



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA**

**VINÍCIUS PAULINO PINTO MENEZES**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA EM EXTRATOS AQUOSOS E  
ORGÂNICOS DE ORGANISMOS MARINHOS.**

**FORTALEZA**

**2021**

VINÍCIUS PAULINO PINTO MENEZES

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA EM EXTRATOS AQUOSOS E  
ORGÂNICOS DE ORGANISMOS MARINHOS.

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia de Pesca do Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Rômulo Farias Carneiro.  
Coorientadora: Dr<sup>a</sup>. Renata Pinheiro Chaves.

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

M513a Menezes, Vinícius Paulino Pinto.  
Avaliação da atividade antibacteriana em extratos aquosos e orgânicos de organismos marinhos / Vinícius Paulino Pinto Menezes. – 2021.  
40 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2021.  
Orientação: Prof. Dr. Rômulo Farias Carneiro.  
Coorientação: Profa. Dra. Renata Pinheiro Chaves.

1. Esponjas. 2. Macroalgas. 3. Atividade antibacteriana. 4. Disco-difusão. I. Título.

CDD 639.2

---

VINÍCIUS PAULINO PINTO MENEZES

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA EM EXTRATOS AQUOSOS DE  
ORGANISMOS MARINHOS.

Monografia apresentada ao Curso de Engenharia de Pesca do Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharelado em Engenharia de Pesca.

Área de concentração: Biotecnologia marinha.

Aprovada em: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Rômulo Farias Carneiro (Orientador)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Dr<sup>a</sup>. Renata Pinheiro Chaves (Coorientadora)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Celso Shiniti Nagano

Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Francisca Gleire Rodrigues Menezes

Universidade Federal do Ceará (UFC)

## AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores Rômulo Farias e Renata Pinheiro, por toda a ajuda durante os experimentos, as dúvidas tiradas, as burocracias e todos os ensinamentos. Muito obrigado mesmo!

Aos professores Celso Nagano e Gleire Rodrigues por terem aceitado fazer parte dessa banca.

Ao professor Alexandre Holanda Sampaio pelo apoio durante toda a graduação e por ter aberto várias portas durante esse caminho.

Aos colegas de laboratório: Andressa, Pedro Arthur, Philippe, Renato, Juliana, Regi, Manoel, Maurílio, Lucas, Jessica, Lívia, Malu (e todos os que eu possivelmente esqueci) por todo o companheirismo e ajuda durante essa jornada.

Ao professor Alexandre Lopes Andrade, do LIBS, por todo o suporte e ensinamento para execução dos experimentos.

Aos amigos de longa data: Lygia, Daniel, Rafaela, Zindanne, Lorena, Tiffany, Lucas, Fernando e Maria Júlia pelo apoio, amizade e palhaçadas durante tanto tempo!

Aos amigos e colegas que fiz na UFC: José Pedro, Ana Kátia, Vitória, Daniel, Albano, Giancarlo, Leonardo, Pedro Anderson, Duda, Winston... obrigado por tudo!

À minha família (tias, tios, avôs, avós, primos...), especialmente minha mãe, meu pai e meu irmão... se não fosse por vocês eu nem estaria escrevendo isso (literalmente). Muito obrigado!

E a todos que me ajudaram diretamente ou indiretamente durante todos esses anos...  
Esse trabalho é de vocês.

“O oceano esconde muitas surpresas sob a sua  
superfície inconstante” (*Yu-Gi-Oh!*, 2000).

## RESUMO

Bactérias são microrganismos de ampla ocorrência nos mais diversos ambientes. Embora muitas espécies bacterianas possuam efeito benéfico para animais e plantas, outras se aproveitam de sistema imunológico debilitado para causar enfermidades nos seres vivos. Além disso, o desenvolvimento de cepas resistentes à antibióticos torna emergencial a bioprospecção por compostos antibacterianos de fontes naturais. Nesse contexto, esponjas e macroalgas marinhas são amplamente estudadas por conta de seus metabólitos que exibem funções antibacterianas, antitumorais, anticâncer, antifúngicas e antivirais. O objetivo deste trabalho foi verificar e avaliar a atividade antibacteriana em extratos aquoso e orgânico de organismos marinhos do litoral cearense. As coletas dos organismos marinhos foram feitas nas praias de Pacheco e Paracuru e no Parque da Pedra da Risca do Meio. Para produção dos extratos aquosos os tecidos biológicos foram macerados com nitrogênio líquido e ressuspendidos em água destilada, seguidos por agitação e centrifugação. Os extratos aquosos também foram submetidos a processo de liofilização para concentração das amostras a 50 mg.mL<sup>-1</sup>. Para produção dos extratos orgânicos os tecidos biológicos foram macerados com nitrogênio líquido e ressuspendidos em acetonitrila a 50%, seguidos por agitação e secagem em centrífuga concentradora à vácuo. Para os ensaios antibiogramas foi utilizado o método de disco-difusão, adaptado de NCCLS (2003), com mensuração do diâmetro dos halos de inibição. As bactérias utilizadas foram *Escherichia coli* ATCC 11303, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. Para os controles negativos foram utilizados água destilada e acetonitrila a 50% evaporada em concentrador a vácuo e para controle positivo foi utilizada a solução ampicilina (50 µg). Dos 65 organismos marinhos coletados, 09 esponjas exibiram atividade antibacteriana em extrato aquoso e 18 organismos exibiram atividade antibacteriana em extrato orgânico, sendo 07 macroalgas e 11 esponjas, contra pelo menos uma das bactérias testadas. As esponjas do gênero *Aplysina* e as espécies *Mycale* sp., *Pseudosuberites* sp. e *Topsentia ophiraphidites* foram os organismos que apresentaram os resultados mais satisfatórios, em ambos os extratos. Dentre as macroalgas apenas o extrato orgânico da *Amansia multifida* apresentou atividade inibitória forte contra alguma das bactérias. Estudos futuros serão realizados para encontrar e isolar os possíveis compostos antibacterianos.

**Palavras-chave:** Esponjas. Macroalgas. Atividade antibacteriana. Disco-difusão.

## ABSTRACT

Bacteria are microorganisms of wide occurrence in most diverse environments. Although many bacterial species have beneficial effects for animals and plants, others take advantage of a weakened immune system to cause illness in living organisms. Furthermore, development of antibiotic-resistant strains makes bioprospecting for antibacterial compounds from natural sources urgent. In this context, sponges and marine macroalgae are widely studied because of their metabolites that show antibacterial, antitumor, anticancer, antifungal and antiviral functions. This study aimed to verify and evaluate antibacterial activity in aqueous and organic extracts of marine organisms from the coast of Ceará. Marine organisms were collected on beaches of Pacheco and Paracuru and in Parque da Pedra da Risca do Meio. For production of aqueous extracts, biological tissues were macerated with liquid nitrogen and resuspended in distilled water, followed by agitation and centrifugation. For production of organic extracts, biological tissues were macerated with liquid nitrogen and resuspended in 50% acetonitrile, followed by agitation and drying in a vacuum concentrating centrifuge. For antibiogram assays, disc-diffusion method was used, adapted from NCCLS (2003), with measurement of diameter of inhibition zones. Bacteria used were *Escherichia coli* ATCC 11303, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. For negative controls, distilled water and 50% acetonitrile evaporated in a vacuum concentrator were used, and for positive control ampicillin (50 µg) was used. Of the 65 marine organisms collected, 09 sponges exhibited antibacterial activity in aqueous extract and 18 organisms exhibited antibacterial activity in organic extract, 07 macroalgae and 11 sponges, against at least one of bacteria tested. *Aplysina* genus sponges and *Mycale* sp., *Pseudouberites* sp. and *Topsentia ophiraphidites* were the organisms that presented most satisfactory results, in both extracts. Among the macroalgae, only organic extract of *Amansia multifida* showed strong inhibitory activity against some of bacteria. Future researches will be performed to find and isolate possible antibacterial compounds.

**Keywords:** Sponges. Macroalgae. Antibacterial activity. Disc-diffusion.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Morfologia das bactérias observadas através de microscopia óptica. ....	10
Figura 2 - Exemplo de filetagem incorreta do pescado, sem a utilização de luvas. ....	12
Figura 3 - Exemplos de macroalgas marinhas. ....	14
Figura 4 - Exemplos de esponjas marinhas. ....	15
Figura 5 - Resultado do ensaio antibiograma por disco-difusão dos extratos aquosos de organismos marinhos em diferentes concentrações contra <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Staphylococcus epidermidis</i> . ....	25
Figura 6 - Resultado do ensaio antibiograma por disco-difusão dos extratos orgânicos de organismos marinhos em diferentes concentrações contra <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Staphylococcus epidermidis</i> . ....	26

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Organismos marinhos coletados na Praia do Pacheco, Ceará. ....	17
Tabela 2 - Organismos marinhos coletados na Praia de Paracuru, Ceará .....	18
Tabela 3 - Organismos marinhos coletados no Parque da Pedra da Risca do Meio, Ceará. .....	19
Tabela 4 - Resultado do ensaio antibiograma por disco-difusão dos extratos aquosos de organismos marinhos – tamanho médio dos halos de inibição, em milímetros. .....	22
Tabela 5 - Resultado do ensaio antibiograma por disco-difusão dos extratos orgânicos de organismos marinhos – tamanho médio dos halos de inibição, em milímetros. ....	23
Tabela 6 - Resultado do ensaio antibiograma por disco-difusão dos extratos orgânicos de organismos marinhos – tamanho médio dos halos de inibição, em milímetros. ....	24

## SUMÁRIO

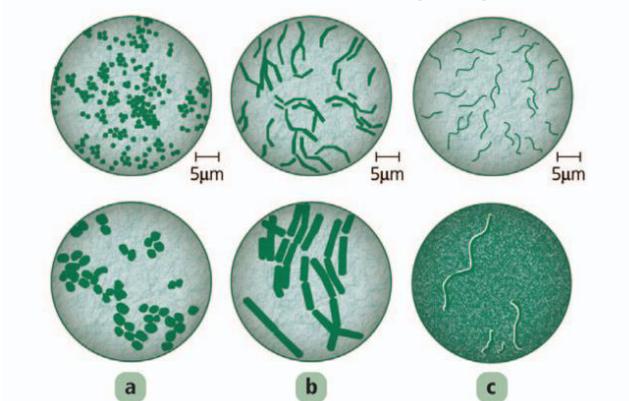
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>1.1</b>	<b>Bactérias</b> .....	10
<b>1.1.1</b>	<i>Escherichia coli</i> .....	11
<b>1.1.2</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	11
<b>1.1.3</b>	<i>Staphylococcus epidermidis</i> .....	12
<b>1.2</b>	<b>Compostos bioativos marinhos</b> .....	13
<b>1.2.1</b>	<i>Macroalgas marinhas</i> .....	13
<b>1.2.2</b>	<i>Esponjas</i> .....	14
<b>2</b>	<b>Objetivo principal</b> .....	16
<b>2.1</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	16
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	17
<b>3.1</b>	<b>Coleta dos organismos marinhos</b> .....	17
<b>3.2</b>	<b>Extração do material biológico</b> .....	19
<b>3.2.1</b>	<i>Extração aquosa</i> .....	19
<b>3.2.2</b>	<i>Extração orgânica</i> .....	20
<b>3.3</b>	<b>Ativação das bactérias</b> .....	20
<b>3.4</b>	<b>Ensaio antibiograma</b> .....	20
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	22
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	33
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	34

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Bactérias

Bactérias são microrganismos unicelulares procariontes que possuem uma variedade de estruturas e arranjos, desde formas lineares a espirais (FIGURA 1). Estão presentes nos mais diferentes e diversos habitats: no solo, nas árvores, em ambientes extremos como desertos, águas com elevada temperatura e salinidade, além de desenvolverem relações simbióticas com organismos vivos (CARVALHO, 2010).

