SEVEN publicações acadêmicas

EXPLORAÇÃO DA INTERAÇÃO ENTRE PEPTÍDEOS ANTIMICROBIANOS E RADIAÇÃO GAMA PARA O DESENVOLVIMENTO DE BIOSSENSORES

https://doi.org/10.56238/sevened2025.001-038

Fabiane Modenese Garbim
Engenheira Química, docente da pós-graduação em Engenharia Nuclear (PPGEN/IME)
E-mail: fabiane.garbim@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/0009-0008-2006-4526

João N. C. Bandeira
Engenheiro Químico, docente da pós-graduação em Engenharia Nuclear (PPGEN/IME)
E-mail: joao.nilton@ime.eb.br
ORCID: https://orcid.org/ 0009-0004-2051-3951

Giulianna S. Pereira
Bióloga e Engenheira Ambiental e Sanitária, docente da pós-graduação em Engenharia Nuclear (PPGEN/IME)
E-mail: giulianna.santos@ime.eb.br
ORCID: https://orcid.org/0009-0003-6748-5751

Marcela R. de Lima
Analista em Desenvolvimento de Sistemas, docente da pós-graduação em Engenharia de Defesa (PPGED/IME)
E-mail: marcela.robelo@ime.eb.br
ORCID: https://orcid.org/0009-0003-4353-3544

Nadja F. G. Serrano
Doutora em Biotecnologia pela UFSCAR (PPG-Biotec)
E-mail: nadjaserrano@gmail.com
ORCID: https://orcid.org/ 0000-0002-8838-7937

Álvaro J. Boareto-Mendes
Professor na Seção de Engenharia Química e no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Nuclear do Instituto Militar de Engenharia (IME)
Doutor em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos pela UFRJ (EPQB)
E-mail: boareto@ime.eb.br
ORCID: https://orcid.org 0000-0003-1432-9045

Fernando M. Araújo-Moreira
Coordenador de Pesquisa SE7/Engenharia Nuclear e Professor no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Nuclear do Instituto Militar de Engenharia (IME)
Pós doutorado em Física no Center for Superconductivity Research, University of Maryland/USA
E-mail: fernando.manuel@ime.eb.br
ORCID: https://orcid.org/ 000-0002-5423-0405

RESUMO
A crescente evolução tecnológica e os desafios na área nuclear exigem abordagens inovadoras que integrem conhecimentos de diferentes áreas. O presente estudo propõe uma pesquisa unindo a ciência

nuclear à biotecnologia na investigação do potencial de peptídeos antimicrobianos (PAMs) derivados da bactéria Paenibacillus polymyxa como materiais sensíveis à radiação ionizante gama. A pesquisa se baseou em uma revisão bibliográfica abrangente e na avaliação experimental da atividade de peptídeos antimicrobianos (PAMs) derivados da bactéria Paenibacillus polymyxa antes e após a exposição à radiação gama. Os PAMs selecionados foram expostos a diferentes doses de radiação gama (0,5, 1,0, 4,0 e 10,0 Gy) utilizando um irradiador Gamacell 220 com fonte de Co-60. A atividade antimicrobiana dos peptídeos foi avaliada por meio do teste de difusão em agar, utilizando uma variedade de microrganismos de relevância clínica e ambiental, incluindo Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Listeria monocytogenes e Candida albicans. Estes microrganismos foram selecionados com base em sua importância médica como agentes causadores de infecções, e por representarem diferentes classes de patógenos (bactérias Gram-positivas e Gram-negativas). Os resultados obtidos por meio da revisão bibliográfica e testes preliminares permitiram avaliar o potencial dos PAMs como elementos detectores em biossensores e como agentes antimicrobianos em ambientes contaminados por radiação, devido a sua capacidade de gerar variações detectáveis em suas propriedades físico-químicas quando expostos à radiação ionizante gama, permitindo a detecção rápida e precisa de níveis de radiação gama. Essa abordagem inovadora visa superar as limitações dos métodos tradicionais de detecção, que podem ser lentos, caros e complexos. A pesquisa fundamentou-se na revisão da literatura que identificaram peptídeos promissores com atividade antimicrobiana significativa em Paenibacillus polymyxa e a resistência desses PAMs à radiação ionizante, avaliando seu limiar de eficiência após a exposição. A capacidade dos PAMs de apresentar um limiar à radiação e manter sua atividade antimicrobiana os torna candidatos ideais para o desenvolvimento de biossensores portáteis e de resposta rápida, com custo acessível, de fácil reprodutibilidade, alta sensibilidade e outras características que espera-se de um biossensor eficiente, que podem ser aplicados em diversas áreas desde monitoramento, tais como ambiental, proteção civil, segurança pública e defesa nacional.

