

ANAIS DO VIII SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA APLICADA

ISSN 2237-1672

Porto Alegre - RS 4 a 6 de novembro de 2015

REALIZAÇÃO:





COMISSÃO ORGANIZADORA

Aline Weber Medeiros Ana Carolina Medeiros Milanezi **Belize Rodrigues Leite** Daniele Oliveira **Diogo Andreis** Fernando Finoketti Gabriela Boelter Juciana Clarice Cazarolli Karine Lena Meneghetti Marcela Proença Borba María Jesus Sutta Martiarena Patricia Dörr de Quadros Patrícia Valente Raíssa Nunes dos Santos Rebeca Inhoque Silvia Adriana Mayer Lentz Susana de Oliveira Elias

COMISSÃO CIENTÍFICA

Ana Folmer - UFRGS/PPGMAA

Danielle da Silva Trentin - UFRGS/PPGBCM

Franciele Maboni Siqueira - UFRGS/PPGBCM

Gloria Narjara Silva - UFRGS/PPGBCM

Helton Fernandes dos Santos - UFRGS/PPGMAA

Juliana Caierão - UCFSPA

Patricia Quadros - UFRGS/PPGMAA

Patricia Valente - UFRGS/PPGMAA

Tiane de Moura - UCFSPA



Potencial fungicida do sal imidazólico C₁₆MimCl pelo ensaio de tempo de morte (TKA) em espécies do complexo *Fusarium graminearum*.

<u>Aícha Daniela Ribas</u>¹; Emerson Del Ponte²; Henri Schrekker³ Alexandre M. Fuentefria¹ aicha.ribas@gmail.com

- 1-Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da 2-Saúde, Laboratório de Micologia, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.
- 2- Departamento de fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa UFV, Viçosa, MG, Brazil.
- 3-Laboratório de processos tecnológicos e catálise, Inst. de Química; Universidade Federal do Rio Grande do Sul UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

Resumo

Espécies do complexo Fusarium graminearum (complexo Fg) infectam culturas de cereais economicamente importantes. O controle da doença, especialmente a giberela do trigo depende de aplicações de fungicidas extremamente tóxicos, que podem selecionar estirpes resistentes na população ambiental. Os Sais imidazólicos (SI), considerado atóxico para células humanas, vêm sendo utilizados em diversos campos do conhecimento, já tendo sido demonstradas características antimicrobianas. Portanto, este estudo objetivou verificar a atividade do SI C₁₆MimCl (SI-Cl) pelo ensaio de tempo de morte (TKA) em espécies do complexo F.g. O inóculo fúngico (2,5 x 10⁵ UFC ml-1) foi incubado na presença de concentrações de SI-CI correspondentes aos CIM (3,12 μ g.ml⁻¹), 2xCIMC (6,24 μ g.ml⁻¹) e 4xCIM (12,5 μ g.ml⁻¹) para F. asiaticum, F. graminearum, e F. meridionale, e comparados com a testemunha. Em 1, 6, 12, 24, e 48 h, alíquotas da suspensão de macroconídios foram removidas e diluídas para obter 10⁻¹ a 10⁻³ diluições. Posteriormente 0,1 ml foram espalhadas em placas de BDA e incubadas a 25 °C durante 48 h. As curvas de tempo de morte foram representadas pela média log10 UFC/ml, em função do tempo de exposição da suspensão de conídios das várias concentrações do SI-CI. Nas concentrações de MIC e 2xMIC houve ação fungistática. Somente a curva de F. meridionale se diferenciou das demais após às 48h indicando ação fungicida em 2xMIC (6,24 µg.ml). Porém, na concentração de 4xMIC, correspondente a 12,5 µg/mL, constatou-se ausência total de (UFC) para todas as espécies. Configurando neste caso, que a ação fungicida do composto foi dependente de uma dose mais alta, mas não do tempo, pois desde a primeira hora de incubação houve ausência de crescimento micelial. Neste estudo foi demonstrado o excelente potencial fungicida do SI C₁₆MImCl em 4xMIC sob todas as espécies do complexo Fg., podendo ser considerado uma fonte viável de desenvolvimento para novos compostos fungicidas de baixa toxicidade.

Palavras-chave: Fungos fitopatogênicos, controle químico, Sais imidazólicos, Giberela do trigo; resistência.

Projeto financiado: CAPES

Análise de protozoários zoonóticos em alfaces comercializadas na região metropolitana de Porto Alegre - RS

André Luiz de Souza¹, Sandra Márcia Tietz Marques¹; Muriel Rodrigues Ferraz de Oliveira¹; Luiza Peters de Souza¹

luiz.souza@ufrgs.br

1 — Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Laboratório de Helmintoses, Av. Bento Gonçalves, 9090. Porto Alegre/RS. CEP: 91540-000.

Os alimentos consumidos in natura, como as hortaliças, são importantes na cadeia epidemiológica da transmissão e perpetuação de parasitos. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) determina, por resolução, que as hortaliças devem ter ausência de sujidades, parasitos e larvas. Objetivo: avaliar a contaminação por parasitos de interesse em Saúde Pública em alfaces (Lactuca sativa) comercializadas na região metropolitana de Porto Alegre. Um total de 71 pés de alface, originários dos municípios de Porto Alegre (15), Gravataí (5), Cachoeirinha (33), Sapucaia do Sul (4) Farroupilha (2), Garibaldi (5) e Caxias do Sul (3), foram comprados de mercados e diretamente de produtores, entre os meses de maio a agosto de 2015. As amostras foram transportadas para o laboratório de helmintoses da FAVET/UFRGS em sacos plásticos descartáveis de primeiro uso. Os pés foram divididos em duas partes, lavadas sob agitação com 1000 mL de água destilada. O conteúdo foi transferido para copos de sedimentação e permaneceram por 12 horas no mínimo. O sobrenadante foi desprezado e o sedimento foi observado pelo método de sedimentação espontânea e parte deste foi transferido para tubos cônicos e submetido à centrifugo-flutuação com sulfato de zinco a 33% por 15 minutos. Para cada técnica foram confeccionadas três lâminas e observadas em microscópio óptico nos aumentos de 10 e 40X. Todas as amostras foram negativas para a presença de cistos e oocistos de protozoários. Foram encontrados ácaros vivos (5), larvas (6) e ovos do tipo Strongyloidea (1). Conclusão: Embora não tenham sido detectados parasitos de caráter zoonótico, é importante o cuidado na higienização destes alimentos para consumo in natura.

Palavras-chave: alface; parasitos; protozoários.

Inativação fotodinâmica de conídios de *Colletotrichum truncatum* via porfirinas tri- e tetra catiônicas.

<u>Camila Chevonica Vandresen</u>¹, Alan Guilherme Gonçalves¹, Diogo Ricardo Bazan Ducatti², Miguel Daniel Noseda², Maria Eugenia Rabello Duarte², Sandra Mara Woranovicz Barreira¹

camilacvandresen@gmail.com

- 1 Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Av. Pref. Lothário Meissner, 632. Curitiba/PR. CEP: 80210-170.
- 2 Universidade Federal do Paraná. Departamento de Bioquímica. Av Cel Francisco H dos Santos, 100. Curitiba/PR. CEP: 81530-900

Resumo

A inativação fotodinâmica (PDI) representa uma associação entre luz visível, fotossensibilizador e oxigênio tecidual, a qual objetiva a destruição seletiva de determinado alvo biológico. Dentre os fotossensibilizadores utilizados se encontram as porfirinas catiônicas, descritas como eficientes para a inativação de micro-organismos. Colletotrichum truncatum é o causador da antracnose em soja (Glicine max), enfermidade responsável por elevadas perdas produtivas no Brasil e no mundo. Colletotrichum truncatum foi obtido da coleção de micro-organismos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e cultivado em Agar Farinha de Aveia, a 27°C, durante 7 dias. Após, uma suspensão padronizada de 105 conídios/mL foi preparada em tampão fosfato salina (PBS) e padronizada em câmara de Neubauer. Paralelamente, os fotossensibilizadores foram mantidos em soluções 1 mM em dimetilsulfóxido. A inativação fotodinâmica foi realizada em triplicata empregando PBS como meio de análise, e neste foram adicionadas a suspensão padronizada de conídios e porfirinas. As concentrações avaliadas foram 0,25; 0,5; 0,75 e 1 micromolar para a porfirina tricationizada e 0,25; 0,5; 1 e 2 micromolar para a porfirina tetracationizada. Os controles consistiram nas maiores concentrações de porfirinas na ausência de irradiação e a aplicação da luz na ausência de porfirinas. Os resultados foram expressos em UFC/mL e a CL50 calculada a partir do emprego da equação da reta obtida para cada composto. A fotoestabilidade das porfirinas também foi avaliada. A atividade fotodinâmica inativadora das porfirinas tri- e tetra catiônicas evidenciaram concentrações letais para 50% dos conídios (CL50) de 0,66 e 1,52 micromolar, respectivamente. Aliada à eficiência em baixas concentrações, os derivados exibiram fotoestabilidade. Os resultados indicam a aplicabilidade de porfirinas catiônicas para a PDI de fungos filamentosos e podem vir a contribuir para o controle da antracnose no Brasil.

Palavras-chave: inativação fotodinâmica; porfirinas catiônicas; antracnose; *Colletotrichum truncatum.*

Projeto financiado: CAPES, CNPq, Pronex Carboidratos, Fundação Araucária.

Avaliação da produção de enzimas por bactérias biocontroladoras de doenças do feijão

<u>Daniela Pimentel Rodriguez</u>¹, Renata Moccellin¹, Ismail Teodoro de Souza Júnior¹, Julia Pelegrineli Fasolin¹, Andrea Bittencourt Moura¹

danip.rodriguez@hotmail.com

¹ Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Fitossanidade – Laboratório de Bacteriologia Vegetal, Campus Universitário Capão do Leão Caixa Postal 354, CEP: 96010-900 – Pelotas, RS – Brasil.

Resumo

O feijão apresenta importância econômica no país, sendo seu cultivo amplamente distribuído. No entanto, a cultura apresenta queda na produtividade devido à incidência de doenças. A busca pelo biocontrole de fitopatógenos tem revelado uma gama de agentes capazes de exercer diferentes mecanismos de ação. Dentro deste contexto, as rizobactérias podem produzir uma gama de compostos relacionados ao biocontrole de diferentes fitopatógenos. Assim o objetivo deste trabalho foi avaliar in vitro a produção de enzimas relacionadas com o controle biológico (CB) por isolados bacterianos selecionados para biocontrole de doenças do feijão. Foi avaliada a capacidade das bactérias biocontroladoras (BB) em produzir enzimas hidrolíticas. Para tanto, foi utilizado um ou mais meios específicos para cada composto. Nas placas, diferentes BB foram semeadas, em pequenos círculos, isolados de Bacillus (DFs93/DFs348/DFs769). Rhodococcus fasciens (DFs348/DFs912) Pseudomonas (DFs513/DFs831/DFs842). A estas placas adicionou-se uma bactéria com atividade positiva e outra negativa, usadas como controles. Para cada avaliação foram utilizadas seis repetições, dispostas em delineamento inteiramente casualizado. As avaliações foram realizadas após diferentes tempos de incubação, em função da metodologia usada, sendo feitas avaliações quantitativas e semi-quantitativas. Foi avaliada a capacidade de hidrolisar carboidratos estruturais (celulose, glucana e quitina) e não-estrutural (amido), proteínas (caseína, esculina e gelatina) e lipídeos (lecitina e Tween 80). De forma geral, todas as BB foram capazes de produzir algum composto que possa estar envolvido no CB. Todas as BB apresentaram atividade hidrolítica, porém nos testes utilizados não foi possível detectar produção de quitinases e glucanases. Os isolados de Bacillus proporcionaram maior diversidade de compostos envolvidos com CB, representando 78% das enzimas avaliadas, capazes de hidrolisar amido, celulose, caseína, esculina e gelatina além de hidrolisar lecitina e Tween80. Por fim, este trabalho demonstra a habilidade biocontroladora e o potencial destas BB atuarem por diferentes mecanismos de ação.

Palavras-chave: proteinases, lipases, amilases, rizobactérias, Phaseolus vulgaris

Isolamento, seleção e avaliação do potencial de biodegração de Glifosato (N-(fosfonometil)glicina) por bactérias isoladas de solo de lavoura em Laranjeiras do Sul, PR.

Fernanda Natalí Demichelli¹, Cátia Tavares dos Passos¹, Luisa Helena Cazarolli¹

fernanda_int@uffs.edu.br

1 - Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS, *Campus* Laranjeiras do Sul, Laboratório de Microbiologia Geral, Br 168, Km 405, Laranjeiras do Sul/PR. CEP: 85.301-970.

Resumo

O uso abusivo de glifosato, um dos agrotóxicos mais utilizados no Brasil, está relacionado à problemas de saúde e ao ambiente, devido a isso, o trabalho teve como objetivo isolar, selecionar e avaliar a capacidade de degradação de glifosato de bactérias de um solo com uso intensivo deste agrotóxico. Foram coletadas 12 amostras de solo aleatoriamente (0-10cm de profundidade), homogeneizadas, transferido 1g da amostra para erlenmeyer contendo 50mL de meio mineral (MM) (g/L, KCl 0,7; KH₂PO₄ 2; Na₂HPO₄ 3; NH₄NO₃ 1; MgSO₄ 1; FeSO₄ 4; MnCl₂ 0,2; CaCl₂ 0,2; pH 7,2) com 100µg/mL de glifosato (única fonte de carbono) com 3 transferências subsequentes (1mL), incubando a 28°C/1 semana/transferência. Após, as bactérias foram isoladas em ágar nutriente com 300µg/mL de glifosato e identificadas pela técnica de coloração de Gram. Uma alçada do inóculo foi transferida para erlenmeyers com 100mL de caldo nutriente e 300µg/mL de glifosato, incubado a 150 rpm/48h. Após 3 lavagens (MM), o inóculo foi padronizado (escala de McFarland). O ensaio do potencial de degradação das bactérias isoladas foi realizado com a incubação do inóculo (106 UFC/mL), em MM na ausência/presença de concentrações de glifosato (300 a 700µg/mL) utilizando o indicador redox 2,6-diclorofenol-indofenol (DCPIP), incubadas em estufa e realizadas medidas espectofotométricas a 600 nm no período de 28°C/0-72h. Foram isoladas 25 bactérias tolerantes ao glifosato, 4 foram testadas para capacidade de crescimento: B6 e B11 (bacilos gram positivos) e B8 e B9 (bacilos gram negativos). Das bactérias testadas, a que se destacou estatisticamente foi a bactéria B8, em todas as concentrações utilizadas, seguida pela B9. Embora tenha ocorrido degradação abiótica do glifosato, todas as bactérias apresentaram potencial de degradação, pois a média de redução foi significativamente maior que o controle. Conclui-se que as bactérias isoladas foram capazes de crescer e utilizar o glifosato como única fonte de energia.

Palavras-chave: bactérias; biodegradação; glifosato; herbicida; microbiologia ambiental.

Projeto financiado: UFFS; projeto NEA-agroecologia, CNPg.

Seleção de *Bacillus* spp. isolados da Bacia Amazônica como agentes de controle biológico de fungos produtores de citrinina

<u>Flávio Fonseca Veras</u>¹, Ana Paula Folmer Correa¹, Tiago Centeno Einloft², Juliane Elisa Welke³, Adriano Brandelli¹

ffveras@yahoo.com.br

- 1 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Laboratório de Bioquímica e Microbiologia Aplicada, Avenida Bento Gonçalves, 9500. Porto Alegre/RS. CEP: 91501-970.
- 2 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Departamento de Fitossanidade. Avenida Bento Gonçalves, 7712. Porto Alegre/RS. CEP: 91540-000.
- 3 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Laboratório de Toxicologia de Alimentos, Avenida Bento Gonçalves, 9500. Porto Alegre/RS. CEP: 91501-970.

