GILA, Juan de Dios López-González *et al.* *Corynebacterium jeikeium* urinary tract infection and good clinical response with nitrofurantoin treatment. **Revista Espanola de Quimioterapia**: Publicacion Oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia, v. 32, n. 1, p. 89-90, 2018.

GLASER, Bruno; BIRK, Jago Jonathan. State of the scientific knowledge on properties and genesis of Anthropogenic Dark Earths in Central Amazonia (Terra Preta de Índio). **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 82, p. 39-51, 2012.

GONÇALVES, Neuza Maria Ferraz de Mello; ARANSIOLA, Olajumoke Christiana; BARDAL, Adriane Granato. Resistência Bacteriana nas infecções hospitalares. **Revista UNIANDRADE**, v. 17, n. 2, p. 86-100, 2016.

GUIMARÃES, Denise Oliveira; MOMESSO, Luciano da Silva; PUPO, Mônica Tallarico. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

GROSSMAN, Julie M. *et al.* Amazonian anthrosols support similar microbial communities that differ distinctly from those extant in adjacent, unmodified soils of the same mineralogy. **Microbial Ecology**, v. 60, p. 192-205, 2010.

GROSSO, Filipa. Noções básicas de bacteriologia. *In*: OLIVEIRA, Catarina da Luz; CAETANO, Marisa. (Org.). **Manual da Associação Portuguesa de Farmacêuticos Hospitalares sobre Antimicrobianos**. Coimbra: Associação Portuguesa de Farmacêuticos Hospitalares, 2022. p. 9-13.

GUPTA, Radhey S *et al.* Robust demarcation of 17 distinct *Bacillus* species clades, proposed as novel Bacillaceae genera, by phylogenomics and comparative genomic analyses: description of *Robertmurraya kyonggiensis* sp. nov. and proposal for an emended genus *Bacillus* limiting it only to the members of the Subtilis and Cereus clades of species. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, n. 11, p. 5753-5798, 2020.

GUPTA, Sanchita *et al.* Application of Enzymes in Bioremediation of Contaminated Hydrosphere and Soil Environment. *In*: THATOI, Hrudayanath; MOHAPATRA, Sonali; DAS, Swagat Kumar. (Eds.). **Bioprospecting of Enzymes in Industry, Healthcare and Sustainable Environment**. Singapore: The Springer Nature Singapore, 2021. p. 1-28.

GURUMALLESH, Poorani *et al.* A systematic reconsideration on proteases. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 128, p. 254-267, 2019.

HALL, Tom. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, n. 41, p. 95-98, 1999.

HARAYAMA, Shigeaki; KASAI, Yuki; HARA, Akihiro. Microbial communities in oil-contaminated seawater. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 15, n. 3, p. 205-214, 2004.

HARDY, Britney L *et al.* *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* exploits *Staphylococcus aureus* virulence components in a novel polymicrobial defense strategy. **MBio**, v. 10, n. 1, 2019.

HARIRCHI, Sharareh *et al.* Bacillales: from taxonomy to biotechnological and industrial perspectives. **Microorganisms**, v. 10, n. 12, p. 2355, 2022.

HARWOOD, Colin R.; CRANENBURGH, Rocky. *Bacillus* protein secretion: an unfolding story. **Trends in Microbiology**, v. 16, n. 2, p. 73-79, 2008.

HASHIM, Suhaila Omar. Starch-modifying enzymes. *In*: MAMO, Gashaw; MATTIASSON, Bo. (Ed.). **Alkaliphiles in Biotechnology**. [S. l.]: Springer Cham, 2020. p. 221-244.

HAWARI, Azmi Dawood. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection (caseous lymphadenitis) in camels (*Camelus dromedarius*) in Jordan. **American Journal of Animal and Veterinary Sciences**, v. 3, n. 3, p. 68-72, 2008.

HEAD, I. M.; SAUNDERS, J. R.; PICKUP, Roger W. Microbial evolution, diversity, and ecology: a decade of ribosomal RNA analysis of uncultivated microorganisms. **Microbial Ecology**, v. 35, p. 1-21, 1998.

HEATLEY, N. G. A method for the assay of penicillin. **Biochemical Journal**, v. 38, n. 1, p. 61-65, 1944.

HENNART, Melanie *et al.* Population genomics and antimicrobial resistance in *Corynebacterium diphtheriae*. **Genome Medicine**, v. 12, p. 1-18, 2020.

HENNEVELD, Kerstin *et al.* *Corynebacterium* spp. in dogs and cats with otitis externa and/or media: a retrospective study. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 48, n. 5, p. 320-326, 2012.

HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, Juan Carlos *et al.* Bacteriocins from lactic acid bacteria. A powerful alternative as antimicrobials, probiotics, and immunomodulators in veterinary medicine. **Animals**, v. 11, n. 4, p. 979, 2021.

HEUER, Holger; SCHMITT, Heike; SMALLA, Kornelia. Antibiotic resistance gene spread due to manure application on agricultural fields. **Current Opinion in Microbiology**, v. 14, n. 3, p. 236-243, 2011.

HINNEKENS, Pauline *et al.* Conjugation across *Bacillus cereus* and kin: A review. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 1034440, 2022.

HIRATA JÚNIOR, R.; MATTOS-GUARALDI, A. L. *Corynebacterium diphtheriae* e outras espécies do gênero. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. (Ed.). **Microbiologia**. São Paulo: Atheneu, 2015. p. 245-254.

HOLMES, Curtis J.; PELLECCIA, Robert. Antimicrobial therapy in management of odontogenic infections in general dentistry. **Dental Clinics**, v. 60, n. 2, p. 497-507, 2016.

HOOD, Rachel D. *et al.* A type VI secretion system of *Pseudomonas aeruginosa* targets a toxin to bacteria. **Cell Host & Microbe**, v. 7, n. 1, p. 25-37, 2010.

HOWARD, Jeffrey. **Anthropogenic Soils**. Cham, Switzerland: Springer International Publishing, 2017.

HUANG, Shuman *et al.* *Corynebacterium accolens* inhibits *Staphylococcus aureus* induced mucosal barrier disruption. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 984741, 2022.

HUTTNER, Angela *et al.* Oral amoxicillin and amoxicillin–clavulanic acid: properties, indications and usage. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 26, n. 7, p. 871-879, 2020.