Palavras-chave: Biotecnologia. Radiação Gama. Peptídeo Antimicrobiano. Biossensor.

1 INTRODUÇÃO

O rápido avanço tecnológico e os desafios na área nuclear exigem soluções inovadoras que integrem conhecimentos de diversas disciplinas, especialmente no contexto da ciência nuclear e da biotecnologia. A radiobiologia, por exemplo, desempenha um papel central na compreensão dos efeitos da radiação ionizante em sistemas biológicos, o que é crucial tanto para o aprimoramento de terapias oncológicas quanto para a proteção de indivíduos expostos a níveis potencialmente perigosos de radiação. Por outro lado, a biotecnologia tem permitido progressos na manipulação de organismos e moléculas para diversas aplicações, incluindo o desenvolvimento de biossensores, que vem mostrando um grande potencial em diversas áreas, como medicina, meio ambiente, segurança nuclear e outros (OKARVI e MAECKE, 2013).

No campo da detecção de radiação ionizante, em particular a radiação gama, a identificação precisa e o monitoramento eficaz são de extrema importância. Isso é especialmente relevante em cenários que envolvem segurança nuclear, radioproteção e controle ambiental. Métodos tradicionais de detecção, como dosímetros termoluminescentes e detectores Geiger-Müller, embora amplamente utilizados, apresentam algumas limitações inerentes, como custos elevados, complexidade operacional e baixa portabilidade (ALFAYA e KUBOTA, 2002; ATTIX, 1986). Nesse contexto, os biossensores surgem como alternativas promissoras, sendo dispositivos que utilizam componentes biológicos, como proteínas, enzimas ou células, para detectar e quantificar substâncias específicas com alta precisão.

Uma abordagem inovadora nesse campo é o uso de peptídeos antimicrobianos (PAMs) como elementos sensíveis em biossensores. Esses peptídeos, compostos por cadeias curtas de aminoácidos, são produzidos por diversos organismos, incluindo bactérias, fungos e plantas, e possuem atividade antimicrobiana contra uma ampla gama de microrganismos. Entre os organismos produtores, a bactéria *Paenibacillus polymyxa* tem se destacado como uma fonte promissora de PAMs com diversas aplicações biotecnológicas. Entre os compostos produzidos por essa bactéria, destacam-se polimixinas, jolipeptina, polipeptins, gavaserin, saltavalin, gatavalin, fusaricidinas e polixina (CHOI et al., 2007), que atuam contra uma variedade de bactérias (Gram-positivas e Gram-negativas) e fungos (GU et al., 2010). A diversidade de PAMs produzidos por *P. polymyxa* demonstra o potencial biotecnológico dessa bactéria para o desenvolvimento de novos compostos antimicrobianos (SERRANO, 2014). No entanto, a estabilidade desses peptídeos em condições adversas, como a exposição à radiação ionizante, ainda é pouco explorada. Um estudo preliminar conduzido por De Lima et al. (2022) demonstra o efeito da radiação gama em PAMs, abrindo caminho para investigações mais aprofundadas sobre a utilização desses peptídeos em aplicações envolvendo radiação. Com base na revisão bibliográfica a hipótese central é que os PAMs derivados de *Paenibacillus polymyxa*, devido à sua estrutura e propriedades físico-químicas, ápos a exposição à radiação ionizante gama, podem apresentar alterações detectáveis em suas propriedades as quais emergem como uma notável aplicação no desenvolvimento de