Figura 1 – Morfologia das bactérias observadas através de microscopia óptica.



Fonte: Microbiologia Básica (CARVALHO, 2010).

Elas possuem importância significativa nos processos de ciclagem dos nutrientes, atuando na fixação de nitrogênio atmosférico a ser assimilado pelos vegetais na forma de nitrato e na decomposição de matéria orgânica. Além dos organismos vegetais, estes microrganismos também exercem um papel relevante na proteção e manutenção da saúde dos animais (ARAGUAIA, 2007).

Na pele, por exemplo, atuam na proteção contra a fixação de bactérias patogênicas. Já no intestino humano podem ser encontradas bactérias participando de processos do sistema imunológico, na produção de proteínas e vitaminas, na degradação de metabólitos e na proteção contra outras bactérias malélicas que possam causar infecções graves. Entretanto, apesar dos benefícios que possam oferecer aos seres vivos, também é possível que estes microrganismos desencadeiem intoxicações ou infecções, oriundas de lesões corporais, baixa qualidade alimentar ou sistema imunológico debilitado (SANTOS, 2016).

### **1.1.1 *Escherichia coli***

Dentre alguns destes microrganismos, destaca-se *Escherichia coli*, uma bactéria na forma de bacilo, ou bastonete, gram-negativa que está naturalmente presente no intestino de humanos e animais. A maioria das cepas de *E. coli* não oferecem prejuízo ao hospedeiro e são um componente importante do trato gastrointestinal de seres humanos saudáveis, por produzirem vitamina K<sub>2</sub> (BENTLEY; MEGANATHAN, 1982) e por impedirem a fixação de bactérias maléficas na parede do intestino (REID; HOWARD; GAN, 2001).

Esse microrganismo coloniza o trato gastrointestinal de bebês poucas horas após seu nascimento. Geralmente, *E. coli* e seu hospedeiro humano coexistem em boa saúde, com benefício mútuo por décadas. Todavia, algumas cepas de esta bactéria são patogênicas, ou seja, elas podem causar alguma enfermidade, caso invadam outros órgãos ou fluidos corpóreos (sangue e urina), como diarreia, infecção urinária e septicemia (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004).

Existem várias cepas altamente adaptadas que adquiriram atributos de virulência específicos, o que confere uma capacidade aumentada de adaptação a novos nichos e permite que eles causem um amplo espectro de doenças (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004).

Os patótipos de *E. coli*, que podem causar diarreia, podem ser transmitidos através de água ou comida infectada e através de contato com animais e pessoas infectadas (CDC, 2014). Algumas estirpes são frequentemente isoladas de alimentos, podendo-se suspeitar do contato destes com material contaminado por fezes em alguma fase da sua produção (VIEIRA; SILVA; MORAIS, 1982).

### **1.1.2 *Staphylococcus aureus***

Outra espécie bastante conhecida é *Staphylococcus aureus*, uma cepa bacteriana esférica, do grupo dos cocos gram-positivos, agrupados em um arranjo similar a cachos de uva, frequentemente encontrada na pele e nas fossas nasais de pessoas saudáveis. Contudo, sua presença em excesso pode provocar doenças, que vão desde simples infecções, como acnes, celulites e furúnculos, até infecções mais graves, como meningite, pneumonia e septicemia (SANTOS, 2007).

Na indústria de processamento e beneficiamento do pescado, a deterioração rápida do alimento pode estar relacionada tanto à composição química da espécie (teor de água no músculo, concentração de proteínas e gorduras) quanto à ação de microrganismos (TAVARES;

GONÇALVES, 2011). Por estar naturalmente presente na pele humana, *S. aureus* pode ser um potencial contaminador do pescado, caso seja manipulado sem a higienização adequada do funcionário (FIGURA 2), dos equipamentos e dos utensílios de corte (ALBUQUERQUE; VIEIRA; VIEIRA, 2006).

Figura 2 – Exemplo de filetagem incorreta do pescado, sem a utilização de luvas.



Fonte: Ruraltins, 2016.

Entre as infecções hospitalares, as sepses por *S. aureus* são responsáveis por alta morbidade e mortalidade (MOREIRA *et al.*, 1998).

### ***1.1.3 Staphylococcus epidermidis***

A bactéria *Staphylococcus epidermidis* é caracterizada como uma bactéria comensal, encontrada normalmente na pele e mucosas humanas, e como um patógeno oportunista (MACK *et al.*, 2006; OTTO, 2009; BECKER *et al.*, 2014).

Dentre os microrganismos, as bactérias são as principais causadoras de doenças transmitidas por alimentos (DTA), responsáveis por mais de 90% desses eventos. Dentre as DTAs, a intoxicação estafilocócica é uma das mais comuns, causada pela ingestão de toxinas pré-formadas no alimento. Os principais sintomas relacionados a este tipo de intoxicação incluem náuseas, vômitos, câimbras abdominais, diarreia e sudorese, podendo ser bastante agudos, dependendo da sensibilidade do indivíduo à toxina, da quantidade do alimento ingerido e da concentração de toxina no alimento (PERESI *et al.*, 2004).

No Brasil, estudos da década de 1990 já revelavam que ambos os estafilococos, tanto *S. aureus* como *S. epidermidis*, mostram-se resistentes à penicilina G, ampicilina e amoxicilina em mais de 70% das cepas isoladas, tanto em comunidade como em ambiente

hospitalar, não sendo mais indicado o uso destes antibióticos para o tratamento de infecções estafilocócicas (DUARTE *et al.*, 1994; PINTO *et al.*, 1996; SADER, 1998; SANTOS FILHO *et al.*, 1994).

Em resposta ao aumento no número de cepas resistentes a fármacos, os compostos bioativos marinhos são cada vez mais estudados quanto às suas propriedades antibacterianas, antifúngicas e anticâncer, podendo levar à produção de novos medicamentos contra várias doenças bacterianas graves (LACERDA, 2015).

## **1.2 Compostos bioativos marinhos**

Os compostos bioativos são moléculas que podem ter origem sintética ou natural capazes de exercer atividades biológicas, auxiliando no combate terapêutico contra diversos patógenos. Esses compostos podem ser provenientes do metabolismo primário ou secundário dos organismos vivos. Os metabólitos primários são compostos essenciais para o crescimento, desenvolvimento e reprodução dos organismos, como ácidos graxos, aminoácidos e polissacarídeos. Já os metabólitos secundários são substâncias que não estão relacionadas diretamente na manutenção do organismo, mas são importantes mediadores de interações ecológicas, como terpenos, alcaloides e compostos fenólicos (PEÑA *et al.*, 2016).

Os organismos marinhos são uma fonte promissora de produtos naturais e compostos bioativos. Os oceanos representam mais de 70% da superfície terrestre e abrigam uma grande biodiversidade de organismos, que por sofrerem pressões e influências ambientais diferentes dos organismos terrestres, apresentam compostos com características únicas (PEÑA *et al.*, 2016). Dentre os organismos marinhos no litoral cearense há uma grande variedade de espécies de macroalgas marinhas e esponjas, que podem ser exploradas e avaliadas em relação a possível atividade antibacteriana.

### **1.2.1 Macroalgas marinhas**

Dentro deste grupo destaca-se o extenso grupo das macroalgas que inclui algas verdes (divisão Chlorophyta), algas marrons ou pardas (Phaeophyta) e algas vermelhas (Rhodophyta), de acordo com os pigmentos que possuem (KHAN *et al.*, 2009; DAPPER *et al.*, 2014).

As macroalgas (FIGURA 3) são encontradas em uma variedade de nichos ecológicos, e assim, nas mais diversas condições ambientais em que estão submetidas, como

variações de intensidade de luz, concentrações de oxigênio e dióxido de carbono ao longo da coluna d'água. Com isso, obtiveram uma adaptação para a sobrevivência, incluindo a biossíntese de vários tipos de substâncias e metabólitos secundários (CARDOZO, *et al.*, 2007).

Figura 3 – Exemplos de macroalgas marinhas.



Fonte: Compilação do autor<sup>1</sup>. Legenda: A – *Caulerpa prolifera*; B – *Solieria filiformis*; C – *Sargassum vulgare*.

A partir das macroalgas, foram isolados agentes terapêuticos naturais que incluem classes de compostos como, por exemplo, terpenóides, ácido ribonucleico, proteínas, carboidratos e lipídios, com as mais diversas atividades biológicas: antibacterianas, antioxidantes, antifúngicas, antimaláricas, antitumorais e anti-inflamatórias, entre outras (FUSETANI, 2000; MAYER, *et al.*, 2009; MAYER, *et al.*, 2011; MAYER, *et al.*, 2017).

### 1.2.2 Esponjas

Os recifes são ecossistemas de grande biodiversidade encontrados em regiões tropicais, principalmente os recifes de corais e os recifes de arenito, que são habitados por uma diversidade de organismos desde invertebrados como esponjas, cnidários, moluscos, equinodermos e ascídias até vertebrados e no Ceará são encontradas regiões de recifes de arenito (CASTRO; PIRES, 2001; KNOWLTON, 2001).

Os organismos que habitam essas regiões estão constantemente expostos à variação climática devido às condições de maré, à dessecação, às altas temperaturas e a elevada competitividade por alimento e por substrato (BAKER *et al.*, 2004). Essas condições levam os organismos a ter uma diversidade de mecanismos para conseguir sobreviver, mecanismos os quais envolvem produção de moléculas com um alto potencial biotecnológico (McCOOK; JOMPA; DIAZ-PULIDO, 2001; PALMER; MODI; MYDLARZ, 2009).

<sup>1</sup> Montagem de imagens coletadas dos sites: (A) <http://www.marinespecies.org>; (B) <https://www.seaweed.ie>; (C) <https://marineforests.com>.

Esponjas marinhas (FIGURA 4) são animais sésseis que apresentam uma variedade de microrganismos a elas associados. Estima-se que de 40 a 60 % da biomassa desse organismo corresponda a comunidades microbianas (HILL, 2004). Por não apresentarem mobilidade, as esponjas se alimentam por meio de filtração e, ao bombearem grandes volumes de água para seu interior, por meio do sistema aquífero, elas captam também as bactérias na água ao redor, e, conseqüentemente, essas bactérias podem passar a fazer parte da microbiota desse organismo.

Figura 4 – Exemplos de esponjas marinhas.