Resumo

Dentre as micotoxinas consideradas emergentes, a citrinina vem se destacando devido as suas propriedades tóxicas em animais e humanos, bem como pela coocorrência e efeito sinérgico com outra micotoxina nefrotóxica, a ocratoxina A.
Recentemente, *Bacillus* spp. isolados da Região Amazônica vêm demonstrando
atividade antifúngica contra fungos produtores de micotoxinas. No entanto, o
conhecimento sobre este potencial ainda é limitado, sendo necessário explorar o
espectro de ação dessas bactérias contra diferentes fungos toxigênicos. O objetivo
deste trabalho foi avaliar o efeito de *Bacillus* spp. isolados da Região Amazônica sobre
o crescimento de fungos produtores de citrinina.

Diferentes linhagens de Bacillus spp., pertencentes ao banco de culturas do Laboratório de Bioquímica e Microbiologia Aplicada (ICTA/UFRGS), foram cultivadas em caldo Triptona de Soja (TSB) a 37°C, 125 rpm/48h. Uma suspensão de 104 esporos/mL dos fungos Monascus purpureus ou Penicillium citrinum, foi inoculada em ágar Batata Dextrose (BDA). Após solidificação do ágar, 20 μL do cultivo bacteriano foi aplicado nas placas. As zonas de inibição foram medidas após 7 dias de incubação a 25°C. Para a avaliação do efeito no crescimento radial, 1 mL do cultivo bacteriano (10⁷ UFC/mL) foi adicionado em BDA e em seguida, 10 μL da suspensão de esporos foi aplicado no centro da placa. O diâmetro das colônias foi medido diariamente durante 10 dias a 25°C, e os parâmetros de crescimento foram avaliados. A maioria das linhagens bacteriana demonstrou atividade antifúngica contra os fungos testados, com halos de inibição variando de 3 a 9 mm. Em especial, Bacillus sp. P1 apresentou melhores resultados na inibição de crescimento (89,1 e 74,2%), taxa de crescimento micelial (0,01 e 0,02 mm/dia) e redução da esporulação (63,8 e 100%) para M. purpureus e P. citrinum, respectivamente. Tais resultados sugerem que estas bactérias podem ser promissoras no controle biológico de fungos produtores de citrinina.

Palavras-chave: controle biológico; Bacillus; micotoxinas; citrinina.

Projeto financiado: CAPES, FAPERGS.

Quantificação da produção de ácido indo-acético (AIA), por rizóbios simbiontes em *Desmodium incanum*

Autores: <u>Franquiéle Bonilha da Silva</u>¹, Clarissa de Souza Borges², Renata D'Oliveira Bataiolli¹, Taís Backes³, Enilson Luiz Saccol de Sá⁴

franquiele_bonilha@yahoo.com.br

¹Mestranda, PPG Microbiologia Agrícola e do Ambiente, UFRGS

Palavras-chave: auxinas, fitormônios, promoção de crescimento vegetal.

Resumo

Aproximadamente 80% dos microrganismos isolados a partir da rizosfera de plantas possuem a capacidade de sintetizar e libertar auxinas como metabolitos secundários (Patten e Glick, 1996). O objetivo desse trabalho foi avaliar a capacidade e quantificar a produção de auxinas equivalentes ao ácido indol-acético em rizóbios isolados de plantas de Desmodium incanum (pega-pega), sem adição de triptofano (precursor do AIA). Para a quantificação de AIA, de acordo com o método de Asghar et al. (2002), os isolados foram inoculados em caldo LM (Vincent, 1970) em triplicata e foram incubados sob agitação de 120 rpm, a 28°C por 72 horas. Após esse período, foram transferidos para tubos de microcentrífuga de 2 mL e centrifugados a 10.000 rpm por cinco minutos. Após retirou-se uma alíquota de 1,5 mL do sobrenadante, no qual foi adicionado a 1 mL de solução de Salkowski e manteve-se por 30 minutos sob ausência de luz, tempo necessário para que ocorresse a reação de oxidação. Posteriormente, foi feita a leitura em espectrofotômetro em comprimento de onda de 550 nm. A concentração de AIA das amostras foi calculada comparando-se as leituras com uma curva padrão de concentrações conhecidas de AIA sintético. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de comparação de médias (Scott Knott, 5%), em que os dados foram transformados para a aproximação da curva normal (\sqrt{x}) . Dos 18 isolados testados, 11 apresentaram capacidade de produzir AIA, sendo que apenas dois apresentaram valores significativos (Dinc 4-5 = 5,53 µg/mL e Dinc 4-10 = 7,67 μ g/mL). Schlindwein et al. (2008), observaram que 1,2 μ g/mL de AIA, foram suficientes para aumentar o vigor de plantas de alface. Observou-se que a maioria dos rizóbios isolados de D. incanum, estudados neste trabalho, produzem AIA mesmo sem a adição do precursor triptofano.

Órgão de fomento: CAPES

²Doutoranda, PPG em Ciência do Solo, UFRGS

³Mestranda, PPG em Ciência do Solo, UFRGS

⁴Professor/pesquisador, Departamento de solos, UFRGS

Análise da riqueza bacteriana, em áreas orizícolas da Planície Costeira Externa do RS, em correlação com os parâmetros físico-químicos do solo.

Harry Luiz Pilz Júnior², Jeremias Pakulski Panizzon^{1,2}, Lidia Mariana Fiuza^{1,2}

Universidade do Vale do Rio dos Sinos - ¹PPG em Biologia, ²Lab. de Microbiologia e Toxicologia, Avenida Unisinos, 950. São Leopoldo/RS. CEP: 93022-000.

harrypilz@gmail.com

Resumo

Em agroecossistemas a diversidade microbiana possui grande importância devido às relações entre as plantas e os micro-organismos, promovendo a sustentabilidade do solo. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de variáveis físicoquímicas do solo, em lavoura de arroz, sobre a riqueza bacteriana. As coletas foram realizadas na cidade de Santo Antônio da Patrulha/RS, em arrozais, sob o sistema de cultivo mínimo, cultivar Puitá INTA-CL. As amostras de solo foram aleatoriamente coletadas em três pontos da lavoura, durante o ano agrícola 2013/14, sendo representado por 7 coletas. A riqueza bacteriana foi identificada utilizando análises bioquímicas com o auxílio dos kits Api (BioMérieux®) para gram-negativas e para gram-positivas com técnicas de pasteurização, esporulação e microscopia de contraste de fase. As análises físico-químicas do solo foram realizadas pelo Instituto Rio-Grandense do Arroz, sendo que neste estudo foram avaliados argila, pH, fósforo, potássio, matéria orgânica e cálcio. Para verificar a influência dos parâmetros físico-químicos do solo sob a riqueza bacteriana foi realizada a Análise de Correspondência Canônina (ACC). Os resultados mostraram a ocorrência de 32 espécies bacterianas, sendo as mais representativas: Bacillus thuringiensis, Lysinibacillus sphaericus, Bacillus cereus, Lactobacillus sp., Corynebacterium sp. e Aeromonas salmonicida. A análise da ACC apontou que os autovalores dos três eixos foram 0.390, 0.370 e 0.288, respectivamente. Os três eixos explicaram 63,6% da variação na distribuição das espécies. O teste de Monte Carlo demonstrou que a Análise da ACC foi significativa (p < 0,01), demonstrando relação entre os parâmetros analisados e a riqueza bacteriana. As variáveis de maior importância de ordenação no eixo 1 foram argila e no eixo 2, matéria orgânica. A argila está relacionada com as espécies de Bordetella/Alcaligenes/Moraxella sp.. Pseudomonas sp., Providencia alcalifaciens, Pseudomonas oryzihabitans, Proteus mirabilis e Serratia ficaria. A matéria orgânica está relacionada com Ewingella americana, Aeromonas hydrophila e Pantoea sp.

Palavras-chave: bactérias, físico-química, Oryza sativa, solo.

Projeto Financiado: Fapergs, CPNq, IRGA e UNISINOS.

Atributos Microbiológicos em Sistemas Agroflorestais do Assentamento Itamarati, no Município de Ponta Porã-MS.

<u>Izabelli dos Santos Ribeiro¹</u>, Patrícia Rochefeler Agostinho¹, Fernanda de Oliveira Galvão¹, Fábio Martins Mercante², Milton Parron Padovan².

iza-bio@hotmail.com

- 1 Universidade Federal da Grande Dourados, Pós-Graduação em Biologia Geral/Bioprospecção, Laboratório de Microbiologia do Solo, Embrapa Agropecuária Oeste Rodovia BR 163, Km 253,6, Caixa Postal 449, CEP: 79804-970, Dourados, MS.
- 2 Pesquisador da Embrapa Agropecuária Oeste; Rodovia BR 163, km 253,6, Caixa Postal 449, CEP: 79804-970, Dourados, MS

Resumo

Diversos atributos têm sido considerados como indicadores de qualidade do solo, entre eles destacam-se as avaliações dos microrganismos do solo. O objetivo do presente estudo consistiu no monitoramento de parâmetros microbiológicos, incluindo o carbono da biomassa microbiana do solo e sua atividade, em diferentes Sistemas Agroflorestais (SAFs). O estudo foi conduzido no Assentamento Itamarati, localizado no Município de Ponta Porã, MS. Foram avaliados quatro SAFs com características distintas: (i) SAF1- possui diversidade de frutíferas e arbóreas nativas, além de pastagem e eucalipto, sendo implementado há cinco anos; (ii) SAF2 - implementado há quatro anos, caracteriza-se pelo plantio em linhas de diversas espécies frutíferas e arbóreas nativas; (iii) SAF3 - caracterizado pelo plantio de espécies frutíferas, nativas e eucalipto que foram plantados há cinco anos; e (iv) SAF4 – sistema mais antigo, implementado há nove anos, sendo composto com uma grande diversidade de espécies frutíferas e arbóreas. As amostras de solo foram coletadas na camada de 10 cm de profundidade, nas áreas estudadas e também de uma vegetação sob Mata Nativa (MN) e Sistema Convencional (SC), para efeitos comparativos. O carbono da biomassa microbiana (C-BMS) foi determinado pelo método da fumigação-extração e sua atividade foi estimada pela respiração basal (C-CO₂). Quanto ao C-BMS, os SAF1 e SAF4, caracterizados por uma maior diversidade de espécies, mostraram-se superiores ao demais SAFs. Essa maior concentração de C-BMS, pode ser explicada pelos resíduos vegetais presentes na superfície do solo, resultante de uma grande diversidade de espécies, quando comparado aos outros sistemas. Os maiores valores C-CO₂ foram observados no SAF 4. De modo geral, verificou-se que os SAFs mais antigos (SAF1 e SAF4) e com maior diversidade de espécies contribuíram para a melhoria da qualidade do solo, quando comparados aos sistemas estabelecidos há menos tempo.

Palavras-chave: Biomassa microbiana do solo; atividade microbiana; qualidade do solo.

Bioatividade in vitro do óleo volátil de cravo-da-índia (Caryophyllus aromaticus L. - Myrtaceae) sobre Aspergillus niger.

<u>Lidiane da Silva Bonapaz¹,</u> Marcos Antonio Afonso¹, Vanessa Backes Nascimento Diel¹, Leandro Nicolodi Franscescato²

lidianebonapaz.bio@gmail.com

- ¹ Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões Campus Santo Ângelo, Departamento de Ciências Biológicas, Avenida Universidade das Missões, 464. Santo Ângelo/RS. CEP: 98802-470.
- ² Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões Campus Santo Ângelo, Curso de Farmácia, Avenida Universidade das Missões, 464. Santo Ângelo/RS. CEP: 98802-470.

RESUMO:

O cravo-da-índia (Caryophyllus aromaticus L., Myrtaceae) é utilizado há muito tempo na indústria alimentícia e na indústria farmacêutica por suas características aromáticas, e porque seu óleo volátil, rico em eugenol, lhe confere ação antimicrobiana. Diante a preocupação com a resistência antimicrobiana dos agrotóxicos e conhecendo o uso de plantas com potencial antifúngico, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a atividade antifúngica, in vitro, do óleo volátil presente no cravo-da-índia frente ao isolado fúngico Aspergillus niger com o intuito de desenvolver opções de controle alternativo. O óleo do cravo-da-índia foi obtido por hidrodestilação com auxilio do aparelho Clevenger. Para o teste bioanalítico empregou-se o método de difusão em meio sólido (poço) com concentrações de 80 e 40 µL do óleo. A atividade do óleo volátil no isolado fúngico foi comparada a um controle negativo com glicerina e, como controle positivo foi usado alíquotas de 2µL do fungicida comercial Fox, diluído conforme recomendações do fabricante. Para a medição dos halos foi usado um paquímetro. O resultado das observações foi que as duas concentrações apresentaram atividade antifúngica, sendo que a concentração de 80 µL promoveu maior inibição do crescimento micelial de A. niger, com halos de 1,6 cm, enquanto que a concentração de 40µL apresentou halos de 1,0 cm. O controle positivo apresentou halos de 2,4 cm e não houve inibição no controle negativo. A partir destes resultados é possível considerar que o uso de óleos voláteis, como o do cravoda-índia, é uma alternativa interessante de controle fúngico alternativo em plantas. Entretanto, é preciso realizar mais testes para avaliar a eficiência do óleo volátil do cravo-da-índia em relação a outros antifúngicos sintéticos, que são amplamente utilizados no controle de fitopatógenos agrícolas.

PALAVRAS-CHAVE: Controle alternativo; *Aspergillus niger*, *Caryophyllus aromaticus L.*; atividade antifúngica.

Avaliação da contaminação microbiológica da água de irrigação e de alfaces crespas (Lactuca sativa L.) em propriedades orgânicas e convencionais do sul do Brasil

Luana Tombini Decol¹, Ana Carolina Fösch Batista¹, Eduardo Cesar Tondo¹

decolnutri@gmail.com

1 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Av. Bento Gonçalves, 9500 Porto Alegre/RS. CEP: 91501-970.

Resumo

Novos hábitos alimentares preconizam um maior consumo de frutas e verduras, a fim de prevenir doenças crônicas graves, sendo a recomendação da Organização Mundial da Saúde a ingestão de 400g/dia desses alimentos. Em contrapartida, um número crescente de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), envolvendo frutas e vegetais, vem sendo registrado. A contaminação microbiológica dos vegetais pode ocorrer em várias etapas da sua produção, sejam eles produtos orgânicos ou convencionais. Dentre as principais fontes de contaminação de vegetais, a água de irrigação e suas fontes têm ganhado destaque nas pesquisas internacionais. Altas contagens de Escherichia coli genérica em água de irrigação têm sido relacionadas a uma maior probabilidade da presença de patógenos alimentares. O objetivo do presente estudo foi avaliar a contaminação microbiológica da água de irrigação proveniente de diferentes fontes e de alfaces crespas cultivadas no sul do Brasil. Durante o período de julho de 2014 a agosto de 2015, foram realizadas doze coletas em duas propriedades de cultivo de alfaces, localizadas na região sul do Brasil, sendo uma de cultivo orgânico e outra de cultivo convencional. Durante as visitas, foram coletadas 24 amostras de água de irrigação (açude e rio) e 22 amostras de alface (n=46). As amostras foram submetidas a análise de microrganismos indicadores (E. coli genérica e Coliformes Fecais) de acordo com a ISO 9308-1:2000 e AFNOR (2004). Os resultados demonstraram contagens elevadas de E. coli genérica (acima de 2 log UFC/mL) em 4 amostras de água de irrigação coletadas nos meses de verão. Dentre as amostras de alface, foram encontradas contagens acima de 2 log UFC/g em 2 amostras de cultivo orgânico e em 3 amostras de alface com cultivo convencional. A média das contagens nas amostras de alface (5,4 log UFC/g) foi superior à média das contagens encontradas nas amostras de água utilizada para a irrigação (2,7 log UFC/mL), indicando a existência de outras fontes de contaminação desses vegetais.

Palavras-chave: água de irrigação; alface; contaminação microbiológica; *Escherichia coli* genérica.

Projeto financiado: CNPq.

Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo volátil, extrato das folhas e dos ramos de *llex paraguariensis* A. St.-Hil. (erva-mate) – Aquifoliaceae

<u>Marcos Antonio Afonso¹</u>, Renata Voltolini Velho¹, Lidiane da Silva Bonapaz¹, Vanessa Backes Nascimento Diel¹, Leandro Nicolodi Franscescato².

marcosafonso.bio@live.com

- 1 Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões Campus Santo Ângelo, Departamento de Ciências Biológicas, Avenida Universidade das Missões, 464. Santo Ângelo/RS. CEP: 98802-470.
- 2 Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões Campus Santo Ângelo, Departamento de Farmácia, Avenida Universidade das Missões, 464. Santo Ângelo/RS. CEP: 98802-470.

Resumo

O uso e a comercialização de produtos naturais vem aumentando nas últimas décadas, tendo em vista a busca por novos produtos não industrializados, para diversas finalidades. Dentre as inúmeras espécies da flora brasileira com propriedades biológicas de interesse, encontra-se a *llex paraguariensis* A. St.-Hil. (Aquifoliaceae), conhecida popularmente como erva-mate. Propriedades eméticas, adstringentes, medicinais e bactericidas são popularmente atribuídas à espécie. Neste sentido, este trabalho tem por objetivo avaliar a atividade antibacteriana e antifúngica do óleo volátil, extrato de folhas e ramos da I. paraguariensis frente Escherichia coli ATCC 25922 e Aspergillus phoenicis. O material vegetal foi colhido no mês de agosto de 2015, em Santo Ángelo - RS. As folhas e ramos foram separados, lavados e macerados para elaboração dos extratos, sendo material triturado com auxilio de etanol absoluto e, posteriormente, filtrado. O óleo volátil foi obtido por hidrodestilação a partir de 400 g de folhas. A atividade antimicrobiana foi avaliada empregando a técnica de difusão em meio sólido (poço), com alíquotas de 25 e 50 µL do óleo e extratos. Uma maior inibição frente E. coli foi observada para o óleo volátil de I. paraquariensis, com halos de 2,5 cm e de 1,2 cm, nas concentrações de 50 µL e 25 µL, respectivamente. Os extratos de ramos e folhas não apresentaram uma diferença significativa entre si, sendo observada, na concentração de 50 µL, halos de 0,7 cm e 0,8 cm, respectivamente. O óleo volátil também apresentou melhor atividade antifúngica frente A. phoenicis, sendo observada, na concentração de 50 µL, uma inibição de 1,2 cm. Para os extratos, os halos de inibição observados foram 0,8 cm. Este trabalho confirma a atividade antibacteriana da erva-mate e demonstra uma possível atividade antifúngica. Para confirmação de tal propriedade, outros fungos serão testados.

Palavras-chave: *Ilex paraguariensis*, atividade antifúngica, atividade antibacteriana, óleos essenciais e extratos.

Isolamento e caracterização quanto à produção de ácido indolacético e solubilização de fosfato de rizóbios simbiontes em ervilhaca (*Vicia sativa*)

Renata D'Oliveira Bataiolli¹, Franquiele Bonilha da Silva¹, Taís Backes¹, Clarissa de Souza Borges¹, Bruna Raquel Winck¹, Enilson Luiz Saccol de Sá¹

renata_bataiolli@hotmail.com

1 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de solos, Laboratório de Microbiologia do Solo, Avenida Bento Gonçalves, 7712. Porto Alegre/RS. CEP: 91540-000.

Resumo

A ervilhaca (Vicia Sativa) é uma leguminosa, considerada planta de cobertura utilizada para a melhoria da fertilidade e da qualidade do solo. Interações benéficas entre bactérias e plantas, que promovam o crescimento vegetal, ajudam no aumento de produtividade agrícola. Este trabalho tem como objetivo isolar rizóbios simbiontes em ervilhaca, quantificar a produção de ácido indolacético (AIA) e avaliar a capacidade de solubilizar fosfato. Foram coletadas amostras de solo em área de ocorrência de ervilhaca na Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, localizada em Eldorado do Sul - RS. Realizou-se o isolamento bacteriano a partir de nódulos radiculares obtidos de plantas de ervilhaca cultivadas em casa de vegetação e inoculadas com suspensões de solo. Os nódulos foram macerados com pinça flambada em placas contendo meio levedura manitol (Vincent, 1970) com vermelho congo. Para a quantificação de AIA foi utilizada a metodologia de Asgar et al. (2002) e, para a avaliação da capacidade de solubilização de fosfato. a metodologia adaptada de Verma et al., (2001). Foram obtidos 30 isolados bacterianos dentre os quais 17 foram avaliados quanto à capacidade de produzir AIA e solubilizar fosfato tricálcico. Os isolados UFRGS Vs12, UFRGS Vs13 e UFRGS Vs16 foram os que mais produziram AIA e o isolado UFRGS Vs2 apresentou maior índice de solubilização de fosfato (ISF). Os dados indicam que há variabilidade entre os isolados estudados em relação às características potenciais para promoção de crescimento de plantas que podem vir a contribuir na promoção de crescimento vegetal.

Palavras-chave: rizóbio; Vicia sativa; fixação de nitrogênio

Projeto financiado pelo: Cnpq.

Impacto do uso de bactérias biocontroladoras sobre a microbiota do solo

Renata Moccellin¹, Ismail Teodoro de Sousa Júnior¹, Danilo Dufech Castilhos¹, Andréa Bittencourt Moura¹

renata.moccellin@gmail.com

1 Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia – Laboratório de Bacteriologia Vegetal, Campus Universitário Capão do Leão Caixa Postal 354, CEP: 96010-900 – Pelotas, RS – Brasil.

O uso de bactérias para o controle de patógenos causadores de doenças em arroz irrigado está sendo investigado intensivamente, mostrando-se eficiente. Por outro lado, a introdução dessas bactérias no solo pode causar alterações na microbiota nativa. Assim, o objetivo desse trabalho foi determinar possíveis alterações microbiológicas no solo, decorrentes da microbiolização das sementes com bactérias biocontroladoras. O experimento foi conduzido a campo em delineamento experimental, em blocos ao acaso com três repetições. Sementes da cultivar IRGA 420 foram microbiolizadas com: DFs185 (Pseudomonas synxantha), DFs223 (P. fluorescens), DFs306 (não identificada); C01(DFs185/306), C02(DFs306/416); C03 (DFs185/306/416 (Bacillus sp.)), e um tratamento químico BION®. As testemunhas foram tratadas em solução salina (0.85%). Quando as plantas atingiram o estágio V6 coletaram-se amostras de solo próximo ás raízes das plantas. Do solo coletado foram feitas as seguintes avaliações: respiração basal do solo, carbono orgânico, biomassa microbiana, quocientes microbiano e metabólico. Observou-se que todos os tratamentos alteraram significativamente estas variáveis associadas à qualidade do solo, exceto para o carbono orgânico no solo. O tratamento C01 foi o único que apresentou maior incorporação de carbono pelos microrganismos (biomassa microbiana), sendo 17% superior à testemunha. O quociente microbiano seguiu a mesma tendência, sendo 19% maior. Essa estabilidade do tratamento pode ser confirmada pela baixa respiração basal (0,35 µ C-CO₂ h⁻¹g⁻¹). Esse ponto é positivo, pois indica que não houve stress na microbiota. O quociente metabólico baixo (0,75) confirma que o ambiente microbiano encontra-se estável. Esses resultados são importantes, pois mostram que Bacillus e Pseudomonas utilizados nos tratamentos possuem a capacidade de manter a microbiota equilibrada, potencializando o seu uso no controle de doenças e até mesmo para promover o crescimento das plantas.

Palavras-chave: Oryza sativa, biomassa microbiana, respiração basal

Projeto financiado: CAPES

Ação in vivo e in vitro de uma nova cepa de Bacillus thuringiensis sobre larvas de Spodoptera frugiperda (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

<u>Shana Letícia Felice Wiest</u>¹, Eliana Carniel², Harry Luiz Pilz Junior², Karina Richetti², Lidia Mariana Fiuza¹

shanafelice@hotmail.com

- 1 Universidade do Vale do Rio dos Sinos UNISINOS, Programa de Pós Graduação em Biologia, Laboratório de Microbiologia e Toxicologia, Av. Unisinos, 950, São Leopoldo, RS, Brasil. CEP: 93022-000.
- 2 Universidade do Vale do Rio dos Sinos UNISINOS, Laboratório de Microbiologia e Toxicologia, Av. Unisinos, 950, São Leopoldo, RS, Brasil. CEP: 93022-000.

Resumo

A bactéria entomopatogênica Bacillus thuringiensis (Bt) é amplamente utilizada no controle de pragas, porque é capaz de produzir proteínas Cry que atuam no intestino médio de larvas e provocam a morte dos insetos. A espécie polífaga Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) é uma das principais pragas agrícolas, mas apresenta uma baixa sensibilidade à maioria das toxinas Cry utilizadas em inseticidas biológicos e em plantas geneticamente modificadas. Dessa maneira, torna-se essencial a busca por novos isolados que possam apresentar uma maior toxicidade às lagartas dessa espécie. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a toxicidade (in vivo) e a especificidade (in vitro), sobre lagartas de S. frugiperda, de uma nova cepa de B. thuringiensis: a Bt-MTox 2974-11, que sintetiza a proteína Cry1Dlike. Para tanto, foram realizados bioensaios de letalidade, in vivo, com lagartas de 2º ínstar de S. frugiperda, onde foi administrada a concentração de 1x1010 esporos/mL de suspensão bacteriana. Para os ensaios in vitro, as proteínas Cry ativadas foram marcadas com isotiocianato de fluoresceína (FITC) e incubadas com cortes histológicos intestinais e com intestinos médios íntegros das lagartas. As análises dos sítios de ligação foram efetuadas em microscopia de fluorescência. Os resultados apontam que a cepa provocou 100% de mortalidade às lagartas de S. frugiperda, quando administrada na concentração testada. A partir da ocorrência de fluorescência, nas análises da especificidade das proteínas Cry à praga-alvo, é possível sugerir a presenca de receptores específicos às proteínas Cry1D de Bt-MTox 2974-11 nas microvilosidades das células do epitélio intestinal de lagartas de S. frugiperda. Os resultados desse estudo revelam o potencial toxicológico e específico dessa cepa de B. thuringiensis no controle do lepidóptero praga em questão.

Palavras-chave: Especificidade; FITC; Intestino médio; Microscopia de fluorescência; Toxicidade.

Projeto financiado: CAPES, CNPq e FAPERGS

Isolamento e capacidade de solubilização de fosfato de rizóbios simbiontes em corticeira-da-serra (*Erythrina falcata*)

<u>Taís Backes¹</u>, Renata D'Oliveira Bataiolli¹, Franquiéle Bonilha da Silva¹, Clarissa de Souza Borges¹, Enilson Luiz Saccol de Sá¹

taisbackes@gmail.com

1 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Departamento de Solos, Laboratório de Microbiologia do Solo, Avenida Bento Gonçalves, 7712. Porto Alegre/RS. CEP: 91540-000.

Resumo

A corticeira-da-serra (Erythrina falcata) é uma espécie arbórea da família das leguminosas, utilizada para ornamentação, recuperação de áreas degradadas, sistemas agroflorestais e, que faz simbiose com rizóbios. Essas bactérias, além de fixarem nitrogênio, também possuem o potencial de promover o crescimento vegetal pela produção de fitormônios. O isolamento dos rizóbios foi realizado a partir de nódulos radiculares de plântulas de corticeira inoculadas com suspensão de amostras de solos de diferentes áreas. Os nódulos foram retirados após 45 dias, desinfestados por imersão em álcool (70%) por 30s, hipoclorito de sódio (2,0%) por 60s e sete lavagens sucessivas com água destilada esterilizada. Após, os nódulos foram macerados, com pinça esterilizada, em placa de petri contendo meio de cultura levedura-manitol (Vicent, 1970) com corante vermelho-congo. Colônias bacterianas isoladas e puras foram obtidas pela técnica de esgotamento por estriamento. A capacidade de solubilização de fosfato dos isolados foi avaliada em placas de petri com meio de Verma et al. (2001) com 10 g/L glicose, 5 g/L de NH₄Cl, 1 g/L de MgSO₄.7H₂O₅, 15 g/L de ágar, acrescentando-se fosfato tricálcico [1 g/L de Ca₃(PO₄)₂], em pH 6,8. Todos os isolados foram crescidos em frascos contendo 15 mL de meio levedura manitol e mantidos sob agitação constante a 120 rpm, a 28°C, por 72 horas. Foram inoculados 20 µL do caldo nas placas com fosfato tricálcico, com três repetições por isolado, as quais foram incubadas a 28°C por 10 dias. Obtiveram-se 13 isolados por esgotamento em placas. A capacidade de solubilização de fosfato foi observada apenas em sete isolados, com o índice de solubilização variando entre 1,20 para UFRGS Ef13 e 1,33 para UFRGS Ef2. Conclui-se que existe variabilidade entre os rizóbios isolados de corticeira-da-serra em relação à capacidade de solubilização de fosfato, capacidade que poderia significar potencial para promoção de crescimento de plantas.

Palavras-chave: *rhizobium*; corticeira-da-serra; nódulos; promoção de crescimento, fixação biológica de nitrogênio.

Projeto financiado: CAPES.

Biocontrole de *Aspergillus flavus* e *Fusarium verticillioides* por isolados de *Bacillus* sp. em solo não-rizosférico

<u>Einloft, Tiago Centeno</u>¹; Oliveira, Patrícia Bolzan¹; Hartke, Sara¹; Veras, Flávio Fonseca²; Dionello, Rafael Gomes¹.

tiago.einloft@gmail.com

- 1 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Departamento de Fitossanidade, Laboratório de Pós-Colheita de Grãos, Av. Bento Gonçalves 7712, CEP: 91540-000, Porto Alegre, RS.
- 2- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Laboratório de Toxicologia de Alimentos, Av. Bento Gonçalves 9500 Prédio 43.212, CEP: 91501-970, Porto Alegre, RS.

Resumo

A infestação de grãos de milho por fungos toxigênicos, como o Fusarium verticillioides e Aspergillus flavus, acarreta em perdas quantitativas e qualitativas, principalmente em função da contaminação por micotoxinas produzidas por estas espécies. A principal fonte de contaminação de plantas de milho por estes fungos é derivada de propágulos disseminativos presentes no solo de maneira latente ou na forma de micélio. A redução da contaminação fúngica do solo é uma estratégia essencial visando reduzir o inoculo inicial de contaminação fúngica. O controle biológico é um método de controle fúngico promissor por ser seguro, eficaz e economicamente viável. O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de linhagens de Bacillus sp. isolados do sistema radicular de plantas de milho em influenciar as contagens de Aspergillus flavus e Fusarium verticillioides em solo não-rizosférico. Amostras de solo não-rizosférico retiradas de um campo de cultivo de milho foram depositadas em placas de petri. Posteriormente, três isolados de Bacillus sp. foram inoculados em culturas individuais e uma cultura contendo os isolados simultaneamente. Em seguida, foram inoculadas suspensões de esporos de A. flavus e F. verticillioides em duas concentrações diferentes (10³ e 10⁶ esporos ml⁻¹). Os cultivos foram incubados por 7 dias a 25 °C e após, foram diluídos seriadamente e inoculados em placas de petri contendo meios seletivos para contagens bacterianas e fúngicas. Os isolados de Bacillus sp. quando inoculados separadamente foram capazes de reduzir significativamente as contagens de A. flavus e F. verticillioides independentemente do inoculo fúngico inicial. Nos cultivos conjuntos foi observada uma maior redução das contagens fúngicas em relação ao observado com os isolados separadamente, indicando que estes isolados rizobacterianos formam um consórcio com grande potencial inibitório sobre as espécies fúngicas. A utilização destes isolados de Bacillus sp. representam uma promissora estratégia para a redução dos propágulos fúngicos no solo.