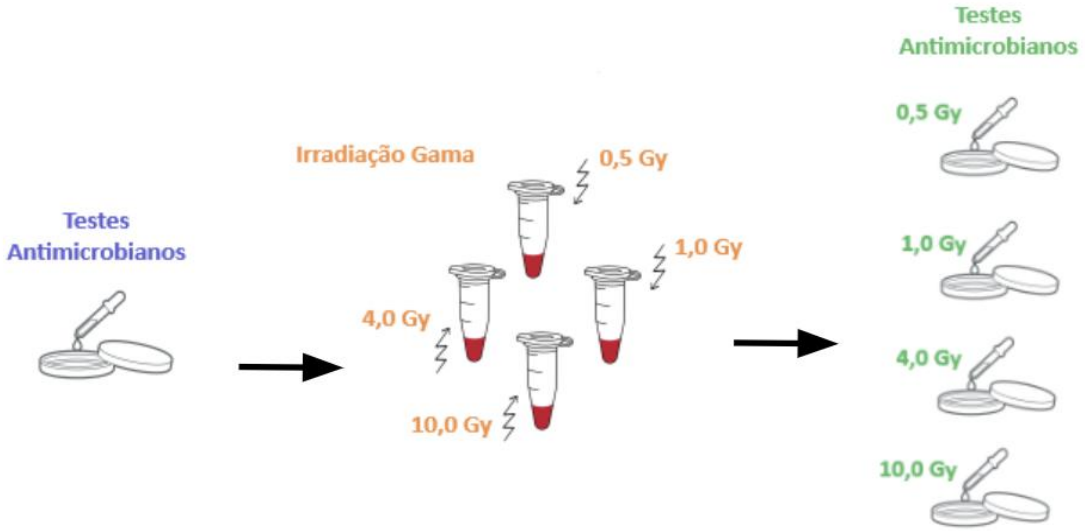
biossensores para a radiação gama. Além disso, o uso de biossensores baseados em PAMs pode oferecer vantagens significativas em relação aos métodos tradicionais, como maior seletividade, menor custo de produção e maior rapidez na detecção. Essa perspectiva é particularmente relevante em aplicações emergenciais, como a identificação de níveis de radiação em acidentes nucleares ou a monitorização em tempo real em áreas de risco (HUANG et al., 2024).

Em síntese, o uso de peptídeos antimicrobianos derivados de *Paenibacillus polymyxa* como elementos centrais no desenvolvimento de biossensores para radiação gama representa uma abordagem inovadora e promissora. A integração de conhecimentos em ciência nuclear e biotecnologia tem o potencial de gerar avanços significativos tanto no monitoramento de radiação quanto na segurança nuclear, contribuindo para soluções mais eficazes em desafios globais. Essa proposta reflete o compromisso com a inovação científica e tecnológica, alinhada às demandas de um mundo em constante transformação.

2 METODOLOGIA

A metodologia deste estudo foi estruturada em etapas que estão planejadas para garantir o resultado satisfatório do estudo.

Figura 1. Representação simplificada da metodologia.



Fonte: Autora, 2024.