- IMRAN, Muhammad *et al.* Cellulase production from species of fungi and bacteria from agricultural wastes and its utilization in industry: a review. **Advances in Enzyme Research**, v. 4, n. 2, p. 44-55, 2016.
- ISLAM, Farjana; ROY, Narayan. Screening, purification and characterization of cellulase from cellulase producing bacteria in molasses. **BMC Research Notes**, v. 11, p. 1-6, 2018.
- JAISWAL, Shweta; SHUKLA, Pratyosh. Alternative strategies for microbial remediation of pollutants via synthetic biology. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 808, 2020.
- JEMLI, Sonia *et al.* Biocatalysts: application and engineering for industrial purposes. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 36, n. 2, p. 246-258, 2016.
- JOIN-LAMBERT, Olivier F *et al.* *Corynebacterium pseudotuberculosis* necrotizing lymphadenitis in a twelve-year-old patient. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 25, n. 9, p. 848-851, 2006.
- JOUTEY, Nezha Tahri *et al.* Biodegradation: Involved Microorganisms and Genetically Engineered Microorganisms. In: CHAMY, Rolando. **Biodegradation - Life of Science**. v. 1. [S. l.]: IntechOpen, 2013. p. 289-320.
- JUJJAVARAPU, Satya E.; DHAGAT, Swasti. Evolutionary trends in industrial production of  $\alpha$ -amylase. **Recent Patents on Biotechnology**, v. 13, n. 1, p. 4-18, 2019.
- KABEERDASS, Nivedhitha *et al.* *Bacillus*-mediated silver nanoparticle synthesis and its antagonistic activity against bacterial and fungal pathogens. **Antibiotics**, v. 10, n. 11, p. 1334, 2021.
- KÄMPF, Nestor *et al.* Classificação de Terras Pretas de Índio e Outros Solos Antrópicos Antigos. In: TEIXEIRA, Wenceslau Geraldes *et al.* (Ed.). *As terras Pretas de Índio da Amazônia: Sua Caracterização e Uso deste Conhecimento na Criação de Novas Áreas*. 1 ed. Manaus: **Embrapa Amazônia Ocidental**, 2010. p. 87-103.
- KERN, Dirse Clara *et al.* Terras pretas: Approaches to formation processes in a new paradigm. **Geoarchaeology**, v. 32, n. 6, p. 694-706, 2017.
- KISGEN, Jamie. Antimicrobianos inibidores da parede celular. In: WAHLEN, Karen; FINKEL, Richard; PANAVELIL, Thomas A. **Farmacologia Ilustrada**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2016a. p. 483-497.
- KISGEN, Jamie. Princípios do tratamento antimicrobiano. In: WAHLEN, Karen; FINKEL, Richard; PANAVELIL, Thomas A. **Farmacologia Ilustrada**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2016b. p. 471-482.
- KOCABAŞ, Didem Sutay; LYNE, John; USTUNOL, Zeynep. Hydrolytic enzymes in the dairy industry: Applications, market and future perspectives. **Trends in Food Science & Technology**, v. 119, p. 467-475, 2022.
- KONO, Megumi; SASATSU, Masanori; AOKI, Takashi. R plasmids in *Corynebacterium xerosis* strains. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 23, n. 3, p. 506-508, 1983.

- KOWALSKA-KROCHMAL, Beata; DUDEK-WICHER, Ruth. The minimum inhibitory concentration of antibiotics: Methods, interpretation, clinical relevance. **Pathogens**, v. 10, n. 2, p. 165, 2021.
- KUMAR, Deepak *et al.* Application of enzymes for an eco-friendly approach to textile processing. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, p. 71838-71848, 2021.
- LAGOA, Ricardo; RODRIGUES, Joaquim Rui. Biodiversidade, as Biotecnologias e a procura de uma nova Bioeconomia. **Guia pedagógico da Floresta**, p. 7-18, 2016.
- LAHIRI, Dibyajit *et al.* Antibiofilm activity of  $\alpha$ -amylase from *Bacillus subtilis* and prediction of the optimized conditions for biofilm removal by response surface methodology (RSM) and artificial neural network (ANN). **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 193, p. 1853-1872, 2021.
- LARKIN, Mark A *et al.* Clustal W and Clustal X version 2.0. **Bioinformatics**, v. 23, n. 21, p. 2947-2948, 2007.
- LAXMINARAYAN, Ramanan *et al.* Antibiotic resistance—the need for global solutions. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 13, n. 12, p. 1057-1098, 2013.
- LEDGER, Elizabeth V. K; SABNIS, Akshay; EDWARDS, Andrew M. Polymyxin and lipopeptide antibiotics: membrane-targeting drugs of last resort. **Microbiology**, v. 168, n. 2, 2022.
- LEE, Joo-Young *et al.* The actinobacterium *Corynebacterium glutamicum*, an industrial workhorse. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, n.5, p. 807-822, 2016.
- LEYTON, Benjamin *et al.* Treat me well or will resist: uptake of mobile genetic elements determine the resistome of *Corynebacterium striatum*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 14, p. 7499, 2021.
- LIM, Si Jie; OSLAN, Siti Nurbaya. Native to designed: microbial  $\alpha$ -amylases for industrial applications. **PeerJ**, v. 9, p. e11315, 2021.
- LIMA, Amanda Barbosa *et al.* Amazonian Dark Earth and plant species from the Amazon region contribute to shape rhizosphere bacterial communities. **Microbial Ecology**, v. 69, p. 855-866, 2015.
- LIMA, Nelson. Biodiversidade: um recurso a preservar e a usar de forma justa e equitativa nos desenvolvimentos da biotecnologia e da bioeconomia. *In: Encontro sobre Contextualização do Ensino e Relevância da Aprendizagem das Ciências e da Geografia*. Braga, Portugal, 7-7, 2016.
- LIMA, Camila Correa; BENJAMIM, Sandra Cristina Calixto; SANTOS, Rosana Francisco Siqueira dos. Mecanismo de resistência bacteriana frente aos fármacos: uma revisão. **CuidArte Enfermagem**, v. 11, n. 1, p. 105-113, 2017.

- LIMA, Janaina de Souza *et al.* Cellulase immobilized on kaolin as a potential approach to improve the quality of knitted fabric. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 45, n. 4, p. 679-688, 2022.
- LI, Qing *et al.* Commercial proteases: present and future. **FEBS Letters**, v. 587, n. 8, p. 1155-1163, 2013.
- LIU, Xiangyang; KOKARE, Chandrakant. Microbial enzymes of use in industry. *In*: BRAHMACHARI, Goutam. (Ed.). **Biotechnology of Microbial Enzymes**. [S. l.]: Academic Press, 2023. p. 405-444.
- LOUREIRO, Rui João *et al.* O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. **Revista Portuguesa de Saúde Pública**, v. 34, n. 1, p. 77-84, 2016.
- LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K. H. Bacterial phylogeny based on 16S and 23S rRNA sequence analysis. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 15, n. 2-3, p. 155-173, 1994.
- LUND, Heidi Sjetne *et al.* Antimicrobial susceptibility in bacterial isolates from Norwegian cats with lower urinary tract disease. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 17, n. 6, p. 507-515, 2015.
- LYONS, Nicholas A. *et al.* A combinatorial kin discrimination system in *Bacillus subtilis*. **Current Biology**, v. 26, n. 6, p. 733-742, 2016.
- MACIEL, Fábio Luís *et al.* **Microrganismos com potencial biotecnológico**. Bento Gonçalves, RS: UERGS, 2020.
- MADHUMITA, Mitali; NAYAK, Puja Priyadarshini; NANDI, Sujosh. Enzymatically Modified Starch. *In*: BANGAR, Sneh Punia. **Standardized Procedures and Protocols for Starch**. New York, NY: Springer US, 2024. p. 335-351.
- MAEZUMI, S. Yoshi *et al.* The legacy of 4,500 years of polyculture agroforestry in the eastern Amazon. **Nature Plants**, v. 4, n. 8, p. 540-547, 2018.
- MAGIORAKOS, Annapelle Pelagia *et al.* Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, n. 3, p. 268-281, 2012.
- MANDIC-MULEC, Ines; STEFANIC, Polonca; VAN ELSAS, Jan Dirk. Ecology of Bacillaceae. *In*: DRIKS, Adam; EICHENBERGER, Patrick. (Ed.). **The Bacterial Spore: From Molecules to Systems**. Washington, DC: American Society for Microbiology, 2016. p. 59-85.
- MANGUTOV, E. O.; KHARSEEVA, Galina Georgievna; ALUTINA, E. L. *Corynebacterium* spp. - problematic pathogens of the human respiratory tract (Review of Literature). **Klinicheskaja Laboratornaia Diagnostika**, v. 66, n. 8, p. 502-508, 2021.
- MÁRQUEZ, M. Carmen; SÁNCHEZ-PORRO, Cristina; VENTOSA, Antonio. Halophilic and haloalkaliphilic, aerobic endospore-forming bacteria in soil. *In*: LOGAN, Niall A.; VOS, Paul. (Ed.). **Endospore-forming Soil Bacteria**. [S.l.]: Springer, 2011. p. 309-339.