Fonte: Compilação do autor.<sup>2</sup> **A** – *Aplysina fulva*; **B** – *Tedania ignis*; **C** – *Topsentia ophiraphidites*.

As esponjas estão constantemente expostas a situações potencialmente nocivas. Para evitar a predação, os microrganismos associados exercem um papel de defesa química, através da produção de metabólitos secundários e toxinas (AYDOS, 2016). Alguns destes organismos aquáticos já foram estudados quanto às propriedades de suas moléculas em possuir atividades como antibacterianas, imunomoduladoras, antifúngicas, anti-inflamatórias, anticancerígenas, antimicrobianas, neuroprotetoras, analgésicas e antimaláricas (MALVE, 2016).

---

<sup>2</sup> Montagem de imagens coletadas dos sites: (A) <https://spongeguide.uncw.edu>; (B) <https://www.istockphoto.com>; (C) <https://spongeguide.uncw.edu>.

## **2 Objetivo principal**

O objetivo do trabalho foi avaliar o potencial antibacteriano de extratos preparados a partir de organismos marinhos coletados no litoral do Ceará.

### **2.1 Objetivos específicos**

- Avaliar a atividade antibacteriana de extratos aquosos preparados a partir de organismos marinhos;
- Avaliar a atividade antibacteriana de extratos orgânicos preparados a partir de organismos marinhos com acetonitrila a 50%;
- Comparar os efeitos de extratos aquosos e orgânicos frente a três espécies de bactérias.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Coleta dos organismos marinhos

As macroalgas e as esponjas marinhas foram coletadas nas praias do Pacheco e Paracuru, no litoral cearense. Além disso, foram realizadas coletas por meio de mergulho autônomo no Parque da Pedra da Risca do Meio, em Fortaleza.

O material biológico foi cuidadosamente extraído do substrato rochoso com auxílio de instrumentos cortantes para que as características morfológicas não fossem alteradas e para que o trabalho de identificação das espécies não fosse prejudicado. Os organismos coletados (TABELAS 1, 2, 3) foram acondicionados individualmente em tubos plásticos e mantidos resfriados em uma caixa de isopor até que fossem transportados para o Laboratório de Biotecnologia Marinha (BioMar-Lab) no Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará.

Todas as coletas foram autorizadas e certificadas pela instituição ambiental responsável SISBIO (Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade, ID: 33913-8). Em laboratório, as algas foram identificadas através do uso de chaves dicotômicas e as esponjas identificadas junto ao Departamento de Zoologia da Universidade Federal de Pernambuco.

Tabela 1 – Organismos marinhos coletados da Praia do Pacheco, Ceará. (Continua).

<b>Tipo de Organismo</b>	<b>Filo ou Ordem</b>	<b>Espécies</b>	
Ascídias	Aplousobranchia	<i>Didemnum galacteum</i>	
		<i>Didemnum ligulum</i>	
Esponjas Marinhas	Dictyoceratida	<i>Ircinia felix</i>	
	Haplosclerida	<i>Amphimedon viridis</i>	
		<i>Haliclona implexiformis</i>	
	Verongiida	<i>Aplysina fulva</i>	
Macroalgas Marinhas	Chlorophyta	<i>Caulerpa cupressoides</i>	
		<i>Caulerpa prolifera</i>	
		<i>Caulerpa racemosa</i>	
		<i>Caulerpa sertularioides</i>	
			<i>Ulva fasciata</i>
			<i>Ulva lactuca</i>
	Phaeophyta		<i>Dictyopteris delicatula</i>
			<i>Lobophora variegata</i>
	Rhodophyta		<i>Amansia multifida</i>
			<i>Botryocladia occidentalis</i>
		<i>Cryptonemia crenulata</i>	

Tabela 1 – Organismos marinhos coletados na Praia do Pacheco, Ceará (Continuação).

<b>Tipo de Organismo</b>	<b>Filo ou Ordem</b>	<b>Espécies</b>
Macroalgas Marinhas	Rhodophyta	<i>Cryptonemia</i> sp.
		<i>Gracilaria domingensis</i>
		<i>Gracilariopsis sjoestedtii</i>
		<i>Halymenia</i> sp.
		<i>Hypnea musciformis</i>
		<i>Osmundaria obtusiloba</i>
		<i>Pterocladia capillacea</i>
		<i>Solieria filiformis</i>

Fonte: Próprio autor.

Tabela 2 – Organismos marinhos coletados na Praia de Paracuru, Ceará.

<b>Tipo de Organismo</b>	<b>Filo ou Ordem</b>	<b>Espécies</b>
Esponjas Marinhas	Chondrillida	<i>Chondrilla caribensis</i>
	Clionaida	<i>Placospongia</i> sp.
	Haplosclerida	<i>Haliclona caerulea</i>
	Poecilosclerida	<i>Tedania ignis</i>
	Tetractinellida	<i>Cinachyrella alloclada</i>
Macroalgas Marinhas	Chlorophyta	<i>Anadyomene stellata</i>
		<i>Codium isthmocladum</i>
		<i>Dictyosphaeria cavernosa</i>
		<i>Enteromorpha prolifera</i>
		<i>Valonia aegagropila</i>
	Phaeophyta	<i>Dictyota dichotoma</i>
		<i>Dictyota mertensii</i>
		<i>Padina gymnospora</i>
		<i>Sargassum vulgare</i>
		<i>Spatoglossum schroederi</i>
	Rhodophyta	<i>Acanthophora spicifera</i>
		<i>Bryothamnion seaforthii</i>
		<i>Bryothamnion triquetum</i>
		<i>Digenea simplex</i>
		<i>Gelidiella acerosa</i>
Rhodophyta	<i>Gracilaria ferox</i>	
	<i>Gracilaria ramosíssima</i>	
	<i>Gracilaria wrightii</i>	
	<i>Meristiella echinocarpum</i>	
	<i>Ochtodes seundiramea</i>	

Fonte: Próprio autor.

Tabela 3 – Organismos marinhos coletados no Parque da Pedra da Risca do Meio, Ceará.

<b>Tipo de Organismo</b>	<b>Filo ou Ordem</b>	<b>Espécies</b>
Eponjas Marinhas	Agelasida	<i>Agelas</i> sp.
	Dictyoceratida	<i>Ircinia strobilina</i>
	Haplosclerida	<i>Amphimedon compressa</i>
		<i>Callyspongia vaginalis</i>
		<i>Niphates erecta</i>
	Poecilosclerida	<i>Clathria nicoleae</i>
		<i>Mycale</i> sp.
	Suberitida	<i>Pseudosuberites</i> sp.
		<i>Topsentia ophiraphidites</i>
	Tetractinellida	<i>Erylus formosus</i>
		<i>Geodia</i> sp.
	Verongiida	<i>Aiolochoxia crassa</i>
		<i>Aplysina cauliformis</i>
<i>Aplysina fistularis</i>		
<i>Aplysina lactuca</i>		

Fonte: Próprio autor.

### 3.2 Extração do material biológico

#### 3.2.1 Extração aquosa

Eponjas e macroalgas marinhas foram maceradas em almofariz com nitrogênio líquido até a formação de um pó fino. O tecido macerado foi utilizado para extração de moléculas em água destilada na proporção 1:3 (peso/volume) para macroalgas e 1:2 para esponjas. Os extratos brutos líquidos transferidos para tubos plásticos de 15 mL.

O extrato líquido foi submetido à agitação a 170 rpm por um período 4 horas com o objetivo de extrair uma maior quantidade de moléculas e, após a extração, os tubos foram submetidos a centrifugação a 9000 xg durante 15 minutos. Os sobrenadantes foram transferidos para novos tubos e mantidos em freezer a -20°C até uso posterior nos testes antibacterianos.

Uma alíquota de 1 mL foi separada para processo de liofilização. O material seco foi solubilizado em água deionizada, até atingir a concentração de 50 mg.mL<sup>-1</sup>, para utilização nos testes antibacterianos, a fim de comparar os efeitos do aumento da concentração sobre o tamanho dos halos de inibição. A utilização dos tecidos de organismos marinhos para exploração científica é autorizada e certificada pela instituição ambiental responsável SISGEN (Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado, ID: AC14AF9, A9D15EA, A1792FE, AC71058, A625FEE).

### 3.2.2 Extração orgânica

Esponjas e macroalgas marinhas foram maceradas em almofariz utilizando nitrogênio líquido até a formação de um pó fino. Para a extração das moléculas foi utilizada acetonitrila a 50% na proporção 1:3 (peso/volume) para as macroalgas e 1:2 para as esponjas.

Os extratos brutos foram submetidos a agitação constante a 170 rpm durante 4 horas. Dos extratos brutos foram aliqüotados 2 mL para processo de remoção da acetonitrila e concentração das amostras através de evaporação em centrífuga concentradora à vácuo (Labconco, MO, EUA) a 35°C, por aproximadamente 2 horas. Os extratos orgânicos foram transferidos para tubos novos e armazenados em freezer a -20 °C até uso posterior.

### 3.3 Ativação das bactérias

Previamente ao ensaio antibiograma, realizou-se a ativação das bactérias. As cepas utilizadas foram *Escherichia coli* ATCC 11303, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, obtidas junto ao Laboratório Integrado de Biomoléculas (LIBS), no Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará.

Com auxílio de alças plásticas descartáveis, colônias bacterianas isoladas foram selecionadas a partir de cultivos em placas de Petri, contendo ágar TSA (Sigma Aldrich, MO, EUA). As colônias foram imersas, sob leve agitação, em tubos de ensaio contendo cerca de 15 mL de meio Tryptic Soy Broth (TSB, Sigma Aldrich, MO, EUA), um meio de cultura líquido propício para o crescimento das cepas utilizadas.

Todo o procedimento foi realizado dentro de uma cabine bacteriológica (Airstream ESCO, PA, EUA) para evitar contaminação dos materiais, meios de cultura e bactérias. Os tubos de ensaio foram levados para uma incubadora (Panasonic, EUA) onde permaneceram por cerca de 18 horas a uma temperatura média de 37 °C.

### 3.4 Ensaio antibiograma

A concentração das bactérias foi ajustada para  $2 \times 10^8$  células.mL<sup>-1</sup>, na escala 0,5 de McFarland, pelo método de diluição utilizando espectrofotômetro para calcular a absorvância a um comprimento de onda de 620 nm, de acordo com as curvas de calibração determinada para cada cepa. Após o ajuste da densidade óptica, 100 µL das bactérias foram

aplicados em placas de Petri contendo ágar TSA (Sigma Aldrich, MO, USA) por método de *spread-plate* ou espalhamento.

Os testes foram realizados em triplicata seguindo os métodos recomendados pelo NCCLS para testes de sensibilidade por disco-difusão da 8ª edição com pequenas modificações (NCCLS, 2003).

As amostras e controles negativos foram mantidos em luz ultravioleta por 15 minutos para eliminação de qualquer contaminante. Sete discos virgens e estéreis foram colocados na superfície da placa de ágar semeada com as bactérias já ajustadas. Em cada disco foram aplicados 10 µL das amostras de extratos incubadas em radiação ultravioleta.