2.1 SELEÇÃO E OBTENÇÃO DE PAMS

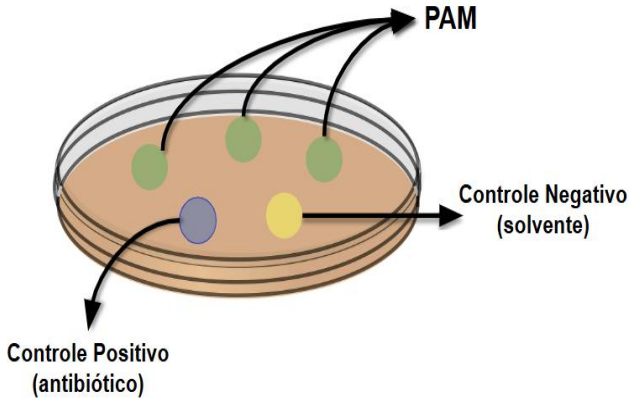
A seleção dos peptídeos antimicrobianos (PAMs) para este estudo foi precedida por uma revisão bibliográfica detalhada, envolvendo a análise de artigos científicos, livros e sites da área de radiobiologia, microbiologia e biotecnologia, publicados entre 2010 e a atualidade. O foco da revisão priorizou a identificação de PAMs com potencial para estabilidade frente à radiação ionizante, principalmente para aqueles produzidos por bactérias aeróbias ou anaeróbias facultativas que formam

endósporos resistentes ao estresse. Esses micro-organismos são encontrados em diversos ambientes, como o solo, a água e nas rizosferas de diferentes plantas (LAL e TABACCHIONI, 2009).

2.2 CARACTERIZAÇÃO DOS PAMS E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Após a seleção do peptídeo antimicrobiano, foi realizado a avaliação da atividade antimicrobiana dos PAMs contra diferentes microrganismos por meio de ensaios microbiológicos utilizando uma variedade de bactérias entre elas Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25922), Gram-negativas (*Escherichia coli* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 14207, entre outras) e fungos (*Candida albicans* ATCC 10231). Foi utilizado como controle negativo água destilada a fim de verificar se não interfere no crescimento do microrganismo e como controle positivo o antibiótico Penicilina (5000 unidades – 10mg/ml) para validar a técnica e garantir que os microrganismos são sensíveis. A atividade antimicrobiana dos PAMs foi avaliada utilizando-se a técnica de difusão em ágar, conforme as normas do Clinical and Laboratory Standards Institute, 2024. Após a irradiação, a atividade antimicrobiana do PAM foi reavaliada para verificar possíveis alterações. A análise comparativa dos resultados pré e pós irradiação permitirá avaliar a sensibilidade dos PAMs à radiação gama e identificar possíveis alterações em suas propriedades.

Figura 2. Representação do teste de difusão em ágar.



Fonte: Autora, 2024.

2.3 IRRADIAÇÃO DOS PEPTÍDEOS ANTIMICROBIANOS.

Os peptídeos antimicrobianos obtidos foram irradiados com diferentes doses de radiação gama, variando de 0 a 10 Gy, utilizando uma fonte de Cobalto-60 do Laboratório de Centro de Radiações do IPEN/CNEN apresentado na Figura 3. As condições de irradiação foram controladas para garantir a reprodutibilidade dos experimentos, com atividade da fonte em março de 2024 de 368,945 Ci, taxa de dose de 317, 88 Gy/h e temperatura de 26ºC. As amostras foram irradiadas no volume de 1,5 ml em tubos Eppendorf, realizados em duplicatas conforme Figura 3.

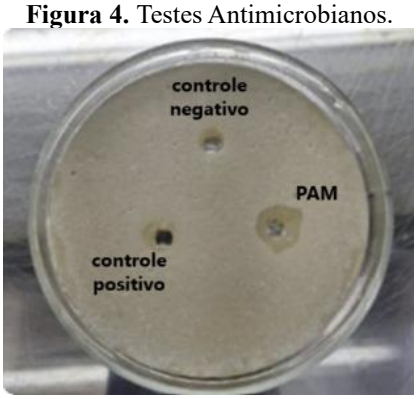
Figura 3. Amostras no irradiador Co-60 - GamaCell 220.

Fonte: Autora, 2024.