MARTÍNEZ, José L. Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments. **Science**, v. 321, n. 5887, p. 365-367, 2008.

MARTINEZ-MARTINEZ, Luis *et al.* Phenotypic characteristics of 31 strains of *Corynebacterium striatum* isolated from clinical samples. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 33, n. 9, p. 2458-2461, 1995.

MATHUR, Harsh *et al.* Bacteriocin-antimicrobial synergy: a medical and food perspective. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1205, 2017.

MATOS NETO, João Moreira de *et al.* Biotechnological potential and enzymes produced by actinobacteria from semi-arid soils. **Enciclopedia Biosfera**, v. 19, n. 42, p. 134-152, 2022.

MATTER, Ikhlas Ramadan; AL-OMARI, Aisha W.; MOHAMMED, Najwa. Industrial Applications of Microbial Protease: A Review. **Academic Science Journal**, v. 1, n. 3, p. 141-160, 2023.

MCDONALD, Andrew G.; TIPTON, Keith F. Enzyme nomenclature and classification: The state of the art. **The FEBS Journal**, v. 290, n. 9, p. 2214-2231, 2023.

MECKENSTOCK, Rainer U *et al.* Anaerobic degradation of benzene and polycyclic aromatic hydrocarbons. **Microbial Physiology**, v. 26, n. 1-3, p. 92-118, 2016.

MENBERU, Martha Alemayehu *et al.* *Corynebacterium accolens* has antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* pathogens isolated from the sinonasal niche of chronic rhinosinusitis patients. **Pathogens**, v. 10, n. 2, p. 207, 2021.

MESBAH, Noha M. Industrial biotechnology based on enzymes from extreme environments. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 10, p. 870083, 2022.

MIENDA, Bashir Sajo *et al.* An overview of microbial proteases for industrial applications. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v. 5, n. 1, p. 388-396, 2014.

MIRANDA, Ana Beatriz *et al.* Emprego de reveladores oxirredutores e de leitura automatizada na determinação da atividade de fármacos em bactérias de importância médica. **Revista Uningá**, v. 60, p. eUJ4398-eUJ4398, 2023.

MISHRA, Sandhya *et al.* Recent advanced technologies for the characterization of xenobiotic-degrading microorganisms and microbial communities. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, p. 632059, 2021.

MOLUJIN, Arnold Marshall *et al.* Bacteriocins as Potential Therapeutic Approaches in the Treatment of Various Cancers: A Review of In Vitro Studies. **Cancers**, v. 14, n. 19, p. 4758, 2022.

MONDAL, Subhadeep *et al.* Microbial Amylase: Old but still at the forefront of all major industrial enzymes. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 45, p. 102509, 2022.

- MONTEIRO, Roberta Farias dos Santos *et al.* O uso indiscriminado de antimicrobianos para o desenvolvimento de micro-organismos resistentes. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, n. 53, p. e3597-e3597, 2020.
- MORAL, Sandranel; RAMÍREZ-COUTIÑO, Laura P.; GARCÍA-GÓMEZ, María de Jesus. Aspectos relevantes del uso de enzimas en la industria de los alimentos. **Revista Iberoamericana de Ciencias**, v. 2, n. 3, p. 87-102, 2015.
- MOREIRA, Fatima Maria de Souza. Diversidade microbiana e seu potencial biotecnológico em solos da Amazônia Ocidental. *In*: SILVA, Lucielio Manoel da; PEREIRA, Marcos Gervasio; MOREIRA, Fatima Maria de Souza; WADT, Paulo Guilherme Salvador; POLIDORO, José Carlos. (Ed.). **Solos da Amazônia Ocidental: Base da sustentabilidade agrícola e ambiental**. Brasília: Embrapa, 2021. p. 81-99.
- MOSHAFI, Mohammad Hasan *et al.* Antimicrobial activity of *Bacillus* sp. strain FAS 1 isolated from soil. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 24, n. 3, 2011.
- MÓTYÁN, János András; TÓTH, Ferenc; TÓZSÉR, József. Research applications of proteolytic enzymes in molecular biology. **Biomolecules**, v. 3, n. 4, p. 923-942, 2013.
- MS. **Uma Só Saúde**. Ministério da Saúde, 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/u/uma-so-saude>. Acesso em: 13 maio 2024.
- MUNITA, Jose M.; ARIAS, Cesar A. Mechanisms of antibiotic resistance. *In*: KUDVA, I, T.; CORNICK, N. A.; PLUMMER, P. J.; ZHANG, Q.; NICHOLSON, T. L. BANNANTINE, J. P.; BELLAIRE, B. H. (Ed.). **Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogens**, Washington, DC: American Society for Microbiology, 2016. cap. 17, p. 481-511.
- NAIR, Ajay; NGOUAJIO, Mathieu. Soil microbial biomass, functional microbial diversity, and nematode community structure as affected by cover crops and compost in an organic vegetable production system. **Applied Soil Ecology**, v. 58, p. 45-55, 2012.
- NAKAMURA, Fernanda Mancini. **Bioprospeção de bactérias degradadoras de hidrocarbonetos aromáticos isoladas de biocarvão de Terra Preta de Índio da Amazônia Central**. 2014. 128 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.
- NAVAS, Jesús *et al.* Susceptibility to Aminoglycosides and Distribution of aph and aac (3)-XI Genes among *Corynebacterium striatum* Clinical Isolates. **PLoS One**, v. 11, n. 12, p. e0167856, 2016.
- NAVEED, Muhammad *et al.* Protease—a versatile and ecofriendly biocatalyst with multi-industrial applications: an updated review. **Catalysis Letters**, v. 151, p. 307-323, 2021.
- NCCLS. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eighth Edition**. NCCLS document M2-A8. Wayne, Pennsylvania: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2003.

NESME, Joseph *et al.* Large-scale metagenomic-based study of antibiotic resistance in the environment. **Current Biology**, v. 24, n. 10, p. 1096-1100, 2014.

NEŠVERA, Jan; HOCHMANNOVÁ, Jitka; PÁTEK, Miroslav. An integron of class 1 is present on the plasmid pCG4 from gram-positive bacterium *Corynebacterium glutamicum*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 169, n. 2, p. 391-395, 1998.

NEVES, Joao V. Editorial for Special Issue “Alternatives to Antibiotics: Bacteriocins and Antimicrobial Peptides”. **Antibiotics**, v. 11, n. 7, p. 860, 2022.