Alíquotas de água destilada e de acetonitrila a 50% evaporada na centrífuga concentradora à vácuo foram consideradas como controles negativos, sendo aplicados 10 µL em disco estéril. O antibiótico ampicilina (10 mg.mL<sup>-1</sup>) foi utilizado como controle positivo, no volume de 5 µL em disco estéril para a concentração final de 50 µg.

As placas com os discos foram incubadas em estufa a 37°C por 20 h, para posterior avaliação do tamanho do halo de inibição. Os diâmetros dos halos de inibição foram mensurados utilizando uma régua milimetrada, incluindo o diâmetro do disco. Os halos de inibição foram avaliados como fracos (7 a 11 mm), moderados (12 a 16 mm) ou fortes (maiores que 16 mm), conforme Monks *et al.* (2002).

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos testes antibacterianos de extratos aquosos e orgânicos estão expressos nas Tabelas 4, 5 e 6. Dos 65 organismos marinhos coletados, 09 extratos aquosos de esponjas exibiram atividade contra pelo menos uma das cepas analisadas e 18 extratos orgânicos, de 07 macroalgas e de 11 esponjas, exibiram atividade contra pelo menos uma das cepas analisadas. Tanto os extratos aquosos como os extratos orgânicos foram mais eficazes contra as bactérias gram-positivas.

Tabela 4 – Resultado do ensaio antibiograma por disco-difusão dos extratos aquosos de organismos marinhos – tamanho médio dos halos de inibição, em milímetros.

Tipo de Organismo	Espécie	Concentração da amostra (mg.mL <sup>-1</sup> )	Cepas bacterianas		
			<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>
Esponjas Marinhas	<i>Amphimedon compressa</i>	25	08	08	08
	<i>Aplysina fistularis</i>	7,9	10	-	12
	<i>Aplysina fulva</i>	17,9	10	-	12
	<i>Aplysina lactuca</i>	15	-	-	10
	<i>Ircinia felix</i>	20,3	-	-	08
	<i>Mycale</i> sp.	5,3	-	08	08
	<i>Pseudosuberites</i> sp.	15	10	-	12
	<i>Tedania ignis</i>	5,3	-	14	10
	<i>Topsentia ophiraphidites</i>	22,5	-	14	10
Controle Positivo	Ampicilina	10	20	22	23
Controle Negativo	Água destilada	-	-	-	-

Fonte: Próprio autor. No disco foi usado 5 µL de ampicilina (50 µg) e 10 µL das amostras e do controle negativo.

Em testes padronizando a concentração dos extratos aquosos em 50 mg.mL<sup>-1</sup> (TABELA 5) obteve-se um aumento significativo no tamanho do halo de inibição em comparação ao teste anterior, principalmente contra a bactéria *Staphylococcus aureus*, das esponjas *Aplysina fistularis*, *Aplysina fulva*, *Aplysina lactuca*, *Pseudosuberites* sp. e *Topsentia ophiraphidites*.

Além disso, fora observado um aumento do tamanho do halo de inibição de *Pseudosuberites* sp. contra *E. coli*. Contudo, houve redução da atividade inibitória de *Tedania ignis* sobre *S. aureus*, além de perda de atividade de quase todas as amostras contra *S. epidermidis*.

Tabela 5 – Resultado do ensaio antibiograma por disco-difusão dos extratos aquosos de organismos marinhos – tamanho médio dos halos de inibição, em milímetros.

Tipo de Organismo	Espécie	Concentração da amostra (mg.mL <sup>-1</sup> )	Cepas bacterianas		
			<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>
E esponjas Marinhas	<i>Amphimedon compressa</i>	50	08	09	08
	<i>Aplysina fistularis</i>	50	10	14	-
	<i>Aplysina fulva</i>	50	09	11	-
	<i>Aplysina lactuca</i>	50	-	08	-
	<i>Ircinia felix</i>	50	-	09	-
	<i>Mycale</i> sp.	50	07	09	08
	<i>Pseudosuberites</i> sp.	50	15	18	-
	<i>Tedania ignis</i>	50	-	11	-
	<i>Topsentia ophiraphidites</i>	50	-	16	09
Controle Positivo	Ampicilina	10	20	22	23
Controle Negativo	Água destilada	-	-	-	-

Fonte: Próprio autor. No disco foi usado 5 µL de ampicilina (50 µg) e 10 µL das amostras (500 µg) e do controle negativo.

Nos ensaios antibiogramas utilizando extratos orgânicos (TABELA 6) se observa atividade inibitória de macroalgas contra *S. aureus* e *S. epidermidis*, principalmente o extrato de *Amansia multifida*, que exibiu um halo bastante expressivo de 24 milímetros contra *S. aureus*.

Em relação às esponjas marinhas, o gênero *Aplysina* concentrou a maior parte dos resultados positivos contra todas as cepas, com halos de inibição variando de 08 a 23 milímetros de diâmetro. *Mycale* sp. e *T. ophiraphidites* também apresentaram aumento significativo no

tamanho de seus halos em comparação com os testes utilizando extratos aquosos. O extrato orgânico de *Pseudosuberites* sp. não exibiu atividade contra *S. aureus*.

Nenhum dos controles negativos utilizados exibiu halos de inibição. A formação dos halos de algumas amostras pode ser observada nas Figuras 5 e 6.

Tabela 6 – Resultado do ensaio antibiograma por disco-difusão dos extratos orgânicos de organismos marinhos – tamanho médio dos halos de inibição, em milímetros. (Continua).

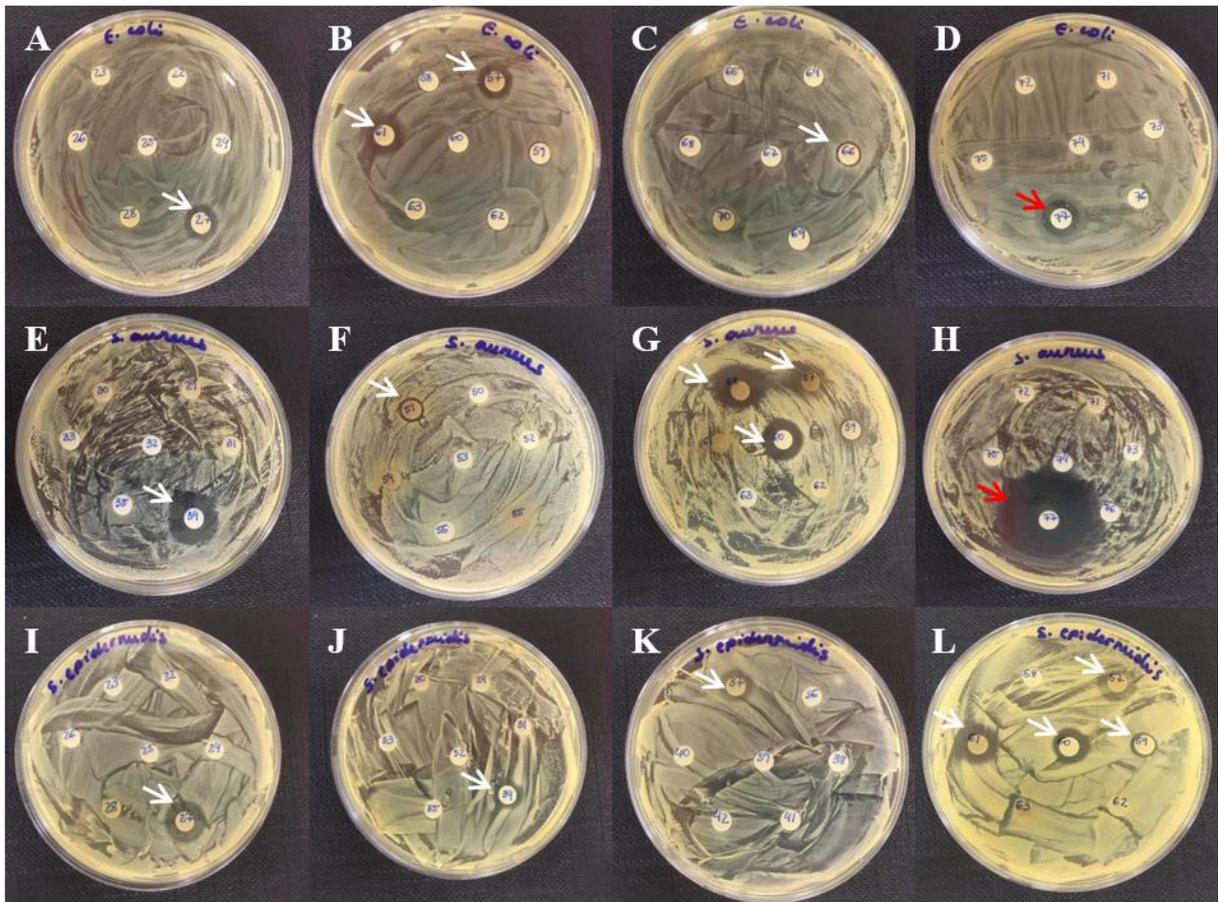
Tipo de Organismo	Espécie	Concentração da amostra (mg.mL <sup>-1</sup> )	Cepas bacterianas		
			<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>
Esponjas Marinhas	<i>Aiolochoxia crassa</i>	03	-	10	-
	<i>Amphimedon compressa</i>	19	08	11	08
	<i>Aplysina cauliformes</i>	14	14	12	-
	<i>Aplysina fistularis</i>	03	14	16	-
	<i>Aplysina fulva</i>	22	17	23	18
	<i>Aplysina lactuca</i>	10	16	19	08
	<i>Erylus formosus</i>	15	-	-	15
	<i>Ircinia felix</i>	10	-	10	08
	<i>Mycale</i> sp.	18	17	23	18
	<i>Pseudosuberites</i> sp.	16	18	-	07
Macroalgas Marinhas	<i>Topsentia ophiraphidites</i>	12	-	18	14
	<i>Amansia multifida</i>	23	-	24	-
	<i>Dictyota dichotoma</i>	09	-	08	-
	<i>Dictyota mertensii</i>	16	-	08	09
	<i>Gracilaria ramosissima</i>	05	-	09	09
	<i>Gracilariopsis</i> sp.	19	-	-	09

Tabela 6 – Resultado do ensaio antibiograma por disco-difusão dos extratos orgânicos de organismos marinhos – tamanho médio dos halos de inibição, em milímetros. (Continuação).