3 RESULTADOS

A revisão da literatura revelou que o peptídeo antimicrobiano PpRNCD, derivado de *Paenibacillus polymyxa*, emergiu como um candidato promissor para aplicações em biossensores de radiação gama, conforme destacado por Serrano (2014) e De Lima et al. (2022). Esta escolha baseia-se em suas propriedades estruturais e físico-químicas únicas, que conferem alta estabilidade frente à radiação ionizante. A busca sistemática em bases de dados como PubMed e Scopus, nos últimos 10 anos, foi conduzida para identificar estudos que investigassem a resistência de PAMs à radiação ionizante, o qual identificou estudos a respeito de peptídeos e radiação gama, destacando o PpRNCD como um peptídeo com elevado limiar de eficiência após exposição à radiação.

Figura 4. Testes Antimicrobianos.



Fonte: Autora, 2024.

A Tabela 1 apresenta os resultados de atividade antimicrobiana do PpRNCD contra diversos microrganismos. Os dados mostraram atividade significativa contra bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*) e fungos (*Candida albicans*), enquanto não foi observada atividade antimicrobiana contra microrganismos Gram-negativos, como *Pseudomonas aeruginosa*.

Tabela 1. Avaliação antimicrobiana.

Microrganismo	Atividade antimicrobiana
Pseudomonas aeruginosa	Não
Listeria monocytogenes	Não
Escherichia coli	Sim

Staphylococcus aureus	Sim
Candida albicans	Sim

Fonte: Autora, 2024.

4 DISCUSSÃO

A avaliação da atividade antimicrobiana dos peptídeos antimicrobianos, após a exposição à radiação gama, corroborou com os resultados obtidos dos estudos que tratam da estabilidade e manutenção da atividade biológica do peptídeo antimicrobiano (ALFAYA e KUBOTA, 2002; SERRANO, 2014), indicando que o PpRNCD possui uma robustez estrutural que o torna altamente estável mesmo após exposição à radiação gama. Essa estabilidade é atribuída à sua estrutura molecular simplificada, composta por cinco aminoácidos descrito por Serrano (2014), que minimiza os danos oxidativos causados por espécies reativas de oxigênio (ROS) geradas pela interação da radiação com a água.

A radiação ionizante, ao interagir com a água, gera espécies reativas de oxigênio (ROS) que, por sua vez, interagem com os PAMs, causando danos oxidativos e modificações estruturais (NARDI, 2009; HUANG et al., 2024). Essas alterações resultam em modificações nas propriedades espectroscópicas e eletroquímicas dos peptídeos, tornando-os detectáveis por diversas técnicas analíticas corroborando com o estudo de Thomazini (2016) que considera os conceitos de fotoluminescência em biomoléculas, sendo possível investigar a aplicação de diferentes técnicas utilizadas atualmente no desenvolvimento de biossensores, incluindo a imobilização dos PAMs em plataformas adequadas, como eletrodos ou fibras ópticas.

Com base nesses resultados é possível demonstrar a potencialidade de aplicação do peptídeo antimicrobiano - objeto deste estudo - no desenvolvimento de biossensores de radiação gama além do fato de conseguir utilizá-los no processo de remediação microbiológica, devido o efeito antimicrobiano (DE CESARE et al., 2020). Imobilizado pode ser utilizado como um biossensor, de outra forma, como remediador controlando riscos, demonstrando a versatilidade. O foco nos biossensores é devido às suas principais características em serem precisos, portáteis, rápidos e de baixo custo (WANG, 2006; D'ORAZIO, 2011), superando as limitações dos métodos tradicionais de detecção. Os resultados preliminares deste estudo indicam que os PAMs derivados de *Paenibacillus polymyxa*, especialmente o peptídeo PpRNCD, são um possível e provável caminho para o desenvolvimento de biossensores de radiação gama.