NICARETA, Cleiton. **Potencial antimicrobiano e toxicológico de *Alternanthera brasiliensis* (L.) Kuntze, Amaranthaceae, e o controle de fungos fitopatogênicos**. 2019. 159 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Tecnológica do Paraná, Pato Branco, 2019.

NICOSIA, Cristiano; DEVOS, Yannick; MACPHAIL, Richard I. European Dark Earth. *In*: NICOSIA, Cristiano; STOOPS, George. **Archaeological Soil and Sediment Micromorphology**. [S. l.]: John Wiley & Sons, 2017. p. 331-343.

NIYONZIMA, Francois N. *et al.* Detergent-compatible amylases produced by fungal species and their applications in detergent industry. **Science of Advanced Materials**, v. 15, n. 5, p. 607-616, 2023.

NOGUEIRA, Hadison Santos *et al.* Antibacterianos: principais classes, mecanismos de ação e resistência. **Revista Unimontes Científica**, v. 18, n. 2, p. 96-108, 2016.

NOUSSAIR, Latifa *et al.* Monomicrobial bone and joint infection due to *Corynebacterium striatum*: literature review and amoxicillin-rifampin combination as treatment perspective. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 38, p. 1269-1278, 2019.

OECD. **Embracing a One Health Framework to Fight Antimicrobial Resistance**. OECD Health Policy Studies, OECD Publishing, Paris, 2023.

OGAKI, Mayara Baptistucci; FURLANETO, Márcia Cristina; MAIA, Luciana Furlaneto. Revisão: Aspectos gerais das bacteriocinas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 18, p. 267-276, 2015.

OKPARA, Michael O. Microbial enzymes and their applications in food industry: a mini-review. **Advances in Enzyme Research**, v. 10, n. 1, p. 23-47, 2022.

OLAWOYE, Babatunde *et al.* Hydrolysis of Starch. *In*: SHARANAGAT, Vijay Singh; SAXENA, Dharmesh Chandra; KUMAR, Kshitiz; KUMAR, Yogesh. (Eds.). **Starch: Advances in Modifications, Technologies and Applications**. [S. l.]: Springer Cham, 2023. p. 83-101.

OLENDER, Alina. Antibiotic resistance and detection of the most common mechanism of resistance (MLSB) of opportunistic *Corynebacterium*. **Chemotherapy**, v. 59, n. 4, p. 294-306, 2014.

OLENDER, Alina. Mechanisms of antibiotic resistance in *Corynebacterium* spp. causing infections in people. *In: PANA, Marina (Ed.). Antibiotic Resistant Bacteria - A Continuous Challenge in the New Millennium, [S. l.]: IntechOpen, 2012. p. 387-402.*

OLIVEIRA, Alberto *et al.* Insight of genus *Corynebacterium*: ascertaining the role of pathogenic and non-pathogenic species. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1937, 2017.

OLIVEIRA, Naiara C. *et al.* Morphological analysis of soil particles at multiple length-scale reveals nutrient stocks of Amazonian Anthrosols. **Geoderma**, v. 311, p. 58-66, 2018.

OLIVEIRA, Marcelo; PEREIRA, Kedina Damiana Silva Pereira Silva; ZAMBERLAM, Cláudia Raquel. Resistência bacteriana pelo uso indiscriminado de antibióticos: uma questão de saúde pública. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 6, n. 11, p. 183-201, 2020.

OSTOS-ORTÍZ, Olga Lucía; ROSAS-ARANGO, Sonia Marcela; GONZÁLEZ-DEVIA, Johanna Lizeth. Aplicaciones biotecnológicas de los microorganismos. **Nova**, v. 17, n. 31, p. 129-163, 2019.

OSTROSKY, Elissa 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, p. 301-307, 2008.

OTSUKA, Yoshihito *et al.* *Corynebacterium resistens* sp. nov., a new multidrug-resistant coryneform bacterium isolated from human infections. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 8, p. 3713-3717, 2005.

OTSUKA, Yoshihito *et al.* Emergence of multidrug-resistant *Corynebacterium striatum* as a nosocomial pathogen in long-term hospitalized patients with underlying diseases. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 54, n. 2, p. 109-114, 2006.

PALHETA, Rosana Antunes *et al.* Enzimas e aplicações biotecnológicas. *In: TEIXEIRA, Maria Fernanda Simas; SILVA, Taciana de Amorim; PALHETA, Rosana Antunes; CARNEIRO, Ana Lúcia Basílio; ATAYDE, Hérlon Mota. (Ed.). Fungos da Amazônia: uma riqueza inexplorada (Aplicações Biotecnológicas). Manaus: Editora da Universidade Federal do Amazonas, 2011. p. 126-153.*

PALIT, Sukanchan. Industrial vs Food Enzymes: Applications and Future Prospects. *In: KUDDUS, Mohammed. (Ed.). Enzymes in Food Technology: Improvements and Innovations. [S. l.]: Springer Singapore, 2018. p. 319-345.*

PANDEY, Poornima; KUILA, Arindam; TULI, Deepak K. Cellulase: An Overview. *In: TULI, Deepak K.; KUILA, Arindam. Current Status and Future Scope of Microbial Cellulases. [S. l.]: Elsevier, 2021. p. 95-113.*

PARK, Sung Hoon *et al.* Properties and applications of starch modifying enzymes for use in the baking industry. **Food Science and Biotechnology**, v. 27, p. 299-312, 2018.

PATEL, Seema *et al.* Cathepsins: Proteases that are vital for survival but can also be fatal. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 105, p. 526-532, 2018.

- PATEL, Sudip; GUPTA, Radhey S. A phylogenomic and comparative genomic framework for resolving the polyphyly of the genus *Bacillus*: Proposal for six new genera of *Bacillus* species, *Peribacillus* gen. nov., *Cytobacillus* gen. nov., *Mesobacillus* gen. nov., *Neobacillus* gen. nov., *Metabacillus* gen. nov. and *Alkalihalobacillus* gen. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, n. 1, p. 406-438, 2020.
- PEREIRA, Gabriela Andrade *et al.* Antimicrobial resistance among Brazilian *Corynebacterium diphtheriae* strains. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, p. 507-510, 2008.
- PEREIRA, Nuno Rocha. Aminoglicosídeos, tetraciclinas, glicilciclinas e cloranfenicol. *In*: OLIVEIRA, Catarina da Luz; CAETANO, Marisa. (Org.). **Manual da Associação Portuguesa de Farmacêuticos Hospitalares sobre Antimicrobianos**. Coimbra: Associação Portuguesa de Farmacêuticos Hospitalares, 2022. p. 38-42.
- PÉREZ-PARRA, Santiago *et al.* Endocarditis infecciosa fatal por *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*. **Revista Chilena de Infectología**, v. 33, n. 2, p. 229-231, 2016.
- PESSOA, Maria Eduarda Alves; SOUSA, Bruna Viana de; NASCIMENTO, Gabriela Maria da Silva. O uso de enzimas na indústria de panificação: uma revisão sistemática. **Cadernos de Ciências da Saúde e da Vida**, 2021.
- PETERSON, S. Brook; BERTOLLI, Savannah K.; MOUGOUS, Joseph D. The central role of interbacterial antagonism in bacterial life. **Current Biology**, v. 30, n. 19, p. R1203-R1214, 2020.
- PIRCALABIORU, Gratiela Gradisteanu *et al.* Bacteriocins in the era of antibiotic resistance: Rising to the challenge. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 2, p. 196, 2021.
- PINTO, Éderson Sales Moreira; DORN, Márcio; FELTES, Bruno César. The tale of a versatile enzyme: Alpha-amylase evolution, structure, and potential biotechnological applications for the bioremediation of n-alkanes. **Chemosphere**, v. 250, p. 126202, 2020.
- POWTHONG, PANNAPA; SUNTORNTHTICHAROEN, PATTRA. Antimicrobial and enzyme activity produced by *Bacillus* spp. isolated from soil. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 9, n. 3, p. 205-210, 2017.
- PUAN, Sheau Ling *et al.* Antimicrobial peptides from *Bacillus* spp. and strategies to enhance their yield. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 107, n. 18, p. 5569-5593, 2023.
- PUTERI, Mega Moeharyono *et al.* The Importance of Saliva Total Protein and a-amylase on Cerebral Palsy Children. **Journal of International Dental and Medical Research**, v. 15, n. 1, p. 323-329, 2022.
- QUEVEDO, Helio Danilo; NISHISAKA, Caroline Sayuri; MENDES, Rodrigo. O microbioma do solo e sua relação com a matéria orgânica. *In*: BETTIOL, Wagner *et al.* (Ed.). **Entendendo a matéria orgânica do solo em ambientes tropical e subtropical**. Brasília: Embrapa, 2023. p. 125-144.