Tipo de Organismo	Espécie	Concentração da amostra (mg.mL <sup>-1</sup> )	Cepas bacterianas		
			<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>
Macroalgas Marinhas	<i>Sargassum vulgare</i>	18	-	11	-
	<i>Valonia aegagropila</i>	01	-	12	-
Controle Positivo	Ampicilina	10	20	22	23
Controle Negativo	Acetonitrila evaporada	-	-	-	-

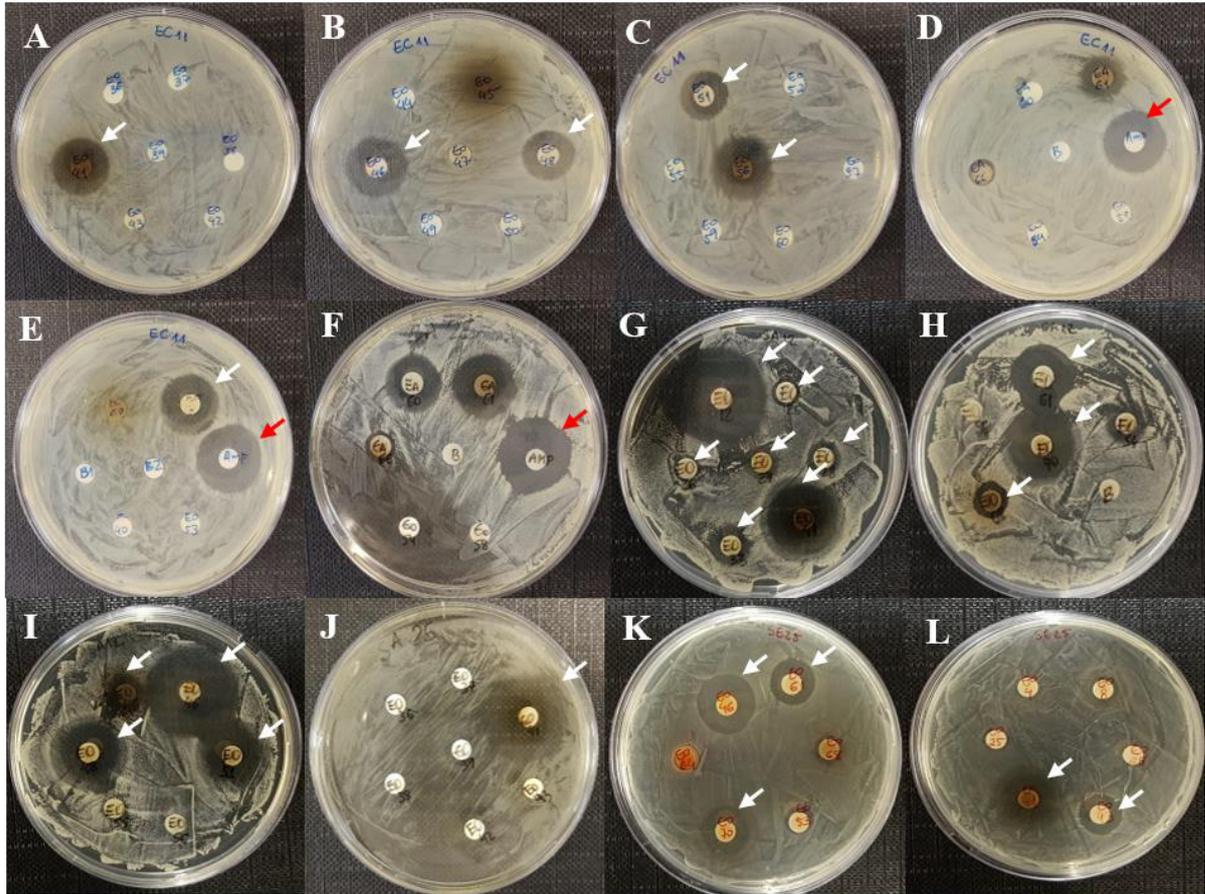
Fonte: Próprio autor. No disco foi usado 5 µL de ampicilina (50 µg) e 10 µL das amostras e do controle negativo.

Figura 5 – Resultado do ensaio antibiograma por disco-difusão dos extratos aquosos de organismos marinhos em diferentes concentrações contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*.



Fonte: Próprio autor. Legenda: A à D: *Escherichia coli*; E à H: *Staphylococcus aureus*; I à L: *S. epidermidis*. Setas vermelhas apontando halo de inibição da Ampicilina (50 µg). Setas brancas apontando os halos de inibição: A – *Aplysina fistularis*; B – *Aplysina fulva*; *Pseudosuberites* sp.; C – *Amphimedon compressa*; E – *Tedania ignis*; F – *Ircinia felix*; G – *Aplysina fulva*; *Mycale* sp.; *Topsentia ophiraphidites*; I – *Aplysina fistularis*; J – *Tedania ignis*; K – *Aplysina lactuca*; L – *Aplysina fulva*; *Mycale* sp.; *Topsentia ophiraphidites*; *Pseudosuberites* sp.

Figura 6 – Resultado do ensaio antibiograma por disco-difusão dos extratos orgânicos de organismos marinhos em diferentes concentrações contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*.



Fonte: Próprio autor. Legenda: A à E: *Escherichia coli*; F à J: *Staphylococcus aureus*; K e L: *S. epidermidis*. Setas vermelhas apontando Ampicilina (50 µg). Setas brancas apontando os maiores halos de inibição. **A** – *Aplysina fulva*; **B** – *Mycale sp.*; *Aplysina fistularis*; **C** – *Aplysina cauliformes*; *Pseudosuberites sp.*; **E** – *Aplysina lactuca*; **G** – *Amansia multifida*; *Dictyota mertensii*; *Dictyota dichotoma*; *Sargassum vulgare*; *Gracilaria ramosissima*; *Valonia aegagropila*; *Aplysina fulva*; **H** – *Topsentia ophiraphidites*; *Ircinia felix*; *Aplysina lactuca*; **I** – *Aiolochoiria crassa*; *Mycale sp.*; *Aplysina fistularis*; *Aplysina cauliformes*; **J** – *Aplysina fulva*; **K** – *Mycale sp.*; *Topsentia ophiraphidites*; *Aplysina lactuca*; **L** – *Aplysina fulva*; *Erylus formosus*.

Tanto os extratos aquosos como os orgânicos foram mais eficazes contra as bactérias gram-positivas. Cepas gram-positivas possuem uma parede celular menos complexa em relação às gram-negativas, composta em sua maioria por ácido teicoico e peptídeoglicanos (ABCMED, 2014). A membrana celular das bactérias gram-negativas é composta por uma variedade de compostos, como fosfolipídeos, lipopolissacarídeos, lipoproteínas e porinas, que dificultam a entrada e ação de antibióticos ou moléculas com propriedades antibacterianas (BARBOSA, 2020). A permeabilidade limitada é decorrente da alteração das porinas específicas, que impede a eficácia de um medicamento sobre os microrganismos gram-negativos (ANVISA, 2007).

O extrato orgânico de *Gracilariopsis* sp. apresentou atividade inibitória fraca apenas contra *S. epidermidis*. Em trabalho de Stabili *et al.* (2010) o extrato lipídico de *Gracilariopsis longissima* exibiu atividade satisfatória contra diversas cepas de *Vibrio*, sendo o ácido palmítico o ácido graxo predominante no extrato e, provavelmente, o responsável pela atividade inibitória.

Posteriormente, Cavallo *et al.* (2013) realizaram um estudo semelhante e observaram que o extrato lipídico de *G. longissima* foi eficaz contra muitas cepas de *Vibrio* patogênicas, reforçando que extratos de algas marinhas são fontes ricas em compostos antibacterianos.

A macroalga vermelha *Amansia multifida* exibiu uma atividade forte contra *S. aureus*, com halo de 24 milímetros. Lima-Filho *et al.* (2002) observaram que o extrato lipídico de *A. multifida* inibiu o crescimento de diversas cepas gram-negativas e gram-positivas, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae* e *S. aureus*, com diâmetros de halo variando entre 14 e 18 milímetros. Os autores concluem que esta ampla atividade pode estar relacionada com a presença de ácidos graxos, ácidos orgânicos e compostos fenólicos específicos ou pela ação conjunta dos três.

As macroalgas pardas *Dictyota mertensii* e *Dictyota dichotoma* exibiram atividades fracas contra as cepas de *S. aureus* e *S. epidermidis*, com halos de 08 a 09 milímetros de diâmetro. Taskin *et al.* (2007) analisaram seis extratos metanólicos de algas marinhas e observaram que o extrato de *D. dichotoma* exibiu um diâmetro de halo de 10 milímetros contra *S. aureus*, valor próximo ao encontrado neste trabalho.

Al-Saif *et al.* (2014) avaliaram o potencial antibacteriano de extratos de algas marinhas e observaram que o extrato etanólico de *Dictyota ciliolata* apresentou halos moderados contra *E. coli* e *S. aureus*. Os autores também sugerem que a forte atividade inibitória se deve a grande presença de ácido palmítico nos extratos algais. Além disso, Suzuki, Yamada e Kurata (2002) indicam que algas da ordem Dictyotales são produtoras de compostos bioativos específicos, os dictyterpenoides, relacionados ao controle da herbivoria, e que este composto também pode estar relacionado à atividade antibacteriana.

Os extratos aquosos de *Sargassum vulgare* não apresentaram halos de inibição contra as cepas testadas. O extrato orgânico, no entanto, exibiu atividade moderada contra *S. aureus*, com diâmetro de halo de 11 milímetros. Rani *et al.* (2016) analisaram a atividade antibacteriana de diferentes espécies de algas pardas e observaram que os extratos orgânicos de *Sargassum wightii* e de *Sargassum oligocystum* exibiram atividade moderada contra *S. aureus*, com diâmetros de halo em torno 10 milímetros. Os autores sugerem que a atividade

antimicrobiana observada nos extratos orgânicos se deve a produção de compostos como polissacarídeos, ácidos graxos, lectinas, polissulfetos cíclicos e compostos halogenados, ou de sua atuação conjunta.

O extrato orgânico de *Gracilaria ramosíssima* exibiu atividade fraca contra *S. aureus* e *S. epidermidis*. Albuquerque, Campos-Takaki e Koenig (1983) observaram que o extrato etanólico de *Gracilaria debilis* apresentou atividade inibitória contra *S. aureus*. Perez *et al.* (1990) também observaram que o extrato etanólico de *Gracilaria cervicornis* exibiu atividade inibitória contra *S. aureus*, numa concentração de 5 mg.mL<sup>-1</sup>. Segundo Capillo *et al.* (2018), a ordem Gracilariales é reconhecida como fonte de diversos compostos bioativos, como ácidos graxos, esteroides, compostos fenólicos e outros, e que podem apresentar atividade antibacteriana, principalmente contra bactérias gram-positivas.

A esponja *Erylus formosus* apresentou atividade inibitória moderada contra *S. epidermidis*, com diâmetro de halo de 15 milímetros. Graça *et al.* (2013) estudaram a composição de bactérias heterotróficas associadas a *Erylus discophorus* e verificaram que cerca de 66 bactérias isoladas desta esponja apresentaram metabólitos antimicrobianos eficazes contra *Bacillus subtilis*, *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Vibrio harveyi* e *Aliivibrio fischeri*. Em estudo posterior, Graça *et al.* (2015) observaram que cerca de 57 de 83 bactérias heterotróficas isoladas da espécie *Erylus deficiens* apresentavam atividade antifúngica contra *Candida albicans* e atividade antimicrobiana contra *Vibrio anguillarum*.