Palavras-chave: Biocontrole; *Bacillus* sp.; fungos toxigênicos; micotoxinas; solo não-rizosférico.

Apoio financeiro: CNPq

Avaliação de isolados de *Trichoderma in vitro* em confronto direto com *Moniliophthora perniciosa*, agente causal da vassoura-de-bruxa em cupuaçuzeiros na Amazônia

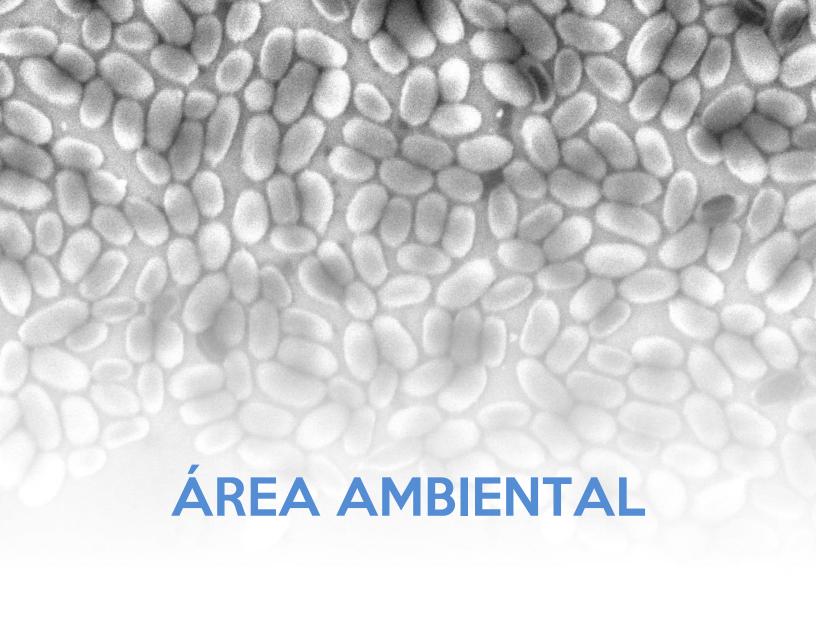
Yan Lucas Teixeira dos Santos¹, Maria Geralda de Souza², Priscila Pauly Ribas¹

yanlucas petroleo18@hotmail.com

- 1 Fundação Centro de Análise, Pesquisa e Inovação Tecnológica FUCAPI Laboratório de Biotecnologia, Av. Governador Danilo de Mattos Aerosa, 381, Distrito Industrial, Manaus/AM. CEP: 69075-351.
- 2 EMBRAPA Amazônia Ocidental, Laboratório de Fitopatologia, Rodovia AM-010, Km 29, Caixa Postal 319, Manaus/AM. CEP: 69010-970.

A produção do cupuaçuzeiro (Theobroma grandiflorum) no Brasil está concentrada na região Amazônica. O fruto é cultivado por gerações, tanto por povos indígenas como comunidades locais ao longo do Amazonas que o utilizam como fonte de renda, uma vez que pode ser empregado em indústrias alimentícias e de cosméticos, em virtude de suas propriedades sensoriais e químicas. Um dos fatores que afetam a produção podendo levar a perdas de 90%, é a contaminação das plantas pelo fungo Moniliophthora perniciosa, agente causador da vassoura-de-bruxa. O controle da doença se dá por manejo da cultura e uso de fungicidas cúpricos, mas o custo é elevado e nem sempre apresentam bons resultados. Por este motivo, a bioprospecção de agentes antagonistas para controle biológico da doença pode ser uma alternativa viável. Com este propósito, foram avaliados 2 isolados de Trichoderma sp. (AT-2 e 198-B) em confronto direto com M. perniciosa (MP-23) in vitro. Os isolados pertencem a micoteca do Laboratório de Fitopatologia da EMBRAPA Amazônia Ocidental. Por apresentar uma taxa de crescimento mais lenta em relação ao Trichoderma, o isolado de MP-23 foi repicado, em meio BDA, 5 dias antes do antagonista, com uma distância de 2 cm da borda da placa. Após este período, cada isolado de Trichoderma foi repicado no lado oposto da placa, com a mesma distância. As placas foram incubadas a 27±2°C com fotoperíodo de 12 horas. Todos os tratamentos foram realizados em triplicata e o crescimento do patógeno foi mensurado com o auxílio de um paquímetro durante 5 dias. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância. seguindo o teste de Tukey 5% e demonstraram a capacidade dos isolados reduzirem o crescimento do patógeno em até 38%. Mais testes são necessários para concluir a bioprospecção, mas os resultados obtidos nesta pesquisa indicam o potencial controlador destes antagonistas.

Palavras-chave: bioprospecção; controle biológico; micoparasitismo; microbiologia agrícola.



Isolamento de actinomicetos do Parque Estadual de Itapeva - Torres RS

<u>Amanda Cristina Flores</u>¹, Lidiane de Medeiros Hahn¹, Daniel Bedinote da Rocha¹, Sueli Teresinha Van Der Sand², José Carlos Germani², Diego Antonio Viana Gomes^{1,2}

flores amandacristina@hotmail.com

- 1 Universidade Luterana do Brasil Torres, Laboratório de Microbiologia, Rua Universitária, 1900 Parque do Balonismo. Torres/RS. CEP: 95560-000.
- 2 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.

Resumo

O Parque Estadual de Itapeva (PEVA) é uma Unidade de Conservação do Estado do Rio Grande do Sul cujas características paisagísticas são formadas por depósitos sedimentares marinhos, eólicos, lagunares e aluvionares do período Quaternário. Nos ambientes naturais, os microrganismos desempenham papéis fundamentais na sustentação da vida dos seres superiores. Os actinomicetos são bactérias Grampositivas, filamentosas, com um alto conteúdo de citosina e guanina no seu DNA e estão extensamente distribuídas no solo e na água. Esses organismos podem produzir muitas substâncias distintas como antibióticos, antifúngicos, antiparasitários, herbicidas, antitumorais e enzimas. O PEVA proporciona enormes possibilidades para a compreensão das distintas inter-relações ecológicas, pois há seleção e disputa biológica. Objetivou-se isolar microrganismos com características morfológicas dos actinomicetos dos diferentes ambientes naturais do Parque Estadual de Itapeva. Efetuaram-se coletas com quatro amostras nos seguintes ambientes naturais: corpos hídricos, dunas, banhados e restinga. Para a avaliação da densidade populacional de cada grupo microbiano, 10 gramas de solo de cada ponto amostrado foram homogeneizados em 90 ml de água peptonada e agitadas durante 15 minutos. Posteriormente, realizaram-se diluições seriadas com o preparado até 10⁻³. Em seguida, semearam-se alíquotas de 1000µl em placas de Petri com meio de cultivo Amido Caseína Agar, meio A e meio CZapek. Incubaram-se as placas por 14 dias a 30°C. Realizou-se a seleção das cepas que apresentam características morfológicas desse grupo de bactérias pela morfologia de colônia, coloração de Gram e microcultivo. Dos 357 isolados, 30 apresentam características de actinomicetos, correspondendo a 8,4%. Destes, o maior número foi encontrado nos corpos hídricos, seguido de restinga e banhado. Contudo, os actinomicetos, por serem importante fonte de uma variedade de compostos bioativos, propiciam potenciais aplicações no meio industrial e o Parque Estadual de Itapeva demonstra ser ambiente favorável para o isolamento desses microrganismos, apresentando um grande potencial para futuras pesquisas em microbiologia.

Palavras-chave: ambientes naturais; PEVA; UC; microbiologia ambiental; bactérias.

Estudo da diversidade de leveduras isoladas do Arroio Dilúvio em Porto Alegre através técnica PCR-RFLP da região ITS do DNA ribossomal

Ana Carolina Medeiros Milanezi¹, João Paulo Witusk¹, Sueli Van Der Sand¹

anamilanezi@gmail.com

1 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Laboratório de Microbiologia Ambiental, Rua Sarmento Leite, 500 sala 323. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.

Resumo

O Arroio Dilúvio, uma das principais bacias hidrográficas da cidade de Porto Alegre, recebe anualmente uma grande carga de resíduos líquidos de diferentes origens que influenciam diretamente na adaptação dos organismos ali presentes. Várias espécies de leveduras identificadas como patógenos oportunistas de humanos já foram detectadas em amostras de água, tornando evidente a importância de estudar a diversidade destes microrganismos neste ambiente. A amplificação da região dos espaçadores transcritos internos (ITS) do DNA ribossomal de leveduras e seu subsequente processamento com enzimas de restrição gera fragmentos de diferentes tamanhos que podem indicar polimorfismo genético dos indivíduos. O objetivo deste trabalho é caracterizar leveduras isoladas do Arroio Dilúvio através de polimorfismos gerados da região ITS e gene 5.8S do DNA ribossomal utilizando PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism). O DNA genômico dos isolados ambientais foi submetido à Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) utilizando os oligonucleotídeos iniciadores universais ITS1 e ITS4, e o produto gerado foi tratado com as enzimas de restrição Hhal, BsuRl e Hinfl. O amplificado gerado é composto das regiões ITS do rDNA e do gene 5.8 rDNA. Até o momento, dos 49 isolados submetidos a amplificação, os produtos obtidos apresentaram polimorfismos com pesos moleculares que variaram de 375 a 920kb. A digestão destes produtos com as endonucleases de restrição resultou em diferentes padrões nos fragmentos de restrição entre oito amostras analisadas, indicando a variabilidade genética destes microrganismos. As demais amostras ainda serão processadas para permitir a avaliação da diversidade e posteriormente baseado nestes resultados, sequenciar as leveduras para a identificação das mesmas.

Palavras-chave: leveduras; polimorfismo; ITS, RFLP.

Projeto financiado: CAPES.

O uso dos nutrientes no processo de bioestimulação para remediação de ambientes poluídos pelo petróleo

Ana Paula Picolo de Quadros¹, Gerônimo Rodriguês Prado² ana.paula.quadros@hotmail.com

- 1- Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões-URI- Curso de Ciências Biológicas, Rua Assis Brasil, 709 - Itapajé, Frederico Westphalen - RS, CEP 98400-000.
- 2- Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Rua General Andrade Neves 336 Centro, CEP 98025810 Cruz Alta, RS Brasil

RESUMO

A exploração do petróleo e atividades que envolvem o seu refino, transporte e armazenamento têm aumentado os riscos de poluição do solo e da água. Em consequência desses problemas ambientais ocasionados pelo petróleo e seus derivados há uma preocupação constante em buscar soluções economicamente viáveis para a despoluição do solo e da água. Dentre as técnicas possíveis de serem aplicadas visando o tratamento dos impactos dessa poluição no solo e água, está a biorremediação. A biorremediação é uma técnica economicamente viável que se utiliza de microrganismos nativos ou exógenos no tratamento de ambientes impactados com resíduos orgânicos. Neste sentido estes microrganismos podem utilizar alguns resíduos orgânicos como fonte de carbono necessário ao seu metabolismo. Dentre as técnicas utilizadas nos processos de biorremediação está a bioestimulação que consiste em adicionar nutrientes nos locais contaminados buscando estimular a microbiota a degradar o composto orgânico desejado. Neste sentido, nutrientes como nitrogênio, fósforo e ferro são adicionados aos microrganismos visando à estimulação dos mesmos. O presente estudo teve por objetivo buscar através de uma revisão de literatura quais os nutrientes que mais influenciam no processo de bioestimulação. Os resultados apontam a importância desses nutrientes nos processos de remediação de áreas impactados, verificando que os mesmos são essenciais para os microrganismos se estimularem a fazer o processo de degradação. Sendo assim, o carbono, nitrogênio e ferro são nutrientes indispensáveis para os microrganismos, pois são fonte de matéria prima, fazendo com que esses microrganismos cresçam, processem e transformem os contaminantes que estão presentes no solo.

Palavras chave: Biorremediação; Hidrocarbonetos; Nutrientes.

Projeto com financiamento do próprio autor.

Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim frente a bactérias Gram positivas

<u>Beatriz Bohns Pruski</u>¹, Marcelle Oliveira Garcia¹, Kamila da Cunha Furtado¹, Rosana Serpa², Gladis Aver Ribeiro¹, Daiane Drawanz Hartwig¹

biapruski@gmail.com

- 1 Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Campus Capão do Leão, Pelotas/RS. CEP: 96010-900.
- 2 Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Patologia e Medicina Legal, Cel. Nunes de Melo, 1315. Rodolfo Teófilo, Fortaleza/CE. CEP: 60441-750.

Resumo

Óleos essenciais (OE) são produtos voláteis presentes em vários vegetais e estão relacionados ao metabolismo secundário das plantas, exercendo diversas funções importantes à sua sobrevivência, como por exemplo defesa contra microrganismos. O presente estudo, objetiva avaliar a atividade antimicrobiana do OE Rosmarinus officinalis L. (alecrim), frente à Staphylococcus aureus ATCC 25904 e Staphylococcus epidermidis ATCC 35984. A análise da capacidade antibacteriana do OE foi realizada através da técnica de difusão em disco (DD), segundo metodologia proposta por Kirby & Bauer (1968), utilizando discos de Amicacina como controles positivos e discos embebidos em 10 µL de água destilada estéril como controle negativo. A partir do resultado da DD, foi realizada a determinação da concentração inibitória mínima (CIM), seguindo as normas instituídas pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012 com modificações) e por último foi feita a determinação da concentração bactericida mínima (CBM). Foi possível observar que na DD todas as cepas bacterianas apresentaram halos de inibição frente ao OE testado. No teste de CIM revelou ação antibacteriana do OE até a concentração de 0,39% e 0,78% para S. aureus e S. epidermidis, respectivamente. Analisou-se na CBM que o OE apresentou ação bactericida frente ao S. aureus na diluição 0,39%; e ao S. epidermidis na concentração 3,125%. Dessa forma, concluímos que o OE de alecrim se apresentou bactericida diante das duas espécies testadas, porém, mais eficaz contra S. aureus, uma vez que mostrou atividade em menores concentrações. Estes resultados projetam a utilização do OE de alecrim como alternativa no tratamento de infecções bacterianas, estimulando a investigação da aplicação destes produtos naturais de forma isolada ou combinada a outros antibacterianos.

Palavras-chave: óleo essencial; *Staphylococcus aureus*; *Staphylococcus epidermidis*; *Rosmarinus officinalis L.*

Caracterização do bacterioplâncton superficial da Laguna Tramandaí, Litoral Norte do RS, Brasil.

Belize Rodrigues Leite¹, Gertrudes Corção¹

belize@ufrgs.br

1. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Laboratório de Micologia, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.

RESUMO

Microrganismos que compõem o bacterioplâncton heterotrófico são os componentes mais abundantes de qualquer sistema aquático, representando os maiores mineralizadores dos nutrientes disponíveis à teia trófica nestes locais. Conhecer e monitorar flutuações na diversidade destas bactérias é importante para reconhecer episódios pontuais de desequilíbrio ambiental, ecológico e energético. O presente trabalho objetiva caracterizar preliminarmente o bacterioplâncton de amostras da Laguna Tramandaí; rico sistema situado no Litoral Norte do estado, pelo qual a carga da Bacia Hidrográfica de mesmo nome deságua no oceano. Amostras de água foram obtidas com o auxílio de uma embarcação de pequeno porte, cedida pelo CECLIMAR, em quatro pontos distintos da laguna e nas estações de inverno (agosto) e verão (janeiro). Frascos estéreis foram içados na subsuperfície (<1m) da água a fim de se coletar 2L de amostra por ponto, sendo estes acondicionados em bolsas térmicas com gelo e encaminhados para análise laboratorial em até 24h. As amostras foram serialmente diluídas e cultivadas em placas contendo PCA (Plate Count Agar) e Ágar marinho (DifcoTM), por 24h a 35°C. A densidade microbiana foi quantificada e culturas foram purificadas por esgotamento. Obteve-se inicialmente o total de 242 isolados (entre 6 e 49 isolados por amostra) quantidade esta que variou conforme a diversidade morfológica e o crescimento evidenciado nos distintos pontos e meses do ano. Ao longo do estudo, 28,5% destes isolados perderam a viabilidade. Caracterizaram-se 90 bactérias quanto à conformação da parede celular e à morfologia das células. A maioria é representada por bacilos Gram negativos (n=28), seguida por bacilos Gram positivos (n=23), cocos Gram positivos (n=15), cocobacilos Gram negativos (n=12), cocos Gram negativos (n=8) e cocobacilos Gram positivos (n=4). Serão realizadas provas bioquímicas a fim de categorizar os isolados de acordo com o Bergey's Manual of Sistematic Bacteriology. Posteriormente, o rDNA 16S dos isolados será sequenciado e analisado para fins de identificação.