- RAFEEQ, Hamza *et al.* Microbial degradation of environmental pollutants. *In: IQBAL, Hafiz, M. N; BILAL, Muhammad; NGUYEN, Tuan Anh; YASIN, Ghulam. (Ed). Biodegradation and Biodeterioration at the Nanoscale.* [S. l.]: Elsevier, 2022. p. 509-528.
- RAJ, Tirath *et al.* Recent advances in commercial biorefineries for lignocellulosic ethanol production: Current status, challenges and future perspectives. **Bioresource Technology**, v. 344, p. 126292, 2022.
- RAMESH, Adhithi *et al.* Commercial applications of microbial enzymes. *In: ARORA, Naveen Kumar; MISHRA, Jitendra; MISHRA, Vaibhav (Ed.). Microbial Enzymes: Roles and Applications in Industries.* Singapore: Springer, 2020. p. 137-184.
- RAMOS, Juliana Nunes *et al.* Novel mutations in the QRDR region *gyrA* gene in multidrug-resistance *Corynebacterium* spp. isolates from intravenous sites. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 113, p. 589-592, 2020.
- RAMOS, Victoria Tedesco. **Diluição em ágar na detecção de resistência às polimixinas.** 2020. 14 f. Monografia (Graduação) – Bacharelado em Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2020.
- RANJAN, Rahul *et al.* Technological road map of Cellulase: A comprehensive outlook to structural, computational, and industrial applications. **Biochemical Engineering Journal**, v. 198, p. 109020, 2023.
- RAVE, A. F. G *et al.* Biochemical identification techniques and antibiotic susceptibility profile of lipolytic ambiental bacteria from effluents. **Brazilian Journal of Biology**, v. 79, n. 4, p. 555-565, 2018.
- RAWLINGS, Neil D. Twenty-five years of nomenclature and classification of proteolytic enzymes. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics**, v. 1868, n. 2, p. 140345, 2020.
- RAZZAQ, Abdul *et al.* Microbial proteases applications. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 7, n. 110, p. 1-20, 2019.
- REHMAN, Aneela *et al.* Eco-friendly textile desizing with indigenously produced amylase from *Bacillus cereus* AS2. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 11991, 2023.
- RELLER, L. Barth *et al.* Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. **Clinical Infectious Diseases**, v. 49, n. 11, p. 1749-1755, 2009.
- RENOM, Feliu *et al.* Nosocomial outbreak of *Corynebacterium striatum* infection in patients with chronic obstructive pulmonary disease. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 6, p. 2064-2067, 2007.
- RIESENFELD, Christian S.; GOODMAN, Robert M.; HANDELSMAN, Jo. Uncultured soil bacteria are a reservoir of new antibiotic resistance genes. **Environmental Microbiology**, v. 6, n. 9, p. 981-989, 2004.

RIGO, Diane *et al.* Produção microbiológica de enzimas: Uma revisão. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 9232-9254, 2021.

RILEY, Margaret A *et al.* Rethinking the composition of a rational antibiotic arsenal for the 21st century. **Future Medicinal Chemistry**, v. 5, n. 11, p. 1231-1242, 2013.

ROBERTS, Marilyn C *et al.* Characterization of antibiotic-resistant *Corynebacterium striatum* strains. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 30, n. 4, p. 463-474, 1992.

RUEGGER, Marcelo J. S; TAU-K-TORNISIELO, Sâmia M. Cellulase activity of fungi isolated from soil of the Ecological Station of Juréia-Itatins, São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 27, p. 205-211, 2004.

RUIVO, M. de L. P. *et al.* Microbial population and biodiversity in Amazonian Dark Earth soils. In: WOODS, William I.; TEIXEIRA, Wenceslau G.; LEHMANN, Johannes; STEINER, Christoph; WINKLERPRINS, Antoinette; REBELLATO, Lilian (Eds). **Amazonian Dark Earths: Wim Sombroek's Vision**. [S.l.]: Springer, 2009. p. 351-362.

SAKTHIVEL, M *et al.* Optimization of culture conditions for the production of extracellular cellulase from *Corynebacterium lipophiloflavum*. **Journal of Ecobiotechnology**, v. 2, n. 9, 2010.

SALAM, Md Abdus *et al.* Conventional methods and future trends in antimicrobial susceptibility testing. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 30, n. 3, p. 103582, 2023.

SAMBROOK, Joseph; FRITSCH, Edward F.; MANIATIS, Tom. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. 1989.

SANSINENEA, Estibaliz; ORTIZ, Aurelio. Secondary metabolites of soil *Bacillus* spp. **Biotechnology Letters**, v. 33, p. 1523-1538, 2011.

SANTOS, Bruno C *et al.* Seleção de características utilizando algoritmo genético multiobjetivo e k-NN para predição de função de proteína. In: **6th Symposium on Knowledge Discovery, Mining and Learning**, p. 36-43, São Paulo, Brasil, 2018.

SANTOS, Danielle Vieira de Assis *et al.* Antibióticos através da abordagem do mecanismo de resistência bacteriana. **Ciência Atual–Revista Científica Multidisciplinar das Faculdades São José**, v. 11, n. 1, p. 2-14, 2018.

SANTOS, Leonardo da Silva *et al.* Actinobactérias com potencial biotecnológico agrícola isoladas de adubo orgânico fermentado (Bokashi). **Diversitas Journal**, v. 6, n. 4, p. 3866-3881, 2021.

SANTOS, Ramon Mendes; RIBEIRO, Marcos Borges; FREIRE, Songelí Menezes; MEYER, Roberto. Infecção de *Corynebacterium pseudotuberculosis* em humanos. In: COSTA, Silvia Lima (Org.). **Avanços da Pesquisa em Imunologia na Bahia**. Salvador: EDUFBA, 2019. p. 157-162.