Os extratos aquosos e o extrato orgânico da esponja *Amphimedon compressa* apresentaram leve atividade contra todas as cepas utilizadas no ensaio, com diâmetro de halo de inibição em torno de oito milímetros, equivalente a 50 mm<sup>2</sup>. Em estudo publicado por Newbold *et al.* (1999) verificou-se que extratos orgânicos desta espécie apresentaram atividade antibacteriana contra cepas de origem marinha ou presentes neste ambiente, como *Bacillus* sp., *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio alginolyticus*, *Listonella anguillarum* e *Deleya marina*, com halos de inibição variando entre 50 e 100 mm<sup>2</sup>.

Kelly *et al.* (2003) elaboraram um estudo sobre o efeito de extratos brutos de esponjas marinhas caribenhas sobre a aderência bacteriana de uma cepa de *Vibrio harveyi* e observaram que o extrato metanólico de *A. compressa* inibia fracamente essa aderência, enquanto a amphitoxina e a halitoxina, dois compostos isolados de *A. compressa*, inibiam a aderência, mas não o crescimento bacteriano.

Um composto bioativo chamado ciclosteletamina isolado da esponja *A. compressa* foi considerado como importante precursor dos alcalóides do tipo manzamina. O composto exibiu potentes atividades antibacterianas e antifúngicas contra vários microrganismos, dentre

eles as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) (XU; SUN; YAN, 2007).

Newbold *et al.* (1999) ressaltaram que, em geral, esponjas caribenhas, como a *A. compressa*, não apresentam amplo espectro de atividade antibacteriana e que esta espécie aparenta ser uma das exceções a esta regra, podendo este fator estar relacionado com a coexistência de bactérias no tecido esponjoso e influenciar na produção de metabólitos secundários.

No litoral cearense um estudo avaliou a atividade citotóxica e antimicrobiana de extratos hidrometanólicos de esponjas marinhas (JIMENEZ *et al.*, 2004). O extrato da espécie *Amphimedon sp.* foi o mais ativo dentre os testados, com uma Concentração Inibitória Mínima (CIM) de 0,15 mg.mL<sup>-1</sup> contra o crescimento das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, enquanto a CIM da esponja *Tedania ignis* foi superior a 20 mg.mL<sup>-1</sup> em todas as bactérias testadas.

Monks *et al.* (2002) também estudaram a atividade antimicrobiana dos extratos aquoso e orgânico de *T. ignis* coletada no litoral sul do Brasil sobre as bactérias *E. coli*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. subtilis* e *Micrococcus luteus*, contudo ambos os extratos testaram negativo para todas as cepas utilizadas. Contudo, no presente trabalho, o extrato aquoso de *T. ignis* exibiu atividade forte contra *S. aureus*, com halo de inibição de 14 milímetros, e moderada contra *S. epidermidis*, com halo de inibição de 10 milímetros. Ao ter a amostra liofilizada e concentrada, o extrato da *T. ignis* perdeu boa parte de sua atividade contra as bactérias e em extrato orgânico não exibiu halo de inibição. A perda da atividade pode ter ocorrido por desnaturação/inativação de alguma molécula após liofilização ou saturação e agregação da molécula em alta concentração não ficando em solução após centrifugação para o teste antibiograma.

Já o extrato aquoso de *Aplysina fistularis* em baixa concentração, exibiu atividade fraca contra *E. coli*, moderada contra *S. epidermidis* e nenhuma atividade contra *S. aureus*. Quando os extratos foram concentrados, os mesmos apresentaram acentuada capacidade inibitória contra *E. coli* e *S. aureus*, mas o extrato aquoso perdeu atividade contra *S. epidermidis*. Esses resultados podem indicar moléculas diferentes com atividade antibacteriana para *E. coli*, *S. aureus* e *S. epidermidis* no extrato aquoso da *A. fistularis*.

Morales *et al.* (2000) testaram a atividade antibacteriana de extratos orgânicos de *A. fistularis* contra cepas gram-positivas e gram-negativas e observaram que os extratos brutos com acetato de etila e clorofórmio, além dos fracionamentos, foram eficazes para inibir o crescimento de cepas de *E. coli* e *S. aureus*. As mesmas espécies utilizadas nesse trabalho para

extrato orgânico com acetonitrila também apresentaram atividade antibacteriana para ambas as cepas. Os autores ressaltam ainda que os metabólitos secundários de *A. fistularis* possuem amplo espectro de atividade antibacteriana.

No presente trabalho, o extrato aquoso de *Aplysina fulva* (17,9 mg.mL<sup>-1</sup>) exibiu atividade antibacteriana moderada contra cepas de *E. coli* e *S. epidermidis*, com diâmetro de halos de 10 e 12 milímetros, respectivamente. O extrato aquoso concentrado de *A. fulva* exibiu atividade antibacteriana moderada contra *S. aureus* além da *E. coli*, mas perdeu sua atividade inibitória contra *S. epidermidis*.

O extrato orgânico de *A. fulva* apresentou halos de inibição fortes contra as três cepas testadas, o que pode indicar a existência de moléculas menores com propriedades antibacterianas que só podem ser extraídas através desse método. Carneiro *et al.* (2019) isolaram uma lectina da esponja *Aplysina fulva* (AFL) que exibiu alta atividade antibiofilme contra cepas de *S. epidermidis* e *E. coli* e também reduziu o biofilme de *S. aureus*. Entretanto, AFL não inibiu o crescimento das células planctônicas gram-positivas e gram-negativas testadas.

A perda de atividade contra *S. epidermidis* em esponjas do gênero *Aplysina* pode estar relacionada com o procedimento de liofilização das amostras, processo que pode ter desnaturado alguma molécula com propriedades antibacterianas ou que a alta concentração pode ter favorecido a agregação perdendo a molécula da solução. Além disso, pode indicar que moléculas diferentes podem ter a atividade antibacteriana para *E. coli*, *S. aureus* e *S. epidermidis* nos extratos aquosos das espécies de *Aplysina*.

As atividades dos extratos aquosos e orgânico de *Ircinia felix* foram fracas, com halos de inibição variando entre 08 e 10 milímetros contra as cepas gram-positivas. Gómez-Guiñán *et al.* (2003) isolaram fungos do gênero *Penicillium* de *I. felix* e em ensaios antibacterianos por disco-difusão verificaram que o extrato orgânico, com acetato de etila, dos fungos isolados inibiu o crescimento das bactérias *S. aureus* e *S. epidermidis*, com diâmetros de halo superiores a 20 milímetros.

Esponjas marinhas do gênero *Ircinia* são conhecidas por produzir um odor sulfuroso quando manuseadas (BERGQUIST, 1978) e são amplamente estudadas quanto à produção de furanoesterterpenos e furanoterpenos bioativos (BERGQUIST; WELLS, 1983; ALFANO *et al.*, 1979; BIFULCO *et al.*, 1995). Estudos de Martínez *et al.* (1997) revelaram que o extrato orgânico da esponja *I. felix* é uma fonte de furanoesterterpenos, que apresentam propriedades antimicrobianas, analgésicas, citotóxicas e antitumorais.

Duque *et al.* (2001) estudaram pela primeira vez os constituintes voláteis de *I. felix* e seu papel na proteção contra agentes patogênicos. A extração dos compostos voláteis tiobismetano, metil isocianeto e metil isotiocianato mostraram atividade antibacteriana moderada contra *Pseudomonas aeruginosa*, *M. luteus* e *S. aureus*. Quintana *et al.* (2015) sugerem que o extrato de *I. felix* também é uma fonte promissora de compostos inibidores de *quorum sensing* (QSI). *Quorum sensing* (QS) se refere à capacidade que as bactérias possuem de se comunicar e expressar genes na presença de um grande número de bactérias, regulando a formação de biofilmes, a expressão de fatores de virulência e a esporulação (MILLER; BASSLER, 2001).

No presente trabalho os extratos aquosos de *Mycale* sp. inibiram fracamente as cepas bacterianas testadas, com halos de inibição variando entre 07 e 08 milímetros. Contudo, o extrato orgânico da mesma esponja exibiu atividade fortíssima contra todas as bactérias utilizadas, com halos de inibição variando entre 17 e 23 milímetros. As funções ecológicas dos produtos naturais encontrados em esponjas, tal como no gênero *Mycale*, são muito diversificadas.

Doshida *et al.* (1996) isolaram o composto exofilina A da esponja *Mycale adhaerens*, um ácido dihidroxidecanoico, que foi ativo contra diversas bactérias Gram-positivas, entre elas *S. aureus*. Exofilina A é produzida por um microrganismo, *Exophiala pisciphila*, que está associado a esponja. Em 2009, Marinho *et al.* isolaram uma nova linhagem da bactéria *Pseudomonas putida* a partir da esponja *Mycale microsigmatosa*, produtora de uma potente substância antimicrobiana ativa contra bactérias multirresistentes.

Fungos marinhos também podem estar associados as esponjas e oferecer proteção contra predadores e outros microrganismos. Testes realizados por Scopel (2012) permitiram o isolamento de um composto produzido por um fungo associado à esponja *Mycale magnirhaphidifera* com atividade antibiofilme de *S. epidermidis*. Reppso *et al.* (2016) concluíram que a espécie *Mycale angulosa* apresenta estratégia de defesa química bastante eficaz contra caranguejos e peixes diversos. Segundo o autor, contudo, mesmo com ampla distribuição geográfica, o gênero é pouco estudado quanto à presença de produtos naturais.

Os extratos aquosos e orgânico de *Pseudosuberites* sp. foram mais eficazes contra *E. coli*, com diâmetros de halo variando entre 10 e 18 milímetros e apenas o extrato aquoso concentrado da esponja apresentou forte inibição contra *S. aureus*. Thirunavukkarasu *et al.* (2011) isolaram diversas espécies de fungos da esponja marinha *Pseudosuberites andrewi*. O fungo *Drechslera* sp. isolado da esponja exibiu leve atividade antibacteriana contra uma cepa de *S. aureus*.

Nos testes realizados, as amostras de *Topsentia ophiraphidites* não inibiram o crescimento de *E. coli*. Contudo, ensaios de concentração inibitória mínima (CIM) realizados por Sepčić *et al.* (2010) apresentaram resultados positivos contra *E. coli*, onde o extrato aquoso não aquecido exibiu uma CIM de 50  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  e o extrato aquoso aquecido exibiu uma CIM de 5.420  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , sugerindo a presença de um provável composto antibacteriano de natureza proteica.

Os extratos aquosos e orgânico de *T. ophiraphidites* exibiram atividades satisfatórias contra cepas de *S. aureus* e *S. epidermidis*, com halos de inibição variando entre 10 e 18 milímetros. Em estudo publicado por Liu *et al.* (2017), o fracionamento do extrato da esponja marinha *Topsentia* sp. levou ao isolamento de dois novos compostos, tulongicina A e dihidrospogotina C, que mostraram forte atividade antimicrobiana contra cepas de *S. aureus*, corroborando os resultados obtidos.

As esponjas do gênero *Topsentia* são fontes reconhecidas de esteroides com ampla abrangência de bioatividades (GUNASEKERA *et al.*, 1994). Fusetani, Matsunaga e Konosu (1981) isolaram o composto trissulfato de halistanol A da esponja *Halichondria* cf. *moorei*, que inibiu o crescimento de fungos e de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. O mesmo trissulfato de halistanol A foi isolado da esponja *T. ophiraphidites* (KOSSUGA *et al.*, 2007), através de extração orgânica.