Palavras-chave: bacterioplâncton, diversidade, estuário, Laguna Tramandaí.

Financiamento: CAPES.

Avaliação da atividade antimicrobiana da camomila (*Matricaria recutita* Linn) veiculada em um dentifrício no controle de *Streptococcus mutans*.

<u>Carolina Ivi Bertuol¹</u>, Bruna Ackermann Schardong¹, Luisa Weber Mercado¹, Sandra Liana Henz¹.

carolinabertuol@hotmail.com

1 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Laboratório Microbiologia e Bioquímica Bucal, Rua Ramiro Barcelos, 2492/402. Porto Alegre/RS. CEP: 90230-151.

Resumo

O uso de dentifrícios faz parte dos hábitos de higiene bucal da maioria da população mundial, sendo utilizado para limpar a estrutura dentária e disponibilizar agentes que auxiliem a prevenir doenças da cavidade oral. O extrato de camomila apresenta potencial atividade *in vitro* sobre linhagens de *Streptococcus mutans, Streptococcus sanguinis* e *Lactobacillus casei*, principais responsáveis pela consolidação do biofilme cariogênico. O extrato de camomila veiculado em um creme dental poderia auxiliar no controle desse biofilme. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de um dentifrício não fluoretado, que contém um princípio ativo proveniente da Camomila (*Matricaria recutita* Linn) no controle da cepa de *Streptococcus mutans* (UA159).

Para avaliação da eficácia do dentifrício, foram realizados ensaios *in vitro* de difusão de ágar (três repetições), baseado na metodologia da norma M2A8 proposta pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária. O princípio básico foi a difusão do dentifrício na superfície do ágar, a partir de um disco impregnado com o mesmo. Como comparativo, foram impregnados também discos com água estéril (controle negativo), clorexidina 0,12% (padrão ouro no efeito antibacteriano relacionado à microbiota oral) e Colgate total 12®. O resultado foi analisado a partir da medição dos halos de inibição (em milímetros) após 48h de incubação das placas a 37°C em microaerofilia.

A partir da medição dos halos de inibição do crescimento de *S. mutans*, foi possível observar que o dentifrício Orgânico Natural® teve menor média $(12,6 \pm 1,02)$ que a Clorexidina 0,12% $(20,9 \pm 1,08)$ p<0,05. No entanto, ao comparar com o outro dentifrício, sua ação antibacteriana foi maior que o creme dental Total 12 $(9,3 \pm 0,97)$ p<0,05. A inibição da cepa de *S. mutans* evidenciado neste ensaio demonstra que o potencial antimicrobiano da camomila se mantem, mesmo sendo veiculado em um creme dental.

Palavras-chave: Plantas fitoterápicas, Camomila (Matricaria recutita Linn), Dentifrício.

Multiplicação de *Escherichia coli* e mesófilos em brócolis e cenoura ralada expostos a diferentes temperaturas

<u>Caroline Isabel Kothe¹</u>, João Pedro Pessoa¹, Patrícia Malheiros¹, Eduardo Cesar Tondo¹

carolkothe@hotmail.com

1 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Laboratório de Microbiologia e Controle de Alimentos. Av. Bento Gonçalves 9500. Porto Alegre/ RS. CEP: 91540-000.

Resumo

De acordo com a legislação vigente para serviços de alimentação, os alimentos resfriados devem ser conservados a temperaturas inferiores a 5 °C. A manutenção desta temperatura na distribuição em buffets é frequentemente difícil nesses estabelecimentos, possibilitando a multiplicação microbiana. O objetivo desse trabalho foi avaliar a multiplicação de E. coli e mesófilos em dois vegetais frequentemente distribuídos em serviços de alimentação, em diferentes temperaturas. Para tanto, saladas de brócolis e cenoura ralada foram artificialmente contaminadas com um pool constituído por 5 diferentes cepas de E. coli, sendo então expostas a 10, 20 e 30 °C. Amostras foram retiradas para contagem bacteriana nos seguintes tempos: 0 h, 2 h, 4 h, 6 h - simulando o tempo máximo de exposição destes alimentos em um buffet - e ainda 24 h, para analisar os perigos microbiológicos para o consumidor, considerando um cenário mais crítico de reaproveitamento. Realizou-se a contagem do microorganismo em ágar VRB para E. coli e em ágar BHI para mesófilos. A concentração inicial inoculada foi de aproximadamente 3 log UFC/g. Para ambos os alimentos avaliados, não houve multiplicação de micro-organismos a 10 °C, em 24h. A exposição dos alimentos durante 2h nas temperaturas de 10 e 20 °C não demonstraram diferenças na multiplicação microbiana. Em 30 °C, houve multiplicação em cada tempo avaliado. Para cenoura ralada, a multiplicação dos mesófilos foi de aproximadamente 3 log, em 6h, e para o brócolis, de aproximadamente 4,5 log. Com base nos resultados, as bactérias avaliadas não se multiplicaram no brócolis e na cenoura ralada a 10 °C, por 24h, bem como a 20 °C por 2 h, sugerindo que o atendimento desse binômio tempo/temperatura é seguro para evitar a multiplicação microbiana.

Palavras-chave: brócolis; cenoura ralada; tempo; temperatura

Isolamento de microrganismos do Parque Estadual de Itapeva - Torres RS

<u>Diego Antonio Viana Gomes</u>^{1,2}, Lidiane de Medeiros Hahn¹, Amanda Cristina Flores¹, Sueli Teresinha Van Der Sand², José Carlos Germani²

diego.gomes@ulbra.br

- 1 Universidade Luterana do Brasil Torres, Laboratório de Microbiologia, Rua Universitária, 1900 Parque do Balonismo. Torres/RS. CEP: 95560-000.
- 2 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.

Resumo

O Parque Estadual de Itapeva (PEVA) é administrado pelo Departamento de Florestas e Áreas Protegidas (DEFAP), da Secretaria do Meio Ambiente do Estado do Rio Grande do Sul (SEMA/RS). O PEVA é uma Unidade de Conservação (UC) estadual do Estado do Rio Grande do Sul, e está localizado no Município de Torres, no Litoral. Nos ambientes, os microrganismos são vitais e desempenham papéis fundamentais na sustentação da vida dos seres superiores. As bactérias, archaea, protozoários, algas e fungos contemplam funções de manutenção e controle nos ciclos biogeoquímicos, incluindo, particularmente, os elementos enxofre, carbono, nitrogênio e ferro. Os ambientes naturais caracterizados no PEVA abrem enormes possibilidade para a compreensão das distintas inter-relações ecológicas nesta faixa que representa o litoral intocado do Rio Grande do Sul. Objetivou-se isolar, identificar e caracterizar microrganismos provenientes do Parque Estadual de Itapeva, assim como os produtos sintetizados de interesse comercial com potencial biotecnológico. Para a avaliação da densidade populacional de cada grupo microbiano, 10 gramas de solo de cada ponto amostrado foram homogeneizados em 90 ml de água peptonada e agitadas durante 15 minutos. Posteriormente, foram realizadas diluições seriadas com o preparado até 10⁻³. Em seguida, semeou-se alíquotas de 100µl em placas de Petri com meio de cultivo Amido Caseína Agar (ACA), meio A e meio CZapek. As placas foram incubadas por 14 dias a 30°C. No laboratório de Microbiologia ULBRA Torres, já se realizou o processamento inicial das amostras, delimitados pelo isolamento de 357 cepas provenientes dos ambientes naturais do Parque. Nesse ambiente existe um grande potencial para pesquisa devido ao caráter de seleção e disputa biológica. Por esse fato, o isolamento e identificação de microrganismos colaborará para a compreensão da microbiota presente nesta UC, assim como a identificação de cepas produtoras de metabólitos de interesse comercial com potencial biotecnológico.

Palavras-chave: PEVA; Unidade de Conservação; ambientes naturais; microbiologia ambiental; microbiota.

Investigação das comunidades bacterianas cultiváveis e aspectos físico-químicos em *Wetlands* horizontais construídos no Hotel Spa do Vinho - RS

<u>Diogo Bonalume Andreis</u>¹, José Munzi de Campos¹, Graciane Furini¹, Sueli Teresinha Van der Sand¹, José Carlos Germani².

diogoandreis@gmail.com

- ¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Laboratório de Micologia Ambiental, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.
- ² Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Av. Ipiranga 2752. Porto Alegre,/RS, CEP: 90610-000

Resumo

Wetlands são sistemas que apresentam custo operacional e de implantação muito reduzidos se comparados à maioria dos sistemas de tratamento de efluentes, sendo amplamente utilizados em países desenvolvidos. As comunidades microbianas presentes nesse sistema promovem a remoção de poluentes, matéria orgânica e nutrientes eutofrizantes. O trabalho tem como objetivo a identificação das comunidades microbianas presentes no efluente e sua alternância ao longo do sistema em comparação aos dados físico-químicos. Amostras de efluente bruto e tratado, foram coletadas no verão e no início do inverno de 2015 (2 pontos no total) no sistema de Wetlands construídos no Hotel e SPA do Vinho, em Bento Gonçalves - RS. As amostras foram diluídas em série até a diluição 10⁻⁶ e as últimas 3 diluições foram inoculadas, em triplicata, nos meios de cultura TSA, PCA, ACA e Meio E (meio composto por 10% do efluente bruto, 1% de Glicose e 1,5% de Ágar) e incubadas a temperatura ambiente e 28°C por 24-48 h. Na coleta do verão foram isoladas 73 colônias bacterianas destas 37 são do ponto de entrada e 36 do ponto de saída. Todos isolados foram submetidos à coloração de Gram e a testes bioquímicos de acordo com a literatura apropriada. Do total de bactérias isoladas obtevese 17 Gram-positivas e 56 Gram-negativas. Dentre os isolados os gêneros predominantes foram: Bacillus, Enterobacter, Acinetobacter, Alcaligenes, Pseudomonas, Proteus, Sthaphylococcus, Aeromonas, Citrobacter e Escherichia. A média dos valores dos parâmetros físico-químicos demonstra eficiência do sistema de tratamento quando os dados relativos a amostra de entrada e saída de efluente são comparados. Os parâmetros físico-químicos observados ficam dentro dos valores exigidos pela legislação ambiental. Na próxima etapa do trabalho será realizado um estudo da diversidade ecológica das amostras de efluente através da amplificação da região V3 do DNA ribossomal e posteriormente os produtos serão analisadas em gel de gradiente desnaturante (DGGE).

Palavras-chave: *Wetlands*; tratamento de efluentes; comunidades bacterianas; testes bioquímicos; DGGE.

Influência da ionização negativa na qualidade microbiológica do ar de instalações para suínos confinados

<u>Ethiane Rozo dos Santos¹</u>, Tamires Franco de Castro¹, Daniele Shaiane Habowski², Juliana Sarubbi², Terimar Ruoso Moresco¹.

ethi_rozo@hotmail.com

- 1 Universidade Federal de Santa Maria, *Campus* Palmeira das Missões, Laboratório de Microbiologia de Alimentos. Avenida Independência, 3751. CP: 131. Bairro Vista Alegre. Palmeira das Missões/RS. CEP 98300–000.
- 2 Universidade Federal de Santa Maria, *Campus* Palmeira das Missões, Laboratório de Ambiência e Bem-Estar Animal. Avenida Independência, 3751. CP: 131. Bairro Vista Alegre. Palmeira das Missões/RS. CEP 98300–000.

Resumo

A ionização é um processo livre de efeitos nocivos para aves, suínos e seres humanos. Há indicativos de que a ionização do ar tenha efeitos na redução de bactérias patogênicas nas instalações. Nesse sentido, o objetivo desta pesquisa foi verificar a quantidade de micro-organismos presentes no ar, em ambientes ionizados para alojamento de suínos.

Foram alojados 24 suínos, sendo 12 em ambiente negativamente ionizado e 12 em ambiente não ionizado. Utilizou-se a técnica de sedimentação espontânea, sendo que em cada local a amostragem foi coletada em triplicata. Esta técnica consiste na exposição de placas de Petri contendo Plate Count Agar (PCA) e Potato Dextrose Agar (BDA) abertas, durante 15 minutos para determinar os microrganismos mesófilos aeróbios e bolores/leveduras, respectivamente presentes nos tratamentos estudados (salas). Imediatamente, as placas foram transportadas para o laboratório de microbiologia e incubadas a 35±1°C por 48 h e a 25±1°C por 72 h, respectivamente. Após incubação foi realizada a contagem de colônias nas diferentes placas e os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias (UFC) por m³ de ar, conforme a resolução RE/ANVISA nº 176 de 24 de outubro de 2000. Realizou-se primeiramente a análise das salas sem a presença dos animais, o qual demonstrou que ambas estavam dentro dos padrões exigidos pela legislação (até 195 UFC/m³). A partir disso, foram analisadas três amostragens, coletadas quinzenalmente. Pode-se verificar que a quantidade de fungos e bactérias/m³ foi aumentando progressivamente independentemente do ambiente coletado. Sendo assim, o ambiente ionizado não apresentou nenhum tipo de alteração significativa na verificação de mesófilos aeróbios e bolores/leveduras nas condições do ambiente estudado.

Palavras-chave: lonização; suínos; micro-organismos; bem-estar animal; microbiologia do ar.

Detecção de coliformes termotolerantes em águas superficiais coletadas no Rio Paranhana/RS

<u>Fabiano Costa de Oliveira</u>¹, Tatiana Moraes da Silva Heck¹, Rodrigo Staggemeier¹ Nadine Bordin Andriguetti¹ Rute Gabriele Fischoeder Ritzel¹, Sabrina Esteves de Matos Almeida¹

faserje@gmail.com

1 - Universidade Feevale, Instituto de Ciências da Saúde, Laboratório de Microbiologia, Câmpus II ERS -239, 2755, Novo Hamburgo, RS, CEP 93525-075.

Resumo

Coliformes totais e termotolerantes são classificados como Enterobactérias, os últimos possuem como principal representante a Escherichia coli, e estão presentes em grande quantidade nas fezes de animais de sangue quente, inclusive os seres humanos. Os coliformes termotolerantes podem ser empregados como indicadores de contaminação fecal e são amplamente utilizados nas medições microbiológicas para testar a qualidade de águas destinadas ao consumo. Quando ingeridos através da água contaminada podem causam doenças como as gastroenterites. O Rio Paranhana situa-se na Bacia Hidrográfica do Rio dos Sinos (BHRS), ao longo do seu percurso são lancadas grandes quantidades de esgotos sem tratamento adequado, sendo que este serve como manancial de captação de água para abastecimento público da região, além de ser o maior afluente do Rio dos Sinos que também é utilizado para o abastecimento hídrico da BHRS. O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade microbiológica das águas superficiais do Rio Paranhana, observando a presença de coliformes termotolerantes. Foram coletadas 32 (100 ml cada) amostras de águas superficiais em 16 pontos distintos ao longo do rio, iniciando-se na cidade de Canela passando por Três Coroas, Igrejinha, Parobé e Taquara. As coletas ocorreram nos meses de majo e julho de 2015. Através da técnica de Colilert® (Substrato Cromogênico Definitivo) por reação de fluorescência a presença de Coliformes Termotolerantes foi então confirmada em 24 horas, seguindo as normas do fabricante, os resultados são expressos em Número Mais Provável/100mL (NMP/100mL). Durante o período analisado, o mês de maio apresentou, em média as taxas mais elevadas de coliformes termotolerantes, com variação de 310 NMP/100mL a 43.520 NMP/100mL, enquanto no mês de julho variou de 73,3 NMP/100mL a 14.670 NMP/100mL. Observou-se a presença de coliformes durante todo o percurso do rio, refletindo a contaminação fecal em decorrência do lançamento de esgotos diretamente no rio sem um tratamento adequado.