- SANTOS, Sandna Larissa Freitas dos *et al.* O papel do farmacêutico enquanto promotor da saúde no uso racional de antibióticos. **Revista Saúde & Ciência Online**, v. 6, n. 1, p. 79-88, 2017.
- SARKAR, Paramita; HALDAR, Jayanta. Glycopeptide antibiotics: mechanism of action and recent developments. *In*: CAPELO-MARTÍNEZ, J.-L.; IGREJAS, G. (Ed.). **Antibiotic Drug Resistance**. [S.l.]: John Wiley & Sons, 2019. p. 73-95.
- SAROJ, Paramjeet; P, Manasa; NARASIMHULU, Korrapati. Biochemical characterization of thermostable carboxymethyl cellulase and  $\beta$ -glucosidase from *Aspergillus fumigatus* JCM 10253. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 194, n. 6, p. 2503-2527, 2022.
- SATYANARAYANA, Tulasi; LITTLECHILD, Jennifer; KAWARABAYASI, Yutaka. **Thermophilic Microbes in Environmental and Industrial Biotechnology: Biotechnology Thermophiles**. [S.l.]: Springer, 2013.
- SCHOEN, Christoph *et al.* Life-threatening infection caused by daptomycin-resistant *Corynebacterium jeikeium* in a neutropenic patient. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, n. 7, p. 2328-2331, 2009.
- SHAFI, Jamil; TIAN, Hui; JI, Mingshan. *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 31, n. 3, p. 446-459, 2017.
- SHANKAR, Ravi; UPADHYAY, Prabhat Kumar; KUMAR, Manish. Protease enzymes: Highlights on potential of proteases as therapeutics agents. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**, v. 27, n. 2, p. 1281-1296, 2021.
- SHARIFF, Malini; ADITI, Aditi; BERI, Kiran. *Corynebacterium striatum*: an emerging respiratory pathogen. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 12, n. 07, p. 581-586, 2018.
- SHARMA, Himanshu *et al.* Purification, characterization and potential detergent industry application of a thermostable  $\alpha$ -amylase from *Bacillus licheniformis* RA31. **Indian Journal of Experimental Biology (IJEB)**, v. 60, n. 05, p. 331-342, 2022.
- SHARMA, Kajal *et al.* Classification and mechanism of bacteriocin induced cell death: a review. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 11, n. 3, p. e3733-e3733, 2021.
- SCHMIDT, Morgan J. *et al.* Dark earths and the human built landscape in Amazonia: a widespread pattern of anthrosol formation. **Journal of Archaeological Science**, v. 42, p. 152-165, 2014.
- SCHMIDT, Morgan J. *et al.* Intentional creation of carbon-rich dark earth soils in the Amazon. **Science Advances**, v. 9, n. 38, p. eadh8499, 2023.
- SIERRA, Josep M *et al.* Relationship between mutations in the *gyrA* gene and quinolone resistance in clinical isolates of *Corynebacterium striatum* and *Corynebacterium amycolatum*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n. 5, p. 1714-1719, 2005.

SILVA, Bruna Catarina Ribeiro *et al.* Isolamento e seleção de micro-organismos produtores de enzimas de interesse comercial. **Scientia Plena**, v. 14, n. 2, 2018.

SILVA, Daniel Rodrigues da *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Citrus sinensis* contra cepa de *Escherichia coli* de derivado cárneo. **Revista Coopex.**, v. 15, n. 01, p. 4523-4532, 2024.

SILVA, Ingrid Reis da. **Compostos antimicrobianos produzidos por *Streptomyces* spp.** 2012. 92 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação Multi-Institucional em Biotecnologia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2012.

SILVA, Lucas C. R. *et al.* A new hypothesis for the origin of Amazonian Dark Earths. **Nature Communications**, v. 12, n. 127, p. 1-11, 2021.

SILVA, Luciano Procópio; CARUSO, Cecília Sulzbacher. A metagenômica na busca de enzimas hidrolíticas bacterianas. **Revista Eletrônica Estácio Saúde**, v. 4, n. 2, p. 193-210, 2015.

SILVA NETO, Mario Pereira da. **Expressão heteróloga e caracterização bioquímica de amilases putativas de bactérias termófilas.** 2020. 78 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, Brasília, 2020.

SILVA, Pablo Teixeira da *et al.* Microencapsulação de probióticos por spray drying: avaliação da sobrevivência sob condições gastrointestinais simuladas e da viabilidade sob diferentes temperaturas de armazenamento. **Ciência Rural**, v. 45, p. 1342-1347, 2015.

SILVA, Taciana Gonçalves; BARBOSA, Fernanda Coutinho Retondaro. Inibição enzimática: uma proposta de atividade experimental. **Experiências em Ensino de Ciências**, v. 14, n. 2, p. 523-530, 2019.

SILVA, Valéria Maria Araújo *et al.* Atividade enzimática de actinobactérias do semiárido. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 08, n. IV, p. 560-572, 2015.

SILVA, Wanessa Braz da; OLIVEIRA, Rodrigo Lira de; PORTO, Tatiana Souza. Monitoramento tecnológico da aplicação de enzimas celulolíticas: panorama mundial e brasileiro. **Revista Geama**, v. 7, n. 2, p. 48-58, 2021.

SINGHAL, Gauri; BHAGYAWANT, Sameer Suresh; SRIVASTAVA, Nidhi. Cellulases through thermophilic microorganisms: Production, characterization, and applications. *In*: TULI, Deepak K.; KUILA, Arindam. **Current Status and Future Scope of Microbial Cellulases.** [S. l.]: Elsevier, 2021. p. 39-57.

SINGH, Ashwina *et al.* Comparative interaction study of amylase and surfactants for potential detergent formulation. **Journal of Molecular Liquids**, v. 261, p. 397-401, 2018.

SINGH, Rachana; SINGH, Aditi; SACHAN, Shweta. Enzymes used in the food industry: Friends or foes?. *In*: KUDDUS, Mohammed. (Ed.). **Enzymes in Food Biotechnology: Production, Applications, and Future Prospects.** [S. l.]: Academic Press, 2019. p. 827-843.

SINGH, Rajendra *et al.* An overview of microbial  $\alpha$ -amylase and recent biotechnological developments. **Current Biotechnology**, v. 11, n. 1, p. 11-26, 2022.

SINGH, Rajendra *et al.* Microbial enzymes: industrial progress in 21st century. **3 Biotech**, v. 6, n. 174, p. 1-15, 2016a.

SINGH, Rajendra *et al.* Microbial proteases in commercial applications. **Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences**, v. 4, n. 3, p. 365-374, 2016b.

SOLANKI, Preeti *et al.* Microbial proteases: ubiquitous enzymes with innumerable uses. **3 Biotech**, v. 11, n. 428, p. 1-25, 2021.

SOLOMON, Dawit *et al.* Indigenous African soil enrichment as a climate-smart sustainable agriculture alternative. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 14, n. 2, p. 71-76, 2016.

SOLTANI, Samira *et al.* Bacteriocins as a new generation of antimicrobials: toxicity aspects and regulations. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 45, n. 1, p. fuaa039, 2021.

SONG, Peng *et al.* Microbial proteases and their applications. **Frontiers in Microbiology**, v. 14, p. 1236368, 2023.