As informações reunidas podem sugerir a existência de microrganismos, associados às esponjas e às macroalgas marinhas que são produtores de compostos antibacterianos eficazes contra as cepas trabalhadas neste estudo, bem como a produção de compostos bioativos pelos próprios organismos marinhos, em resposta à presença de bactérias patogênicas no meio ou em resposta à predação.

Além disso, os resultados obtidos também sugerem a presença de moléculas menores com propriedades antibacterianas que são eficientemente obtidas através de extração orgânica em comparação a extração aquosa. Outra hipótese que deve ser levada em consideração é que o organismo produza algum composto ou metabólito bioativo, mas que esteja bastante diluído no extrato bruto, tornando ineficaz a atividade antibacteriana, sendo necessários estudos de melhores métodos de extração.

Quintana *et al.* (2015) ressaltam que os organismos marinhos representam uma fonte promissora de moléculas que podem atuar como compostos antipatogênicos contra bactérias resistentes a antibióticos, que representam um sério perigo para a saúde humana.

## 5 CONCLUSÃO

As esponjas do gênero *Aplysina*, *Mycale* sp., *Pseudosuberites* sp. e *Topsentia ophiraphidites* foram as que apresentaram os resultados mais satisfatórios, especialmente em extrato orgânico. Dentre as macroalgas apenas *Amansia multifida* apresentou atividade inibitória forte contra alguma das bactérias.

Há indícios que sugerem a presença de mais de uma molécula ativa contra alguma das cepas testadas nos extratos aquosos. Os extratos orgânicos foram os mais eficientes na extração de moléculas e metabólitos dos tecidos biológicos, tanto de esponjas quanto das macroalgas. Ambos os extratos aquosos e orgânicos foram mais eficazes sobre as cepas bacterianas gram-positivas.

Estudos futuros serão realizados para encontrar e isolar os possíveis compostos ou moléculas com atividade antibacteriana destes organismos marinhos.

## REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, Waleska Ferreira de; VIEIRA, Regine Helena Silva dos Fernandes; VIEIRA, Gustavo Hitzschky dos Fernandes. Isolamento de *Staphylococcus aureus* do gelo, água, bancadas e vendedores de pescado da feira do Mucuripe, Fortaleza, Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n. 3, p. 300, 2006.
- ALFANO, G.; CIMINO, G.; DESTEFANO, S. Palinurin a new linear sesterterpene from a marine sponge. **Experientia**, v. 35, p. 1136–1137, 1979.
- AL-SAIF, Sarah Saleh Abdu-llah *et al.* Antibacterial substances from marine algae isolated from Jeddah coast of Red sea, Saudi Arabia. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 21, n. 1, p. 57-64, 2014.
- ALBUQUERQUE, M.R.; CAMPOS-TAKAKI, KOENING, M.L. Detection of antimicrobial activity in marine seaweeds. **Rev. Inst. Antibiot. Univ. Fed. Pernambuco Recife**, v. 21, p. 127–138, 1983.
- ARAGUAIA, Mariana. Importância das bactérias para a manutenção da vida. **Brasil Escola**, 2007. Disponível em: <https://brasilecola.uol.com.br/biologia/importancia-bacterias.htm>. Acesso em: 22 abr. 2021.
- AYDOS, Luzia Fichtner. **Microrganismos marinhos como fonte de metabólitos bioativos: atividade contra biofilmes patogênicos**. 2016. 42 p. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.
- BACTÉRIAS Gram-positivas e Gram-negativas: o que são? Como é a técnica de Gram? Quais as vantagens de diferenciar as bactérias Gram-negativas e Gram-positivas? **ABCMED**, 2014. Disponível em: <https://www.abc.med.br/p/587007/bacterias-gram-positivas-e-gram-negativas-o-que-sao-como-e-a-tecnica-de-gram-quais-as-vantagens-de-diferenciar-as-bacterias-gram-negativas-e-gram-positivas>. Acesso em: 1 set. 2021.
- BAKER, A.C. *et al.* Coral reefs: corals' adaptive response to climate change. **Nature**, v. 430, n. 7001, p. 741, 2004.
- BARBOSA, Juliana. Bactérias Gram positivas e Gram negativas: o que isso quer dizer? **Food Safety Brazil**, 2020. Disponível em: <https://foodsafetybrazil.org/bacterias-gram-positivas-e-negativas-o-que-isso-quer-dizer/>. Acesso em: 01 set. 2021.
- BECKER, K.; HEILMANN, C.; PETERS, G. Coagulase-Negative Staphylococci. **Clinical Microbiology**, v. 27, p. 870-926, 2014.
- BENTLEY, R.; MEGANATHAN, R. Biosynthesis of vitamin K (menaquinone) in bacteria. **Microbiol. Rev.**, v. 46 (3), p. 241–280, 1982.
- BERGQUIST, P.R. **Sponges**. Hutchinson, London, 1978.

- BERGQUIST, P. R.; WELLS, R. J. Chemotaxonomy of the porifera: the development and current status of the field. *In: Scheuer, P.J. (Ed.), Marine Natural Products*. Academic Press, New York, 1983.
- BIFULCO, G. *et al.* Bioactive prenylhydroquinone sulfates and a novel C31 furanoterpene alcohol sulfate from the marine sponge, *Ircinia* sp. **J. Nat. Prod.**, v. 58, p. 1444–1449, 1995.
- CAPILLO, Gioele *et al.* New Insights into the Culture Method and Antibacterial Potential of *Gracilaria gracilis*. **Mar. Drugs**, v. 16, n. 12, 492, 2018.
- CARDOZO, K. H. M. *et al.* Metabolites from algae with economic impact. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology Pharmacology**, v. 146, p. 60-78, 2007.
- CARVALHO, Irineide Teixeira de. **Microbiologia Básica**. Recife: EDUFRPE, 2010.
- CASTRO, C. B.; PIRES, D. O. Brazilian coral reefs: what we already know and what is still missing. **Bulletin Of Marine Science**, v. 69, n. 2, p. 357-371, 2001.
- CARNEIRO, Rômulo Farias *et al.* A new mucin-binding lectin from the marine sponge *Aplysina fulva* (AFL) exhibits antibiofilm effects. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 662, p. 169–176, 2019.
- CAVALLO, Rosa A. *et al.* Antibacterial activity of marine macroalgae against fish pathogenic *Vibrio* species. **Central European Journal of Biology**, v. 8, p. 646–653, 2013.
- DAMOCEAN. *Tedania ignis*. **iStock by Getty Images**, 2017. Disponível em: <https://www.istockphoto.com/br/foto/esponja-do-fogo-da-vida-marinha-tedania-ignis-gm899450044-248191962>. Acesso em: 21 maio 2021.
- DAPPER, Taiomara Butzke *et al.* Potencialidades das macroalgas marinhas na agricultura: Revisão. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v. 7, n. 2, p. 295-313, 2014.
- DOSHIDA J. *et al.* Exophilin A, a new antibiotic from a marine microorganism *Exophiala pisciphila*. **J. Antibiot (Tokyo)**, v. 49(11), p. 1105-1109, 1996.
- DUARTE, D.; VERAS, M. A.; MARTINS, J. A. Perfil evolutivo da resistência do *Staphylococcus aureus* - experiência do Hospital Adventista Silvestre. *In: Programa Oficial e Resumo de Trabalhos do VIII Congresso Brasileiro de Infectologia*, Porto Alegre. Resumo nº 91, p. 82, 1994.
- DUQUE, Carmenza *et al.* Exudation of lowmolecular weight compounds (thiobismethane, methyl isocyanide, and methyl isothiocyanate) as a possible chemical defense mechanism in the marine sponge *Ircinia felix*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, p. 459–467, 2001.
- E. coli* (*Escherichia coli*). **CDC (Centers for Disease Control and Prevention)**, Atlanta, GA, USA, 2014. Disponível em: <https://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html>. Acesso em: 22 abr. 2021.

FUSETANI, N.; MATSUNAGA, S.; KONOSU, S. Bioactive marine metabolites II. Halistanol sulfate, an antimicrobial novel steroid sulfate from the marine sponge *Halichondria cf. moorei* Bergquist. **Tetrahedron Lett**, vol. 22, p. 1985-1988, 1981.

FUSETANI, N. **Drugs From The Sea**. Karger, Basel, 2000.

GÓMEZ-GUIÑÁN, Y. *et al.* Obtención de extractos orgánicos con actividad antimicrobiana a partir de *Penicillium* sp. (Moniliales) aislado de la esponja *Ircinia felix* (Porifera: Demospongiae). **Rev. Biol. Trop.**, v. 51, p. 141-147, 2003.

GONG, P. *et al.* Preparation and antibacterial activity of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@Ag nanoparticles. **Nanotechnology**, v. 18, p. 604–611, 2007.

GRAÇA, Ana Patrícia *et al.* Antimicrobial Activity of Heterotrophic Bacterial Communities from the Marine Sponge *Erylus discophorus* (Astrophorida, Geodiidae). **PLoS ONE**, v. 8, n. 11, 10 p., 2013.

GRAÇA, Ana Patrícia *et al.* The antimicrobial activity of heterotrophic bacteria isolated from the marine sponge *Erylus deficiens* (Astrophorida, Geodiidae). **Front. Microbiol.**, v. 6, 2015.

GUIRY, M. D. *Solieria chordalis* (C. Agardh) J. Agardh. **The Seaweed Site: information on marine algae**, 2014. Disponível em: [https://www.seaweed.ie/descriptions/solieria\\_chordalis.php](https://www.seaweed.ie/descriptions/solieria_chordalis.php). Acesso em: 21 maio 2021.

GUNASEKERA, P.S. *et al.* Ophirapstanol trisulfate, a new biological active steroid sulfate from the deep water marine sponge *Topsentia ophiraphidites*. **J. Nat. Prod.**, v. 57, p. 1751–1754, 1994.

HILL, R. T. Microbes from marine sponges: A treasure trove of biodiversity for natural products discovery. *In: Microbial Diversity and Bioprospecting*; Bull, A.T. ASM Press: Washington, DC, USA, p. 177–190, 2004.

JIMENEZ, Paula C. *et al.* Atividade citotóxica e antimicrobiana de extratos hidrometanólicos de esponjas (Porifera) do Estado do Ceará, Brasil. **Arq. Ciên. Mar**, Fortaleza, v. 37, p. 85-91, 2004.

KAPER, J.; NATARO, J.; MOBLEY, H. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 2, p. 123–140, 2004.

KELLY, Sarah R. *et al.* Effects of Caribbean sponge extracts on bacterial attachment. **Aquat. Microb. Ecol.**, v. 31, p. 175–182, 2003.

KHAN, Wajahatullah *et al.* Seaweed Extracts as Biostimulants of Plant Growth and Development. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 28, 2009.

KNOWLTON, N. The future of coral reefs. **PNAS**, v. 98, n. 10, p. 5419-5425, 2001.