Palavras-chave: coliformes; águas; contaminação; Paranhana.

Projeto financiado: CAPES, CNPq, FAPERGS, FEEVALE.

OCORRÊNCIA E QUANTIFICAÇÃO DE *Nosema* spp. EM *Apis mellifera* NA REGIÃO DA SERRA GAÚCHA - RS.

<u>Fernanda Pavani^{1,2}</u>, Diouneia Lisiane Berlitz^{1,2}, Tiago Finger Andreis¹, Lidia Mariana Fiuza^{1,2}

nandapavanirs@hotmail.com

1-Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Laboratório de Microbiologia e Toxicologia, Avenida Unisinos,950. São Leopoldo/RS. CEP: 93022000.

2-Control_Agro_Bio Pesquisa e Defesa Agropecuária Ltda. Unitec-Tecnosinos.

Resumo

A abelha-europeia, Apis mellifera, é considerada um dos mais eficientes polinizadores, contribuindo decisivamente na produção de 70% das plantas nos agroecossistemas. Dentre as doenças, importantes patógenos para abelhas são os microsporídios do gênero Nosema spp. A doença causada pelo desenvolvimento do esporo fúngico nas células do intestino médio dos insetos, dificulta a digestão, causando inflamação, disenteria e eventual morte dos indivíduos. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi identificar e quantificar os esporos dos microsporídeos no intestino de abelhas adultas. A coleta das abelhas foi realizada nas cidades de Montenegro, Ivoti e Pareci Novo (RS), sendo as mesmas dissecadas e acondicionadas em freezer (-18°C). Foram utilizados 5 abdomens de abelhas por localidade. Os abdomens foram macerados em 5mL de água esterilizada, filtrados e a contagem de esporos foi realizada em Câmara de Neubauer e microscopia óptica (400x). Foram realizadas 5 contagens para cada amostra, sendo os resultados aplicados na fórmula XX2,5X10⁵. A frequência de esporos de Nosema spp. no intestino das abelhas foi de 100% nas regiões do presente estudo. Quanto à quantificação dos esporos, foram obtidos os seguintes resultados: para Montenegro, 8,8x10⁶ esporos/mL; para Ivoti, 5,5x10⁶ esporos/mL e para Pareci Novo foi de 9.3x10⁶ esporos/mL. Esses resultados corroboram com estudos sobre nosemose em abelhas e são importantes na determinação de possíveis causas de mortalidade de Apis mellifera.

Palavras-chave: apicultura; Nosema spp.; microsporídeo, Apis mellifera.

Apoio Financeiro: CNPq/RHAE, CNPq, FAPERGS e Unisinos.

Detecção do gene alkB em Pseudomonas aeruginosa durante crescimento na mistura B7

<u>Gabriela Boelter</u> ¹, Patrícia D. Quadros ¹, Juciana C. Cazarolli ¹, Sabrina A. Beker ¹, Camila Correa ². Marco F. Ferrão ² e Fátima M. Bento ¹

boelter.gabriela@gmail.com

- 1 LAB-BIO Laboratório de Biodeterioração de Combustíveis e Biocombustíveis Departamento de Microbiologia, Parasitologia e Imunologia, Universidade Federal do Grande do Sul, (Rua Sarmento Leite, 500, Porto Alegre, RS, Brasil)
- 2 Departamento de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, (Avenida Bento Gonçalves 9500, Agronomia, CEP: 91501-970, Porto Alegre, RS, Brasil)

Resumo

O óleo diesel brasileiro recebe uma mistura obrigatória de 7% de biodiesel ao diesel de petróleo. No RS, o biodiesel é proveniente da soja e do sebo bovino. O gene alkB está envolvido na expressão da enzima alcano hidroxilase que catalisa as transformações de hidrocarbonetos alifáticos presentes na mistura. O objetivo deste estudo foi verificar a presença do gene alkB e potencial de degradação em Pseudomonas aeruginosa durante crescimento na mistura B7 (diesel-biodiesel). Setenta mililitros de meio mineral Bushnell-Haas foram esterilizados em frascos de vidro de 150 mL. Diferentes concentrações de fase oleosa (cerca de 7% e 28%) de mistura B7 foram adicionadas aos frascos e incubados em agitador a 30°C durante 7 dias. As alterações químicas da fase de combustível foram analisadas por espectroscopia de infravermelho. O crescimento bacteriano foi observado por contagem de UFC/mL e a presença de biossurfactante (ramnolipídeo) pelo teste CTAB + azul de metileno. Células obtidas do crescimento com B7 foram submetidas à extração de DNA utilizando Purelink Genomic Mini Kit e os primers utilizados foram Pseuse2 e Pseuas2. Observamos que no terceiro dia, na concentração de 28.5% de óleo, a população bacteriana aumentou 2 logs a partir da concentração inicial de 10⁴ UFC/mL, mantendo-se em 10⁶ UFC/mL seguindo para 10⁷ UFC/mL no sétimo dia. Na concentração de 7,1% de óleo, a população aumento 3 logs, mantendo-se em 10⁷ UFC/mL até o tempo final. Não foi constatada a produção de ramnolipídeos, mas a presença do gene alkB foi detectado nas células de P. aeruginosa durante o crescimento. Os resultados de degradação do biodiesel pelas bactérias mostraram 60% e 21% em 7,14% e 28,54% de fase oleosa, respectivamente.

Palavras-chave: mistura B7; biodegradação; crescimento bacteriano; alcano hidroxilase.

Projeto financiado: Edital 40/CNPg LAB-BIO

Estudo da influência do pH, Temperatura e concentração de L-asparagina na produção de L-asparaginase excretada por *Pseudomonas aeruginosa* isolada da *Poencianella pyramidalis* do Bioma Caatinga.

<u>Iasmim Lucas da Silva</u>¹, Wellma de Oliveira Silva¹, Erik Jonne Vieira de Melo¹, Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho², Leonor Alves de Oliveira da Silva¹.

lasmim.lusi@gmail.com

- 1 Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Antibióticos, Centro de Ciências Biológicas da, Arthur de Sá, S/N, Cidade Universitária, Recife-PE, 50670-901.
- 2 Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, Avenida Moraes Rego, S/ N, Cidade Universitária, Recife-PE, 50670-420.

Resumo

A L-asparaginase (E.C. 3.5.1.1) é essencial para um curso normal do ciclo celular, estando presente em bactérias, fungos, animais e plantas e não é encontrada em seres humanos. Importante para o tratamento da leucemia linfoblástica aguda dentre outras doenças leucêmicas e a doença de Hodgkin. As *Pseudomonas* são ocorrentes no solo e água, apresentam a capacidade de produzir enzimas, como é o caso da L-asparaginase do Tipo I e II.

No presente estudo objetivando otimizar a produção do complexo de L-asparaginase foi realizado um planejamento experimental central composto (23) com 4 pontos centrais, sendo as variáveis pH (4, 7 e 10), temperatura (30°C, 40°C e 50°C) e concentração da L-asparagina (0,2%, 0,5% e 0,8%) estudadas. Para o procedimento de otimização da produção de L-asparaginase extracelular a Pseudomonas aeruginosa foi semeadas no meio Caldo Muller Hington (MH) e cultivada a 37º C por 24 horas. Posteriormente inoculadas nos diferentes meios de fermentação conforme proposto pelo planejamento experimental. A análise estatística das variáveis e a análise da variância (ANOVA) dos resultados obtidos foram avaliadas através do programa Statistica, versão 7.0 (StatSoft Co., USA), apresentando um valor de R-sqr = 0,98437 e MS Residual = 0,0011499. Obtendo melhor resultado de atividade Lasparaginase nos ensaios com concentração de L-asparagina a 0,8%, pH 4 e temperatura de 30°C, com valores de atividades 0,5604 U/mL e 0,0632 mg de proteina/mL, respectivamente. Os resultados obtidos no planejamento mostraram melhor interação entre a temperatura e concentração de L-asparagina, contudo, o pH não apresentou significância. A análise mais aprofundada da L-asparaginase isolada do gênero Pseudomonas representam um passo fundamental para o uso de novos produtos para a indústria farmacêutica.

Palavras-chave: L-asparaginase; Pseudomonas aeruginosa; otimização; purificação

Projeto financiado: FACEPE.

Avaliação e comparação da toxicidade do cromo (III) e cromo (VI) utilizando a levedura Saccharomyces cerevisiae e a alga Pseudokirchneriella subcapitata.

Janaína Konrath¹; Cláudio Marcos Lauer Júnior^{2, 3}

claudiomarcos@feevale.br

1-Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade Feevale
2-Laboratório de Ecotoxicologia, Universidade Feevale
3-Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente

Resumo

A indústria do couro tem grande importância para a economia brasileira, porém tem causado vários impactos ambientais, uma vez que, utiliza grandes quantidades de água e produtos químicos. O cromo (Cr) é um metal de transição, que não ocorre livre na natureza, podendo ser tóxico para o ser humano dependendo do seu estado de oxidação. A maior parte da literatura publicada, conclui que o Cr (VI) é mais tóxico que o Cr (III). Nesse contexto o objetivo do trabalho foi avaliar e comparar a toxicidade das formas de cromo, Cr (III) e Cr (VI), utilizando a levedura Saccharomyces cerevisiae, linhagens: selvagem BY4741 e mutante gsh1Δ, e a alga verde Pseudokirchneriella subcapitata como organismos testes. Para tanto utilizou as metodologias do teste em gotas e a curva de sobrevivência para avaliar a toxicidade do cromo nas linhagens de S. cerevisiae. Entretanto, nos testes com algas utilizou-se a avaliação do crescimento celular (biomassa), por análise fluorimétrica usando um leitor de microplacas. Para a análise dos dados utilizou-se o teste ANOVA, seguido do teste de Tukey para comparações múltiplas, foram considerados significativos quando p<0,05. Os resultados encontrados indicaram que a alga P. subcapitata foi mais sensível que as linhagens de S. cerevisiae quando expostas ao cromo. Além disso, os resultados demonstraram que Cr (III) foi menos tóxico para as linhagens de levedura. Porém, a toxicidade observada entre Cr (III) e Cr (VI) em baixas concentrações nos ensaios com a P. subcapitata não mostrou diferença significativa p>0.05 indicando que em baixas concentrações as duas formas de cromo possuem a mesma toxicidade para as algas. Entretanto, em concentrações mais elevadas o Cr (VI) se tornou mais tóxico. Por fim, o risco ambiental causado pelo Cr (III) deve ser considerado e melhor estudado em algas unicelulares.

Palavras-chave: cromo; toxicidade; levedura; alga.

Tratamento de efluente sanitário por via microbiológica a partir de lagoas de alta taxa seguidas por flotação com ar dissolvido quimicamente assistida

<u>Jose Carlos Alves Barroso Jr</u>.¹; Eddie F. Gómez¹; Nestor Leonel Muñoz Hoyos¹; Felipe Krüger Leal¹; Patrícia Tambosi Reque¹; Luiz Olinto Monteggia¹

jrzenite@gmail.com

1- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Pesquisas Hidráulicas, Laboratório de Saneamento, Grupo de Bioenergia e Ambiente, Av. Bento Gonçalves, 9500. Porto Alegre/RS. CEP: 90040-060.

Resumo

Com o avanço no tratamento de efluentes sanitários com o foco na remoção de matéria orgânica cria-se um novo desafio, a remoção e reaproveitamento dos nutrientes, afim de evitar a eutrofização de corpos hídricos e o comprometimento da sua qualidade. Este trabalho apresenta o tratamento a partir de um sistema de lagoa de alta taxa, para criação de microalgas e fixação do nutrientes por via biológica, com posterior separação através da flotação por ar dissolvido, para a remoção das microalgas. A lagoa foi operada com vazão de 0,98 m³/h com tempo de detenção hidráulico de 6,1 dias. Para o auxílio na flotação foram utilizados um coagulante inorgânico (cloreto férrico com dosagem de 40 mg/L) e um floculante orgânico (Tanac sg com dosagem de 50 mg/L). O primeiro apresentou melhor desempenho na remoção de nutrientes (fósforo total - 81,2 % e nitrogênio total - 69,2 %), enquanto o Tanac sg obteve melhor desempenho para remoção de sólidos suspensos voláteis (55,0 %) e matéria orgânica (DBO5 - 87,8 % e DQO - 83,1 %). O nitrogênio e o fósforo pôde ser removido devido a existência das microalgas, as quais sorvem os nutrientes dissolvidos, removendo estes do meio líquido, além destas elevarem o pH obtendo valores acima de 9,0, permitindo a conversão de parte do nitrogênio em gás amônia, o qual tende a desprender do meio líquido. Desta forma para maior remoção de nutrientes é recomendado a utilização de lagoas de alta taxa seguidas de flotação por ar dissolvido utilizando o cloreto férrico como coagulantes, porém para maior eficiência na remoção de matéria orgânica é indicado o Tanac sg.

Palavras-Chave: Tratamento de efluentes, microalgas, lagoas de alta taxa, flotação por ar dissolvido, remoção de nutrientes.

Projeto financiado: FINEP.

Avaliação de borra proveniente de tanques de armazenamento de biodiesel: enfoque químico e microbiológico

<u>Juciana Clarice Cazarolli</u>¹, Sabrina Beker¹, Gabriela Boelter¹, Patrícia Dorr Quadros¹, Camila Correa², Marco Flôres Ferrão², Fátima Menezes Bento¹.

jucianacazarolli@gmail.com

- 1 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Laboratório de Biodegradação de Combustíveis e Biocombustíveis, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.
- 2 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Química, Avenida Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre/RS. CEP: 91509-900.

Resumo

Durante o armazenamento de biodiesel podem ocorrer reações de natureza química e o desenvolvimento microbiano, resultando na formação de depósitos e borras nos tanques. A presença de água livre no fundo dos tanques cria uma condição imprescindível para o estabelecimento do crescimento microbiano, além de facilitar as reações de degradação abiótica do biodiesel. O objetivo do trabalho foi caracterizar uma borra originária de um tanque de estocagem de biodiesel puro (B100), quanto à natureza de sua composição química e microbiana, através de análises de ressonância magnética nuclear (RMN) e dependentes de cultivo. Uma borra foi coletada de tanques de estocagem de uma usina produtora de biodiesel e foi avaliada quanto à população microbiana, conforme recebida e após um procedimento de aclimatação, onde 1mL de borra biológica foi adicionado a um erlenmeyer com 100mL de meio mineral e 100mL de biodiesel de soja, incubado sob agitação por 10 dias. O isolamento dos microrganismos foi realizado por diluição seriada decimal da borra, e da amostra aclimatada. A semeadura foi realizada em meios de cultura BDA (fungos), R2A e PCA (bactérias), e as placas incubadas em estufa a 30°C por até 3 dias, para visualização do crescimento de bactérias, e 7 dias para fungos. A constituição química da borra coletada foi avaliada por RMN. Os isolados bacterianos foram avaliados quanto à forma e arranjo celular, e os fungos isolados estão sendo analisados através da técnica de microcultivo. A identificação molecular de cada microrganismo será realizada por seguenciamento Sanger. Os resultados de RMN indicaram a composição química da borra similar aos ésteres constituintes do biodiesel. Entre os microrganismos isolados obtivemos 9 fungos filamentosos e 4 bactérias. Desses, um total de 5 microrganismos foram provenientes da borra biológica conforme recebida, indicando que o procedimento de aclimatação favoreceu o isolamento microbiano nos meios e condições indicadas.

Palavras-chave: fungos; bactérias; biodiesel; meio de cultura, espectroscopia infravermelho.