SOUZA, Luma Castro de *et al.* Chemical and physical properties of an anthropogenic dark earth soil from Bragança, Para, Eastern Amazon. **Acta Amazonica**, v. 46, p. 337-344, 2016.

SOUZA, Margaret Cerqueira de. **E se falássemos sobre terra preta?**. 2017. 141 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Antropologia Social, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2017.

SOUZA, Paula Monteiro de; MAGALHÃES, Pérola de Oliveira. Application of microbial  $\alpha$ -amylase in industry-A review. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, p. 850-861, 2010.

SRIVASTAVA, Neha *et al.* Applications of fungal cellulases in biofuel production: advances and limitations. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 82, p. 2379-2386, 2018.

STELLA, Roberto G *et al.* Evolutionary engineering of *Corynebacterium glutamicum*. **Biotechnology Journal**, v. 14, n. 9, p. 1800444, 2019.

SULYMAN, Abdulhakeem Olarewaju; IGUNNU, A.; MALOMO, S. O. Isolation, purification and characterization of cellulase produced by *Aspergillus niger* cultured on *Arachis hypogaea* shells. **Heliyon**, v. 6, n. 12, p. e05668, 2020.

SUN, Kailun *et al.* A review of human and animals exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: Health risk and adverse effects, photo-induced toxicity and regulating effect of microplastics. **Science of the Total Environment**, v. 773, p. 145403, 2021.

SZEMRAJ, Magdalena *et al.* Macrolide, lincosamide, and streptogramin B resistance in lipophilic *Corynebacteria* inhabiting healthy human skin. **Microbial Drug Resistance**, v. 20, n. 5, p. 404-409, 2014.

TAKETANI, Rodrigo Gouvêa *et al.* Bacterial community composition of anthropogenic biochar and Amazonian anthrosols assessed by 16S rRNA gene 454 pyrosequencing. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 104, p. 233-242, 2013.

TANG, Lin *et al.* Simultaneous amperometric determination of lignin peroxidase and manganese peroxidase activities in compost bioremediation using artificial neural networks. **Analytica Chimica Acta**, v. 579, n. 1, p. 109-116, 2006.

TANG, Shizhe *et al.* Overexpression of an endogenous raw starch digesting mesophilic  $\alpha$ -amylase gene in *Bacillus amyloliquefaciens* Z3 by in vitro methylation protocol. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 7, p. 3013-3023, 2020.

TATTA, Eswar Rao *et al.* Bioprospecting of microbial enzymes: current trends in industry and healthcare. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 106, n. 5, p. 1813-1835, 2022.

TAUCH, Andreas *et al.* Insights into the genetic organization of the *Corynebacterium diphtheriae* erythromycin resistance plasmid pNG2 deduced from its complete nucleotide sequence. **Plasmid**, v. 49, n. 1, p. 63-74, 2003.

TAUCH, Andreas *et al.* The 51,409-bp R-plasmid pTP10 from the multiresistant clinical isolate *Corynebacterium striatum* M82B is composed of DNA segments initially identified in soil bacteria and in plant, animal, and human pathogens. **Molecular and General Genetics**, v. 263, p. 1-11, 2000.

TAUCH, Andreas *et al.* The *tetAB* genes of the *Corynebacterium striatum* R-plasmid pTP10 encode an ABC transporter and confer tetracycline, oxytetracycline and oxacillin resistance in *Corynebacterium glutamicum*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 173, n. 1, p. 203-209, 1999.

TEN, Leonid N *et al.* Development of a plate technique for screening of polysaccharide-degrading microorganisms by using a mixture of insoluble chromogenic substrates. **Journal of Microbiological Methods**, v. 56, n. 3, p. 375-382, 2004.

THALMANN, Matthias *et al.* The evolution of functional complexity within the  $\beta$ -amylase gene family in land plants. **BMC Evolutionary Biology**, v. 19, p. 1-18, 2019.

THATOI, Hrudayanath; MOHAPATRA, Sonali; DAS, Swagat Kumar. (Eds.). **Bioprospecting of Enzymes in Industry, Healthcare and Sustainable Environment**. Singapore: The Springer Nature Singapore, 2021.

THOMPSON, Julie D.; HIGGINS, Desmond G.; GIBSON, Toby J. CLUSTAL, W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**, v. 22, n. 22, p. 4673-4680, 1994.

TIWARI, Santosh Kumar *et al.* Probiotics at war against viruses: what is missing from the picture?. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, n. 1877, p. 1-21, 2020.

TORTORA, Gerard J; FUNKE, Berdell R; CASE, Christine L. **Microbiologia**. 12 ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TRIPATHI, Vijay *et al.* **Microbial Genomics in Sustainable Agroecosystems**. Vol. 1. Singapore: Springer Nature, 2019.

TSAI, Siu Mui *et al.* The Microbial World of Terra Preta. *In*: WOODS, William I.; TEIXEIRA, Wenceslau G.; LEHMANN, Johannes; STEINER, Christoph; WINKLERPRINS, Antoinette; REBELLATO, Lilian (Eds). **Amazonian Dark Earths: Wim Sombroek's vision**. [S.l.]: Springer, 2009. p. 299-308.

TSUCHIDA, Yoshiki *et al.* Characterization of a 24-kb plasmid pCGR2 newly isolated from *Corynebacterium glutamicum*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 87, p. 1855-1866, 2010.

TURK, Bengu Gerceker; TURKMEN, Meltem; AYTIMUR, Derya. Antibiotic susceptibility of *Corynebacterium minutissimum* isolated from lesions of Turkish patients with erythrasma. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 65, n. 6, p. 1230-1231, 2011.

UMAIR, Muhammad *et al.* Probiotic-Based Bacteriocin: Immunity Supplementation Against Viruses. An Updated Review. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 1633, 2022.

VANDENBERGHE, Luciana Porto de Souza *et al.* Classification of enzymes and catalytic properties. *In*: SINGH, Sudhir P.; PANDEY, Ashok; SINGHANIA, Reeta Rani; LARROCHE, Christian; LI, Zhi. (Eds.). **Biomass, Biofuels, Biochemicals: Advances in Enzyme Catalysis and Technologies**. [S. l.]: Elsevier, 2020. p. 11-30.

VARJANI, Sunita J *et al.* Synergistic ex-situ biodegradation of crude oil by halotolerant bacterial consortium of indigenous strains isolated from on shore sites of Gujarat, India. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 103, p. 116-124, 2015.

VARJANI, Sunita J; SRIVASTAVA, Vijay Kumar. Green technology and sustainable development of environment. **Renewable Resources Journal**, v. 3, n. 1, p. 244-49, 2015.

VARJANI, Sunita J; UPASANI, Vivek N. Characterization of hydrocarbon utilizing *Pseudomonas* strains from crude oil contaminated samples. **International Journal of Information Science Computing**, v. 6, n. 2, p. 120-127, 2012.

VAZQUEZ-PERTEJO, Maria T. Exames de sensibilidade. **Manual MSD**. 2022. Disponível em: <https://www.msdmanuals.com/pt-br/profissional/doencas-infecciosas/diagnostico-laboratorial-das-doencas-infecciosas/exames-de-sensibilidade>. Acesso em: 26 mar. 2023.

VERMA, A.; BALEKAR, N. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Comprehensive Review. **International Journal of Newgen Research in Pharmacy & Healthcare**, v. 1, n. 1, p. 08-14, 2023.