KOSSUGA, Miriam H. *et al.* Isolamento e atividades biológicas de produtos naturais das esponjas *Monanchora arbuscula*, *Aplysina* sp. *Petromica ciocalyptoides* e *Topsentia*

*ophiraphidites*, da ascídia *Didemnum ligulum* e do octocoral *Carijoa riisei*. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 30, n. 5, p. 1194-1202, 2007.

LACERDA, Renata Barbosa. Alcaloides Marinhos Bromopirrólicos. **Rev. Virtual Quim.**, v. 7, n. 2, p. 713-729, 2015.

LIMA-FILHO, José Vitor M. *et al.* Antibacterial activity of extracts of six macroalgae from the northeastern brazilian coast. **Braz. J. Microbiol.**, v. 33, n. 4, 2002.

LIU, Hong-Bing *et al.* Tulongicin, an Antibacterial Tri-Indole Alkaloid from a Deep-Water *Topsentia* sp. Sponge. **Journal of Natural Products**, v. 80, n. 9, p. 2556-2560, 2017.

MACK, D. *et al.* Chapter 7: Coagulase-Negative Staphylococci. **Biofilms, Infection and Antimicrobial Therapy**. Boca Raton: CRC Press, 2006.

MALVE, H. Exploring the ocean for new drug developments: Marine pharmacology. **Journal of pharmacy & bioallied sciences**, v. 8, n. 2, p. 83, 2016.

MARINHO, Palloma Rodrigues *et al.* Marine *Pseudomonas putida*: a potential source of antimicrobial substances against antibiotic-resistant bacteria. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, n. 5, p. 678-682, 2009.

MARTÍNEZ, A. *et al.* (8Z, 13Z, 20Z)-strobilinin and (7Z, 13Z, 20Z)-felixinin: new furanosesterterpene tetrionic acids from marine sponges of the genus *Ircinia*. **Chem. Pharm. Bull.** v. 45, p. 181-184, 1997.

MAYER, A. M. S. *et al.* Marine pharmacology in 2005-6: Marine compounds with anthelmintic, antibacterial, anticoagulant, antifungal, anti-inflammatory, antimalarial, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the cardiovascular, immune and nervous systems, and other miscellaneous mechanisms of action. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1790, p. 283-308, 2009.

MAYER, A. M. S. *et al.* Marine pharmacology in 2007-8: Marine compounds with antibacterial, anticoagulant, antifungal, anti-inflammatory, antimalarial, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the immune and nervous system, and other miscellaneous mechanisms of action. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part C, v. 153, p. 191-222, 2011.

MAYER, A. M. S. *et al.* Marine Pharmacology in 2012-2013: Marine Compounds with Antibacterial, Antidiabetic, Antifungal, Anti-Inflammatory, Antiprotozoal, Antituberculosis, and Antiviral Activities; Affecting the Immune and Nervous Systems, and Other Miscellaneous Mechanisms of Action. **Marine Drugs**, v. 15, n. 9, p. 273, 2017.

MCCOOK, L. J.; JOMPA, J.; DIAZ-PULIDO, G. Competition between corals and algae on coral reefs: a review of evidence and mechanisms. **Coral Reefs**, v. 19, n. 4, p. 400-417, 2001.

MILLER, M. B.; Bassler, B. L. Quorum sensing in bacteria. **Annual Reviews in Microbiology**, v. 55(1), p. 165-199, 2001.

- MONKS, Noel R. *et al.* Anticancer, antichemotactic and antimicrobial activities of marine sponges collected off the coast of Santa Catarina, southern Brazil. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 281, p. 1–12, 2002.
- MORALES, T. *et al.* Antimicrobial activity of organic extracts isolated from *Aplysina fistularis* (Demospongiae: Aplysinidae). **Revista de Biologia Tropical**, v. 48 Suppl 1, p. 199-206, 2000.
- MOREIRA, M. *et al.* Efeito da infecção hospitalar da corrente sanguínea por *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina sobre a letalidade e o tempo de hospitalização. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, São Paulo, v. 44, n. 4, p. 263-268, 1998.
- MORONES J. R. *et al.* The bactericidal effect of silver nanoparticles. **Nanotechnology**, v. 16, p. 2346–2353, 2005.
- NCCLS. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eighth Edition**. NCCLS document M2-A8 (ISBN 1-56238-485-6). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.
- NEIVA, João. *Sargassum vulgare* (C. Agardh). **Marine Forests**, 2018. Disponível em: <https://marineforests.com/reports/1253/>. Acesso em: 21 maio 2021.
- NEWBOLD, Rochelle W. *et al.* Antimicrobial activity of Caribbean sponge extracts. **Aquat. Microb. Ecol.**, v. 19, p. 279-284, 1999.
- OTTO, M. *Staphylococcus epidermidis* – the “accidental” pathogen. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, p. 555- 567, 2009.
- PALMER, C. V.; MODI, C. K.; MYDLARZ, L. D. Coral fluorescent proteins as antioxidants. **PLoS One**, v. 4, n. 10, p. 1-9, 2009.
- PEÑA, Miguel *et al.* (org.). **VI Botânica no Inverno 2016**. São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Departamento de Botânica, 223 p., 2016.
- PERESI, Jacqueline Tanury Macruz *et al.* Surtos de doenças transmitidas por alimentos contaminados por *Staphylococcus aureus*, ocorridos no período de dezembro de 2001 a abril de 2003, na região de São José do Rio Preto – SP. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 63, p. 233, 2004.
- PEREZ, R.M.; AVILA, J.G.; PEREZ, S.; MARTINEZ, A.; MARTINEZ, G. Antimicrobial activity of some American algae. **J. Ethnopharmacol.**, v. 29, p. 111–116, 1990.
- PILLON, Roberto. **WoRMS Photogallery**, 2015. Disponível em: <https://www.marinespecies.org/photogallery.php?album=770&pic=109717>. Acesso em: 21 maio 2021.
- PINTO, C. A. G. *et al.* Avaliação das culturas de secreções do laboratório do Hospital Universitário de Brasília (HUB) - DF e do perfil de resistência aos antimicrobianos, de outubro/93 a março/94. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 28, Supl. 1, p. 263, 1995.

QUINTANA, Jairo *et al.* Marine organisms as source of extracts to disrupt bacterial communication: bioguided isolation and identification of quorum sensing inhibitors from *Ircinia felix*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, p. 199–207, 2015.

RANI, V. *et al.* Antibacterial Activity of Some Brown Seaweeds of Gulf Of Mannar, South East Coast of India. **J. Pharm. BioSci.**, v.4, n. 3, p. 14-21, 2016.

REID, G.; HOWARD, J.; GAN, B. S. Can bacterial interference prevent infection? **Trends Microbiol.**, v. 9, p. 424–428, 2001.

REPPSO, T. S. B. *et al.* Defesa antipredação da esponja *Mycale (Zygomycale) angulosa* (DUCHASSAING & MICHELOTTI, 1864) diante de diferentes predadores. *In*: XVIII Simpósio de Biologia Marinha. **UNISANTA BioScience**, vol. 5, n. 4, 2016.

RESISTÊNCIA microbiana – Mecanismos e impactos clínicos. **ANVISA**, 2007. Disponível em: [https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controlere/rede\\_rm/cursos/rm\\_controlere/opas\\_web/modulo3/mec\\_permeabilidade.htm](https://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controlere/rede_rm/cursos/rm_controlere/opas_web/modulo3/mec_permeabilidade.htm). Acesso em: 01 set. 2021.

RURALTINS. Processamento de pescado é tema de curso em Araguatins. **ASBRAER**, 2016. Disponível em: <http://www.asbraer.org.br/index.php/rede-de-noticias/item/1806-processamento-de-pescado-e-tema-de-curso-em-araguatins>. Acesso em: 21 maio 2021.

SADER, H. Resistência bacteriana. **Fascículo 1, Laboratórios Pfizer**, São Paulo, 1998.

SANTOS FILHO, L.; FREITAS, F.I.S.; SIQUEIRA JÚNIOR, J.P. Evolution of drug-resistance in *Staphylococcus aureus* from a brazilian university hospital. **Folha Medica**, v.108, p. 101-103, 1994.

SANTOS, André Luis dos *et al.* *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Rio de Janeiro, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.

SANTOS, Vanessa Sardinha dos. "Bactérias presentes no corpo humano"; **Brasil Escola**, 2016. Disponível em: <https://brasilecola.uol.com.br/saude-na-escola/bacterias-presentes-no-corpo-humano.htm>. Acesso em: 22 de abr. 2020.

SCOPEL, Mariana. **Isolamento, investigação química e avaliação do potencial antibiótico, antibiofilme e anti-trichomonas vaginalis de fungos associados a organismos marinhos da costa sul do Brasil**. 2012. 139 p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Porto Alegre – RS, 2012.

SEPČIĆ, Kristina *et al.* Biological Activities of Aqueous and Organic Extracts from Tropical Marine Sponges. **Mar. Drugs**, v. 8, n. 5, p. 1550-1566, 2010.

SHADY, Nourhan Hisham *et al.* Natural Product Repertoire of the Genus Amphimedon. **Mar. Drugs**, v. 17, 2019.

STABILI, Loredana *et al.* Antibacterial activity of *Gracilariopsis longissima* (Rhodophyta, Gracilariales) lipidic extract. **Rapp. Comm. int. Mer Médit.**, v. 39, 2010.

SUZUKI, M., YAMADA, H., KURATA, K. Dicyterpenoids A and B, two novel diterpenoids with feeding-deterrent activity from the brown alga *Dilophus okamurae*. **J. Nat. Prod.**, v. 65, p. 121-125, 2002.

TASKIN, E. *et al.* Antibacterial activities of some marine algae from the Aegean Sea (Turkey). **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 24, p. 2746-2751, 2007.

TAVARES, Mario; GONÇALVES, Alex Augusto. Aspectos Físico-químicos do Pescado. *In*: GONÇALVES, Alex Augusto (org.). **Tecnologia do Pescado: Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação**. São Paulo, Editora Atheneu, p. 10-11, 2011.

THIRUNAVUKKARASU, N. *et al.* Fungal symbionts of marine sponges from Rameswaram, southern India: species composition and bioactive metabolites. **Fungal Diversity**, v. 55, p. 37-46, 2012.

VIEIRA, R. H. S. F.; SILVA, M. N. O.; MORAIS, I. V. S. Estudo bacteriológico do Pargo, *Lutjanus purpureus* Poey, exportado pelas empresas de pesca do Estado do Ceará (Brasil). **Arq. Ciên. do Mar**, v. 22, p. 67-72, 1982.

XU, N.J.; SUN, X.; YAN, X.J. A new cyclostelletamine from sponge *Amphimedon compressa*. **Chin. Chem. Lett**, v. 18, p. 947-950, 2007.

ZEA, Sven. *Aplysina fulva*. **The Sponge Guide**, 2004. Disponível em: <https://spongeguide.uncw.edu/imageinfo.php?img=362>. Acesso em: 21 maio 2021.

ZEA, Sven. *Topsentia ophiraphidites*. **The Sponge Guide**, 2003. Disponível em: <https://spongeguide.uncw.edu/imageinfo.php?img=69>. Acesso em: 21 maio 2021.