5 CONCLUSÃO

Este estudo conclui que o peptídeo antimicrobiano PpRNCD, produzido por *Paenibacillus polymyxa*, possui características duais e promissoras para aplicação no desenvolvimento de biossensores de radiação gama. A continuidade do trabalho experimental deverá confirmar sua

viabilidade, potencializando o uso de biossensores portáteis e rápidos para aplicações em segurança nuclear e monitoramento ambiental. Portanto, o estudo visa contribuir para o avanço do conhecimento nas áreas de radiobiologia, biotecnologia, segurança e instrumentação nuclear por meio da inovação no desenvolvimento de novos métodos de detecção mediante a investigação do potencial de peptídeos antimicrobianos como materiais sensíveis à radiação gama. Embora a resistência a microrganismos, que é funcionalização dos PAMs, e o desenvolvimento de biossensores possam parecer conceitos desconexos a princípio. No contexto da pesquisa, a capacidade dos PAMs de manter sua atividade antimicrobiana mesmo após a exposição à radiação é fundamental. Pois isso, garante que em ambientes com radiação, os peptídeos antimicrobianos continuem funcionando como elementos detectores no biossensor, sem que sua função seja comprometida pela presença de microrganismos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos o apoio financeiro da FINEP no âmbito do projeto "Desenvolvimento e Inovação de Sensores, Biossensores, Detectores Nacionais e Produtos Estratégicos Relacionados a Agentes QBRN de Uso Dual (PDI-QBRN)" conduzido no Instituto Militar de Engenharia (IME).

REFERÊNCIAS

ALFAYA, A. A. S.; KUBOTA, L. T. A utilização de materiais obtidos pelo processo de Sol-Gel na construção de biossensores. Química Nova, v. 25, n. 5, pp. 835-841, 2002.

ATTIX, F. H. Introduction to Radiological Physics and Radiation Dosimetry. New York: Wiley, 1986.

CHOI, S. K.; et al. Identification and functional analysis of the fusaricidin biosynthetic gene of Paenibacillus polymyxa E681. Biochem Biophys Res Commun, v. 365, pp. 89-95, 2007.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 34th ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2024.

DE CESARE, G. B.; et al. Antimicrobial Peptides: a New Frontier in Antifungal Therapy. mBio, v. 11, n. 6, 02123-20, 2020.

DE LIMA, M. R.; et al. Estudo do limiar da eficiência funcional de peptídeo antimicrobiano (PAM) sujeito a irradiação gama. International Joint Conference Radio 2022, Poços de Caldas, pp. 363-364, 2022.

D'ORAZIO, P. Biosensors in clinical chemistry. Clinica Chimica Acta: International Journal of Clinical Chemistry, pp. 1749-176, 2011.

GU, L.; et al. Production of a newly isolated Paenibacillus polymyxa biocontrol agent using monosodium glutamate wastewater and potato wastewater. J Environ Sci, v. 22, n. 9, pp. 1407-1412, 2010.

HUANG, X. Y.; et al. Exopolysaccharides of Paenibacillus polymyxa: a review. International Journal of Biological Macromolecules, [S.L.], v. 261, pp. 129663, 2024.

LAL, S.; TABACCHIONI, S. Ecology and biotechnological potential of Paenibacillus polymyxa: a minireview. Indian Journal Microbiology, n. 49, pp. 2-10, 2009.

NARDI, D. T. Estudo dos efeitos da radiação gama na estrutura de alguns peptídeos de relevância biológica. São Paulo, 2009. 110 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Paulo.

OKARVI, S. M.; MAECKE, H. R. Peptides for Nuclear Medicine Therapy: chemical properties and production. Therapeutic Nuclear Medicine, [S.L.], pp. 105-123, 2013.

SERRANO, N. F. G. Produção de compostos antimicrobianos por Paenibacillus polymyxa RNC-D: otimização das condições de cultivo, purificação e caracterização dos bioprodutos. São Carlos, 2014. 233 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal de São Carlos.

THOMAZINI, B. S. Desenvolvimento de biossensor óptico para detecção de microrganismos patogênicos. São Carlos, 2016. 124 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Carlos.

WANG, J. Electrochemical biosensors: towards point-of-care cancer diagnostics. Biosensors and Bioelectronics, [S.L.], v. 21, n. 10, pp. 1887-1892, 2006.