VERMA, Nitin; KUMAR, Vivek; BANSAL, Mukesh C. Utility of *Luffa cylindrica* and *Litchi chinensis* peel, an agricultural waste biomass in cellulase production by *Trichoderma reesei* under solid state cultivation. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 16, p. 483-492, 2018.

VERMA, Samakshi; KUILA, Arindam. Bioremediation of heavy metals by microbial process. **Environmental Technology & Innovation**, v. 14, p. 100369, 2019.

- VERO, Silvana *et al.* Microbial biopesticides: Diversity, scope, and mechanisms involved in plant disease control. **Diversity**, v. 15, n. 3, p. 457, 2023.
- VERTÈS, Alain A; INUI, Masayuki; YUKAWA, Hideaki. The Biotechnological Potential of *Corynebacterium glutamicum*, from Umami to Chemurgy. *In*: YUKAWA, Hideaki; INUI, Masayuki. (Ed.). ***Corynebacterium glutamicum*: Biology and biotechnology**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2012. p. 1-50.
- VERTÈS, Alain A. Protein secretion systems of *Corynebacterium glutamicum*. *In*: YUKAWA, Hideaki; INUI, Masayuki. (Ed.). ***Corynebacterium glutamicum*: Biology and biotechnology**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2012. p. 351-389.
- VÍLCHEZ, John Segura; CORONADO, Ramiro Navarrete. Enzimas microbianas para producir moléculas con potencial uso terapéutico, el caso del Xilitol. **Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica**, v. 69, n. 600, p. 25-29, 2012.
- VIVEK, K.; SANDHIA, G. S.; SUBRAMANIYAN, S. J. B. A. Extremophilic lipases for industrial applications: A general review. **Biotechnology Advances**, v. 60, p. 108002, 2022.
- WAKSMAN, Selman A. Antagonistic relations of microorganisms. **Bacteriological Reviews**, v. 5, n. 3, p. 231-291, 1941.
- WANG, Cheng-Hua *et al.* Simultaneously improved thermostability and hydrolytic pattern of alpha-amylase by engineering central beta strands of TIM barrel. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 192, p. 57-70, 2020.
- WANI, A. K. *et al.* Metagenomic screening strategies for bioprospecting enzymes from environmental samples. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. **IOP Publishing**, v. 974, n. 2022, p. 012003, 2022.
- WARD, Owen P. Proteases. *In*: MOO-YOUNG, Murray. (Ed.). **Comprehensive Biotechnology**. 2. ed. [S. l.]: Pergamon, 2011. p. 571-582.
- WHO. **A one health priority research agenda for antimicrobial resistance**. Geneva: World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations, United Nations Environment Programme and World Organization for Animal Health, 2023.
- WHO. **WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024**: Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. Geneva: World Health Organization, 2024a.
- WHO. World Health Organization. **One Health**, 2024b. Disponível em: [https://www.who.int/health-topics/one-health#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/one-health#tab=tab_1). Acesso em: 13 maio 2024.
- WHOLEY, Wei-Yun *et al.* Coordinated bacteriocin expression and competence in *Streptococcus pneumoniae* contributes to genetic adaptation through neighbor predation. **PLoS Pathogens**, v. 12, n. 2, p. e1005413, 2016.

WIEDNER, Katja *et al.* Anthropogenic dark earth in northern Germany—The nordic analogue to terra preta de indio in Amazonia. **Catena**, v. 132, p. 114-125, 2014.

WIEGAND, Irith; HILPERT, Kai; HANCOCK, Robert E. W. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. **Nature Protocols**, v. 3, n. 2, p. 163-175, 2008.

WINARTI, Sri; ANGGREINI, Riski Ayu. Development of Liquid Sugar HFS (High Fructose Syrup) from Lesser Yam Tubers Using Enzyme-Mix Inulinase and Amylase. In: **MATEC Web of Conferences. EDP Sciences**, 2022. p. 03004.

WINKLERPRINS, Antoinette MGA. Terra Preta: The Mysterious Soils of the Amazon. In: CHURCHMAN, G. Jock; LANDA, Edward R. (Ed.). **The Soil Underfoot: Infinite possibilities for a finite resource**. 1 ed. Boca Raton: CRC Press, 2014. p. 235-247.

WOODS, William I.; MCCANN, Joseph M. The anthropogenic origin and persistence of Amazonian Dark Earths. In: **Yearbook**. Conference of Latin Americanist Geographers, v. 25, 1999. p. 7-14.

WRIGHT, Gerard D. The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. **Nature Reviews Microbiology**, v. 5, n. 3, p. 175-186, 2007.

WYSOCKI, Piotr; KWASZEWSKA, Anna K.; SZEWCZYK, Eligia M. Oddziaływanie substancji wydzielanych przez lipofilny szczep *Corynebacterium* CDC G1 ZMF 3P13 na inne drobnoustroje bytujące na skórze człowieka. **Medycyna Doswiadczalna i Mikrobiologia**, v. 63, n. 1, p. 45-52, 2011.

XU, Zhiqiang *et al.* Antibacterial activity and mechanism of a novel bacteriocin produced by *Lactiplantibacillus plantarum* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 58, n. 1, p. 181-193, 2023.

YE, Xiaolan; DONG, Fei; LEI, Xiangyang. Microbial resources and ecology-microbial degradation of pesticides. **Natural Resources Conservation and Research**, v. 1, 2018.

YILMAZ, Mirac; SORAN, Haluk; BEYATLI, Yavuz. Antimicrobial activities of some *Bacillus* spp. strains isolated from the soil. **Microbiological Research**, v. 161, n. 2, p. 127-131, 2006.

YIM, Grace; HUIMI WANG, Helena; DAVIES FRS, Julian. Antibiotics as signalling molecules. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 362, n. 1483, p. 1195-1200, 2007.

ZANAROLI, Giulio *et al.* Characterization of two diesel fuel degrading microbial consortia enriched from a non acclimated, complex source of microorganisms. **Microbial Cell Factories**, v. 9, p. 1-13, 2010.

ZHA, Jian *et al.* Biosystem design of *Corynebacterium glutamicum* for bioproduction. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 79, p. 102870, 2023.

- ZHANG, Chun; ANDERSON, Anne J. The gluconeogenic pathway in a soil *Mycobacterium* isolate with bioremediation ability. **Current Microbiology**, v. 66, p. 122-131, 2013.
- ZHANG, Jin Ng *et al.* Application of bacteriocins in food preservation and infectious disease treatment for humans and livestock: A review. **RSC Advances**, v. 10, n. 64, p. 38937-38964, 2020.
- ZHAO, Wenjing *et al.* Antagonism toward the intestinal microbiota and its effect on *Vibrio cholerae* virulence. **Science**, v. 359, n. 6372, p. 210-213, 2018.
- ZHU, Kui *et al.* Probiotic *Bacillus cereus* strains, a potential risk for public health in China. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 182560, 2016.
- ZIMINA, Maria *et al.* Overview of global trends in classification, methods of preparation and application of bacteriocins. **Antibiotics**, v. 9, n. 9, p. 553, 2020.
- ZONG, Xuyan *et al.* Research progress of glucoamylase with industrial potential. **Journal of Food Biochemistry**, v. 46, n. 7, p. e14099, 2022.