Agências de Fomento: Edital 40 do CNPq, CAPES; recursos LAB-BIO-UFRGS.

Estudo da microbiota intestinal de traças dos gêneros *Lepisma* e *Tinea* através de sequenciamento de alto desempenho

<u>Julia Severo Rodino</u>^{1,2}, Adriana Giongo¹, Renata Medina da Silva^{1,2}, Shaiana Paula Mattiello¹, João Marcelo Medina Ketzer¹, Rafael Rodrigues de Oliveira¹

julia.rodino@acad.pucrs.br

- 1 Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Instituto do Petróleo e Recursos Naturais (IPR), Laboratório de Geobiologia. Avenida Ipiranga, 6681, Prédio 96J, Sala 308. Porto Alegre/RS. CEP: 90619-900.
- 2 Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Faculdade de Biociências (FABIO). Laboratório de Imunologia e Microbiologia, Avenida Ipiranga, 6681, Prédio 12D, Sala 201. Porto Alegre/RS. CEP: 90619-900

Resumo

O conhecimento de novos microrganismos capazes de degradar lignocelulose pode aperfeiçoar os processos de produção de biocombustíveis. O termo "traça" é comumente associado a insetos pertencentes aos gêneros Lepisma (Ordem Tysanura) e Tinea (Ordem Lepidoptera). Frequentemente encontradas em residências, são consideradas pragas urbanas, pois alimentam-se de roupas, tapeçarias, estofados, papéis e livros. Devido a estes hábitos alimentares, podem apresentar em sua microbiota intestinal espécies microbianas eficientes na degradação de biomassa vegetal. Este trabalho tem como objetivo descrever e comparar a microbiota do intestino de ambos os gêneros de traças através do sequenciamento de alto desempenho de um fragmento do gene 16S ribossomal, a fim de acessar os microrganismos com potencial para a degradação de lignocelulose. Para tal, três traças dos gêneros supracitados foram coletadas em ambiente doméstico, congeladas a -20°C e posteriormente desinfetadas externamente com hipoclorito de sódio 2,5% por 10 minutos e etanol 70% por 1 minuto. O intestino e a cabeça dos animais foram removidos com uso de um bisturi estéril. Para a identificação taxonômica das traças, DNA extraído de tecido muscular da cabeça foi usado como molde nas reações de PCR visando a amplificação do gene mitocondrial citocromo oxidase I (COI). O DNA total extraído dos intestinos foi utilizado para amplificar o gene 16S ribossomal para análises de metagenômica da microbiota intestinal destes animais. Tais experimentos estão em andamento e as amostras de DNA em breve serão sequenciadas com uso do sequenciador de alto desempenho Ion Torrent. Os resultados obtidos não só trarão importantes informações a respeito destas comunidades microbianas ainda pouco exploradas, como também permitirão a formulação de meios de cultura específicos que atenderão as demandas metabólicas dos novos biocatalisadores a serem cultivados para futura aplicação na degradação de biomassa lignocelulósica.

Palavras-chave: 16S ribossomal; sequenciamento de alto desempenho; microbioma; biomassa lignocelulósica

Detecção de adenovírus humanos em amostras de água e gastrópodes coletados em áreas úmidas

<u>Juliana Schons Gularte</u>¹, Rodrigo Staggemeier¹, Meriane Demoliner¹, Tatiana Moraes da Silva Heck¹, Fágner Henrique Heldt¹, Andréia Henzel¹, Fernando Rosado Spilki¹

julianaschons@hotmail.com

1 - Universidade Feevale, Programa de Pós Graduação em Qualidade Ambiental, Laboratório de Microbiologia Molecular, ERS – 239, 2755. Novo Hamburgo/RS. CEP: 93525-075.

Resumo

O lançamento de efluentes não tratados nos corpos hídricos prejudica a qualidade da água e a saúde humana, sendo um exemplo das inúmeras ações antrópicas que vem alterando os ambientes naturais. Incluindo as áreas úmidas que são ecossistemas de grande importância ecológica e que abrigam inúmeras espécies de animais, como os gastrópodes. Os vírus entéricos são as principais causas de doenças de veiculação hídrica, pois infectando o trato gastrintestinal, são eliminados em grande quantidade nos esgotos domésticos. Os adenovírus humanos (HAdV) são vírus entéricos altamente resistentes no ambiente aquático e amplamente utilizados como indicadores de poluição fecal. Monitorar a presenca de HAdV no ambiente aquático torna-se importante para o acompanhamento da qualidade da água e a utilização dos gastrópodes como bioacumuladores de vírus entéricos, pode-se revelar uma ferramenta complementar as análises de água. O objetivo geral deste trabalho foi detectar a presença de HAdV em água e gastrópodes de áreas úmidas da bacia hidrográfica do Rio dos Sinos. Foram realizadas cinco amostragens de água e gastrópodes, da espécie Pomacea canaliculata, em quatro áreas úmidas ao longo da bacia. 60 amostras foram analisadas, incluindo água, tecido e hemolinfa dos caramujos. Para a detecção de HAdV foi utilizado o método molecular reação da polimerase em cadeia em tempo real (qPCR). Ao todo, 25% das amostras foram positivas para genomas de HAdV. Destas, 40% das amostras de água foram positivas, enquanto 25% para hemolinfa e 10% nos tecidos dos gastrópodes continham genomas de HAdV. As quatro áreas úmidas apresentaram contaminação fecal de origem humana, demonstrando a interferência do descarte de dejetos domésticos nestes ambientes. Enquanto a detecção de HAdV foi mais frequente em amostras de água, em alguns casos só foi encontrada carga viral detectável em amostras provenientes dos gastrópodes, enfatizando a importância de complementar a amostragem utilizando tais organismos como bioindicadores.

Palavras-chave: Adenovírus; áreas úmidas; bioindicadores; gastrópodes.

Projeto financiado: Projeto Sinos D`Água (COMITESINOS/Petrobrás).

Potencial antibacteriano do óleo essencial de Alecrim (Rosmarinus officinalis) frente a cepas de Salmonella spp. isoladas de alimentos

<u>Kamila Furtado da Cunha¹</u>, Marcelle Oliveira Garcia¹, Beatriz Bohns Pruski¹, Rosana Serpa ², Daiane Drawz Hartiwg¹, Gladis Aver Ribeiro¹

kamilafurtado1@hotmail.com

- 1 Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Laboratório de Bacteriologia, Campus Universitário Capão do Leão. Capão do Leão/RS. CEP: 96010-900.
- 2 Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Patologia e Medicina Legal. Fortaleza, CE. CEP: 60441750.

Resumo

Atualmente, é crescente o interesse em terapias alternativas a base de produtos naturais. Os óleos essenciais são produtos oriundos do metabolismo secundário vegetal, podendo ser extraído de qualquer parte planta, e são utilizados por apresentarem grande potencial terapêutico e farmacológico. Dentre suas propriedades biológicas, a ação antibacteriana é uma das mais estudadas, devido à procura de uma substancia antimicrobiana ideal, que possua um maior espectro de ação, baixo custo e resistência bacteriana. Dos agentes bacterianos causadores de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's), Salmonella é um dos principais, e devido a sua virulência, a legislação estabelece, sua ausência em 25g de alimento. Assim, o objetivo do trabalho foi verificar o potencial antibacteriano do óleo essencial de alecrim frente a duas cepas de Salmonella spp. isoladas de alimentos. Foi também investigada a ação biológica deste óleo frente a Salmonella ATCC 14028. Foi determinada a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) de acordo com CLSI (2012, com modificações). Os resultados obtidos para CIM foram 1, 562% para Salmonella ATCC 14028 e amostra I, e de 3, 125% para a amostra II. A CBM foi de 3, 125% para Salmonella ATCC 14028 e amostra I, e 6, 25% para amostra II. Os resultados dos testes in vitro indicam um bom potencial do óleo essencial de alecrim como agente inibidor do crescimento bacteriano de Salmonella, devido às baixas concentrações inibitórias e bactericidas obtidas nos testes.

Palavras-chave: Ação antibacteriana; óleo essencial de alecrim; Salmonella.

Adenovírus humano ao longo das etapas de uma estação de tratamento de água convencional compacta

<u>Larissa Ferreira de Jesus</u>¹, Luana Ruskowski¹, Tatiana Moraes da Silva Heck¹, Rodrigo Staggemeier¹, Viviane Girardi¹, Iuri Dias Manfro¹, Mayra Cristina Soliman¹, Caroline Rigotto¹, Carlos Augusto do Nascimento¹, Fernando Rosado Spilki¹

larissafj@gmail.com

¹Universidade Feevale, Laboratório de Microbiologia Molecular, RS-239, 2755, Novo Hamburgo/RS. CEP: 93525-0751.

Resumo

A contaminação dos recursos hídricos está relacionada ao saneamento básico e as condições inadequadas de tratamento de água . Entre os vírus entéricos, os Adenovírus humanos (HAdV) são os mais frequentemente detectado e isto pode estar relacionado a sua elevada resistência, elevada prevalência de infecções assintomáticas com excreção fecal abundante. No presente estudo, foram analisadas as cargas virais de HAdV ao longo das etapas de tratamento da água em uma Estação de Tratamento de Água (ETA) compacta localizada no Vale dos Sinos em conjunto com o sistema convencional. Visando a detecção molecular de HAdV nas diferentes etapas de tratamento de água, de ambos os sistemas, foram analisadas amostras de água bruta, água decantada do sistema convencional, água decantada do sistema compacto, água filtrada do sistema convencional, água filtrada do sistema compacto e água tratada provenientes da ETA. As amostras foram coletadas mensalmente, no período de Maio de 2011 a Maio de 2013 num total de 126 amostras. . Após um processo de concentração por adsorção/eluição, foi realizada a extração do DNA viral seguida pela reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR). Como principais resultados, 29 % das amostras foram positivas para HAdV. Analisando as etapas, 55% das água brutas, 14% das águas decantadas convencionais, 5,5% das amostras decantadas compactas, 18% das águas filtradas convencionais, 33% das amostras filtradas compactas e 43% das águas tratadas foram positivas para HAdV. Observa-se uma redução inferior a 4 logs nas cargas virais, que seria o desejável segundo normativas internacionais.

Palavras-chave: Adenovírus; HAdV; qPCR; tratamento de água; microbiologia ambiental.

Apoio: CAPES, CNPq, FAPERGS.

Avaliação de microrganismos produtores de compostos bioativos do Parque Estadual de Itapeva - RS

<u>Lidiane de Medeiros Hahn</u>¹, Amanda Cristina Flores¹, Daniel Bedinote da Rocha¹, Sueli Teresinha Van Der Sand², José Carlos Germani², Diego Antonio Viana Gomes^{1,2}

lidianehahn@yahoo.com.br

- 1 Universidade Luterana do Brasil Torres, Laboratório de Microbiologia, Rua Universitária, 1900 Parque do Balonismo. Torres/RS. CEP: 95560-000.
- 2 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.

Resumo

O Parque Estadual de Itapeva (PEVA) é uma Unidade de Conservação do Estado do Rio Grande do Sul localizado no município de Torres. O PEVA contém cinco hábitats bem característicos: dunas, lagoas, banhados, mata paludosa e restinga. O principal transformador do solo é o vento com um contínuo transporte de areia. Os microrganismos desempenham papéis fundamentais na sustentação da vida dos seres superiores e nas funções de manutenção e controle de ciclos biogeoguímicos. Esses ciclos são proporcionados pelas bactérias, archaea, protozoários, algas e fungos. As distintas inter-relações ecológicas permitem ampla compreensão dos ambientes naturais caracterizados no PEVA devido à seleção e disputa biológica. Objetivou-se avaliar os microrganismos produtores de compostos bioativos isolados do Parque Estadual de Itapeva. Para avaliação de produção de compostos pelos microrganismos isolados do Parque, realizou-se o teste de dupla camada, inoculando-se, pelo método de picada, 357 microrganismos isolados em placas de Petri contendo meios específicos e incubou-se a 30°C. Posteriormente, acrescentou-se Mueller Hinton com uma suspensão de microrganismos multirresistentes sobre os crescimentos e estes foram incubados por 24 horas a 37°C. Após o crescimento, verificou-se os halos de inibição com o auxílio de um paquímetro cujas medidas são expressas em mm. Ao final da incubação, constatou-se que de um total de 357 isolados microbianos, 30 (8,4%) deles produziram halo inibitório, sendo sete para Staphylococcus aureus, sete para Staphylococcus sp. coagulase-negativa, dois para Enterococcus faecium, seis para Escherichia coli, sete para uma cepa de Klebsiella pneumoniae pan resistente isolada do HCL e uma para a outra cepa de Klebsiella pneumoniae. Os resultados comprovam a produção de compostos ativos pelos microrganismos avaliados. Estes ambientes apresentam um grande potencial de pesquisas com caráter biotecnológico e preservá-los torna-se de suma importância para a descoberta de novos microrganismos.

Palavras-chave: bactérias; PEVA; teste de dupla camada; antibiose.

Diagnóstico da água utilizada para dessedentação animal proveniente de APPs, açudes e tanques em propriedades rurais produtoras de leite do Vale do Taquari – RS

Luana Carla Salvi¹, Jaqueline De Bortoli¹, Claudete Rempel¹

Isalvi@universo.univates.br

1 – Centro Universitário UNIVATES, Rua Avelino Tallini, 171. Lajeado/RS. CEP: 95900-000.

Resumo

A qualidade da água está relacionada à sanidade animal e a qualidade do leite, no entanto, o abastecimento de água tratada no meio rural ainda é um desafio na maioria dos municípios do Vale do Taquari (VT). O estudo objetivou analisar a qualidade microbiológica da água - coliformes totais e termotolerantes - proveniente de APPs, açudes e tanques destinados à dessedentação animal em propriedades rurais produtoras de leite nos 36 municípios do VT. Foram realizadas atividades in loco em 104 propriedades, sendo coletadas amostras em APPs (16), açudes (19) e tanques com canalização de água oriunda de redes de sociedade (20) e pocos próprios (49). seguindo-se a metodologia proposta pelo Manual Prático de Análise de Água da FUNASA. Para as análises microbiológicas: coliformes totais e termotolerantes (meio cromogênio em papel DIP SLIDE - Colipaper - concentração mínima detectável de 80 UFC/100 mL - meio rastreado à cepa bacteriana Escherichia coli para coliformes termotolerantes e Enterobacter cloacae para coliformes totais) foi utilizado o Kit Básico de potabilidade Alfakit®, com metodologia do fabricante, em triplicatas. Os valores foram tabulados no Microsoft Excel® e comparados aos valores máximos permitidos (VMP) pela Resolução CONAMA 357/2005 (Classe 3). Os resultados demonstraram presença de coliformes termotolerantes em concentrações superiores aos VMP pela legislação consultada, nas amostras originárias, respectivamente, de açudes (68,42%), APPs (62,50%), poços próprios (40,82%) e redes de sociedade (20,00%). A Resolução não estabelece valores de referência para coliformes totais. Entretanto, observou-se concentração média de coliformes totais de 6214 UFC/100 mL nas amostras provenientes de açudes; em APPs, 4907 UFC/100 mL; em poços próprios, 3280 UFC/100 mL e; em redes de sociedade, 1678 UFC/100 mL. Concluiu-se que 47,90% das amostras analisadas estão impróprias para consumo bovino, sendo indicado o tratamento (simplificado ou não) e monitoramento da qualidade da água nesses estabelecimentos rurais.

Palavras-chave: Escherichia coli; qualidade da água; potabilidade.

Projeto financiado: CNPg, FAPERGS, UNIVATES.

Análise da resistência antimicrobiana e produção de ESBL em *Escherichia coli* isoladas da Laguna de Tramandaí, RS, BRASIL.

<u>Lucio Menezes de Amorim</u>¹, Belize Rodrigues Leite¹, Magda Antunes Chaves¹, Gertrudes Corção¹

darthlucio@gmail.com

1- - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.

Resumo

Na natureza, as células microbianas vivem associadas a outras células, formando populações oligotróficas. Sistemas estuarinos são fortemente influenciados pela atividade antropogênica, acumulando altos níveis de poluentes e muitas vezes tornando-se eutróficos. Escherichia coli é um membro natural do trato gastrointestinal de aves e de animais de sangue que pode ser encontrado em ambientes poluídos. Os objetivos desse estudo foi isolar e identificar as E. coli provenientes de amostras de água da Laguna de Tramandaí, Rio Grande do Sul, Brasil e analisar a resistência a diferentes classes de antimicrobianos destes isolados e produção de ESBL. Foram realizadas duas coletas, em agosto de 2014 e em janeiro de 2015, na Laguna de Tramandaí, Litoral Norte do Rio Grande do Sul. Em quatro pontos de coleta com diferentes graus de impacto ambiental: ponto (1) situado junto à desembocadura na laguna no mar, ponto (2) localizado na saída de um condomínio residencial de Imbé, ponto (3) localizado na parte central da Laguna e ponto (4) localizado numa das margens onde não há residências. A resistência foi determinada pelo Método de Disco Difusão e a produção de ESBL através do Teste Adição. Isolados com fenótipos intermediário foram considerados resistentes e isolados com resistência a dois ou mais antimicrobianos foram considerados multiresistentes. Foram isoladas 148 cepas de E. coli ao término das duas coletas. Apenas seis cepas (4%) apresentaram resistência a três ou mais antimicrobianos e uma cepa (0,67%) apresentou a doiscaracterizando-as como multirresistentes a antimicrobianos, cinco cepas (3,37%) mostraram resistência a um antimicrobiano. Duas cepas (EC 1223 e EC 1312) obtiveram uma diferença no diâmetro do halo de inibição para Cefoperazona (6mm), Cefoperazol (7mm) e Cefoperazona (7mm), Cefoperazol (7mm) e Ceftriaxona (10mm) respectivamente, o que indica presença de ESBL nestes isolados.

Palavras-chave: Escherichia coli, água, resistência antimicrobiana e ESBIs

Agência de Fomento: CNPq

Avaliação da contaminação por *Giardia spp. E Cystoisospora spp.* em ambientes frequentados por gatos domésticos.

Peters, L.1; Rodrigues, M.1; Souza, A.1; Marques, S.M.T.1

¹Laboratório de Helmintoses, departamento de patologia Clínica Veterinária Faculdade de Veterinária, UFRGS

Resumo

Com o aumento da população de gatos domésticos, cresceram também as infecções transmitidas aos humanos. Giardia spp. é um protozoário zoonótico entérico, que em gatos raramente causa infecção grave e os sinais clínicos ocorrem com maior frequência em animais jovens ou situações de stress. A isosporose tem nos gatos como agente o protozoário do gênero Cystoisospora, com duas espécies: C. felis e C. rivolta, que são eliminados oocistos não-esporulados juntamente com as fezes no ambiente. Em condições adequadas de temperatura, umidade e oxigenação ocorre a esporulação, tornando-se infectante. A infecção do novo hospedeiro se dá pela ingestão de alimentos ou água contaminados com oocistos. O objetivo desta pesquisa foi determinar a presença de protozoários zoonóticos em gatos atendidos no HCV-UFRGS. Amostras fecais de 72 gatos domiciliados atendidos no Hospital de Clínicas da Faculdade de Veterinária - UFRGS, foram coletadas e encaminhadas em potes plásticos descartáveis ao Laboratório de Helmintoses (FAVET) no período de janeiro de 2014 à julho de 2015. A metodologia consistiu em duas técnicas parasitológicas: flutuação com solução hipersaturada de cloreto de sódio e centrífugo-flutuação com solução de sulfato de zinco à 33%. A obtenção do diagnóstico foi através da microscopia óptica (10X e 40X). A prevalência total de protozoários em 2014 foi de 22,22% (16/72); Giardia spp. e Cystoisospora spp. foram prevalentes em 5,6% (4/12) e 16,7% (12/72), respectivamente. Em 2015, a prevalência de Cystoisospora foi de 15,4% (2/13) e nenhum caso de infecção por Giardia spp. foi constatado. A convivência direta dos gatos com humanos torna de suma importância a realização periódica dos exames parasitológicos e os animais infectados devem ser isolados e tratados. Embora a prevalência detectada seja baixa, deve ser considerada relevante pela alta capacidade de infectividade e contaminação entre gatos e entre gatos e humanos.

Análise da presença e resistência de bactérias não fermentadoras (*Acinetobacter* sp. e *Pseudomonas* sp.) isoladas da Laguna de Tramandaí/RS - Brasil

<u>Magda Antunes de Chaves</u>¹; Belize Leite Rodrigues¹; Lucio Menezes de Amorim¹; Letícia Muner Otton¹; Gertrudes Corção¹

magda antunes@hotmail.com

1 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Laboratório de Microbiologia, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.

Resumo

A água é uma fonte receptora de poluentes, onde antimicrobianos também são encontrados em concentrações elevadas. Os gêneros Pseudomonas e Acinetobacter são encontrados na água, no solo, além de na microbiota de humanos e animais, podendo ser patógenos oportunistas destes. Estas bactérias são conhecidas também por apresentarem fenótipo de multiresistencia. Este estudo visa analisar a presença de Pseudomonas e Acinetobacter e futuramente analisar o papel destes na manutenção da resistência a antimicrobianos na Lagoa de Tramandaí. As amostragens foram realizadas em agosto de 2014 e janeiro de 2015, no qual foram feitas simulações de estresse ambiental por antimicrobianos. Uma das alíquotas foi incubada sem nenhum composto adicional (controle negativo) e as demais receberam pré-tratamento com ácido nalidíxico, ceftazidima, imipenem ou tetraciclina, na concentração de 20 mg/L. Após, as amostras foram diluídas e cultivadas em ágar PCA e ágar marinho contendo o respectivo antimicrobiano aos quais já haviam sido expostas. Posteriormente as amostras foram esgotadas em TSA e armazenadas em ágar conservação. Após o isolamento, serão realizadas colorações de Gram e testes bioquímicos (oxidase, catalase e crescimento em ágar TSI). A confirmação molecular dos gêneros Acinetobacter e Pseudomonas será realizada por meio da amplificação de um fragmento do gene 16S rRNA utilizando oligonucleotídeos iniciadores específicos para os dois gêneros. Até o momento foram obtidos 41 isolados com resistência a ceftazidima, 101 isolados resistentes a tetraciclina, 33 isolados resistentes a imipenem e 62 isolados resistentes ao ácido nalidíxico.

Palavras-chaves: antimicrobiano, resistência, água.

Agência Fomento: CAPES

Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da folha de Luehea candicans Mart et Zucc. (malvaceaea)

<u>Maicon Matos Leitão</u>¹, Rafael Pereira da Silva de Souza¹, Carine Cavalcanti Faria de Lima¹, Natiele Amanda Vasques dos Santos Silva¹, Luis Fernando Benitez Macorini¹

mleitao02@hotmail.com

1 - Centro Universitário da Grande Dourados – UNIGRAN, Faculdade de Ciências da Saúde, Laboratório de Microbiologia, Rua Balbina de Matos, 2121. Jd. Universitário. Dourados/MS. CEP 79.824-900.

Resumo

Princípios ativos de plantas medicinais vêm sendo pesquisados na intenção de obter novos medicamentos no combate a microrganismos multirresistentes. Dentre estas plantas medicinais destaca-se a Luehea candicans Mart et Zucc, popularmente conhecida como açoita-cavalo. O objetivo do trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana por meio de difusão em agar, concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) do extrato hidroalcoólico de Luehea candicans Mart et Zucc. Foram testadas cepas de Staphylococcus aureus (ATCC 25923), Staphylococcus epidermidis (ATCC 12228), Klebsiella pneumoniae (ATCC 12883) Proteus mirabilis (ATCC 25933) e Salmonella typhimurium (ATCC 14028). A análise de difusão em ágar foi realizada utilizando placas de Agar Mueller Hinton (AMH), semeadas com cepas padronizadas em salina na escala 0,5 MacFarland, acrescidas de 100µl do extrato na concentração de 50mg/ml em poços de 6mm de diâmetro, utilizando tetraciclina como controle positivo. A CIM foi realizada utilizando microplaca de 96 poços, adicionando 100µL de caldo Mueller Hinton e 100µL do extrato realizando a microdiluição. Após a diluição, adicionou-se 10µL das cepas padronizadas na mesma escala diluídas 1:10 em salina, resultando no inóculo final de aproximadamente 1x108 UFC/mL, posteriormente, levadas à estufa a 37°C por 24h. As CIM foram determinadas em espectrofotômetro a 610nm. Para a CBM foi adicionado 10µL de cada diluição em AMH, e levada a estufa a 36°C por 24h. O extrato de Luehea candicans Mart et Zucc apresentou efetividade antimicrobiana às cepas Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Klebsiella pneumoniae e Proteus mirabilis com halos de inibição de 18±0,5mm, 15,6±0,1mm, 21,5±1mm, 15,6±0,6mm e CIM de 25mg/mL, 25mg/mL, 3,12mg/mL e 25mg/mL respectivamente. A cepa Salmonella typhimurium não apresentou halo de inibição, porém obteve-se CIM de 25mg/mL. A CBM foi de 25mg/mL para todos os microrganismos testados. Diante disso, novos estudos podem ser realizados para evidenciar ainda mais sua eficácia e segurança no uso como fitoterápico.

Palavras-chave: fitoterápico; difusão em agar; concentração inibitória mínima.

Projeto financiado: UNIGRAN.

Uso da técnica de Rep-PCR na identificação de isolados de actinomicetos

Marcela Proença Borba¹, Ana Elisa Ballarini¹, Sueli Van Der Sand¹

ceh.proenca@gmail.com

1 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Laboratório de Microbiologia Ambiental, Rua Sarmento Leite, 500 sala 323. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.

Resumo

Actinomicetos são um grupo de bactérias Gram positivas e filamentosas que representam uma das maiores populações microbianas presentes no solo. Estes microrganismos são de grande interesse industrial, devido a sua capacidade de produzir compostos biologicamente ativos, como antibióticos, anti-helmínticos e antitumorais, além de exercerem controle biológico contra fitopatógenos e muitos são promotores de crescimento de plantas. Actinomicetos de diferentes origens foram isolados em estudos anteriores pelo nosso grupo de pesquisa e inicialmente foram identificados com base em suas características morfológicas e bioquímicas. O sequenciamento parcial ou total do 16S rDNA para alguns gêneros deste grupo ainda não se mostrou muito eficiente, pois após o alinhamento das sequências foram geradas múltiplas espécies para um mesmo fragmento. A técnica de Rep-PCR foi desenvolvida baseada na observação de sequências conservadas e repetidas ao longo do genoma bacteriano e utiliza oligonucleotídeos que amplificam diversas regiões do DNA que estão flanqueadas pelas sequencias repetidas, formando um padrão de amplificação único nos diferentes organismos. O elemento BOX é um fragmento de DNA de 154 pb localizado repetidamente em posições intergênicas do genoma e pode ser utilizado para a realização deste fingerprinting genômico. O objetivo deste trabalho é utilizar a técnica de BOX-PCR para caracterizar os 89 isolados de actinomicetos, agrupando-os em clusters de similaridade por padrão de fragmentos e posteriormente realizar o següenciamento do rDNA 16S de isolados de grupos distintos. O primer utilizado nas reações de PCR foi o primer BOX A1R (5'-CTACGGCAAGGCGACGCTGACG-3'), que até o momento possibilitou observação de no mínimo um fragmento distinto em cada uma das 49 amostras das 51 já testadas. Análises do peso molecular dos fragmentos e o respectivo dendrograma com os padrões obtidos ainda serão realizados.

Palavras-chave: fingerprinting genômico; Actinomycetes.

Projeto financiado: CAPES.

Análise parasitológica de solo de áreas de lazer de condomínios residenciais de Porto Alegre - RS

<u>Muriel Rodrigues Ferraz de Oliveira</u>¹, Luiza Peters de Souza¹, André Souza¹, Sandra Marcia Tietz Marques¹

muriel rfo@hotmail.com

1 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária, Laboratório de Helmintoses, Av. Bento Gonçalves, 9090 . Porto Alegre/RS. CEP: 91540-000

Resumo

As infecções parasitárias transmitidas pelo solo são frequentes e estão relacionadas à deficiência das condições de saneamento básico e dos hábitos de higiene. Animais de estimação como cães e gatos chegam a eliminar até 15.000 ovos de parasitos por grama de fezes, desse modo contaminam o solo e expõem os humanos ao risco de adquirir doenças parasitárias. Crianças de 2 a 5 anos de idade constituem o principal grupo de risco em razão de seu maior contato com o solo, principalmente aquelas que frequentam praças de recreação. Este estudo objetivou fazer o levantamento da presenca de formas parasitárias em caixas de areia e espacos lúdicos de condomínios da cidade de Porto Alegre-RS. Foram amostrados 10 condomínios residenciais dos bairros Centro, Partenon, Petrópolis, Humaitá, Intercap, Jardim Itú-Sabará, Leopoldina, Cavalhada e Tristeza. As coletas de areia foram realizadas no período de junho a agosto de 2015. De cada espaço lúdico foram coletadas em média 3 amostras de areia/terra, uma amostra de 50g em 2 diferentes quadrantes e uma central, totalizando 150g de areia de cada local. A metodologia consistiu na retirada da areia com o auxílio de uma pequena pá, raspando-se superficialmente o solo; acondicionadas em sacos plásticos descartáveis de primeiro uso, identificados e encaminhadas ao laboratório de helmintoses da FAVET/UFRGS, em caixas térmicas. No laboratório, elas foram conservadas em geladeira a uma temperatura de 4°C até o processamento. Para a identificação dos ovos/cistos/oocistos os métodos parasitológicos foram: Willis-Mollay, sedimentação espontânea e centrifugo-flutuação com solução de sulfato de zinco a 33%. Para cada método, foram confeccionadas duas lâminas coradas com "lugol" e analisadas em microscópio óptico com aumentos de 100x e 400x. Foram identificadas nas amostras de sete condomínios (70%) larvas de Ancylostoma spp. e esporos de fungos. O resultado para protozoários foi negativo em todos os condomínios.

Palvras-chave: Infecções parasitárias; areia; condomínio.

Detecção molecular de Adenovírus Humano em amostras de sedimento na Bacia Hidrográfica do Rio dos Sinos, RS.

<u>Nadine Bordin Andriguetti</u>¹, Rodrigo Staggemeier¹, Tatiana Moraes da Silva Heck¹, Rute Gabriele Fischoeder Ritzel¹, Fabiano Costa de Oliveira¹, Fernando Rosado Spilki¹, Sabrina Esteves de Matos Almeida¹

nadineba@live.com

1 - Universidade Feevale, Laboratório de Microbiologia Molecular, RS 239, nº 2755. Novo Hamburgo/RS. CEP: 93352-000.

Resumo

A contaminação de corpos hídricos por vírus entéricos é cada vez mais evidente e a disseminação das partículas virais é uma das principais causas de enfermidades na população. Os vírus possuem a capacidade de se aderir ao sedimento, podendo percolar através do solo pelo fenômeno de adsorção-dessorção até atingir águas subterrâneas ou retornar a coluna d'água contaminando desta maneira o recurso hídrico local. Entre os vírus causadores de gastroenterite, o Adenovírus Humano (HAdV) é um vírus não envelopado que é eliminado pelas fezes humanas podendo permanecer viáveis por longos períodos no ambiente. O presente estudo visou à detecção molecular e viabilidade de HAdV em amostras de sedimento coletados em 17 pontos em quatro arroios da Bacia Hidrográfica do Rio dos Sinos, RS. As coletas foram realizadas bimestralmente no período de setembro de 2012 a julho de 2014. Os arroios analisados estão localizados nas cidades de Campo Bom (Arroio Schmidt), Novo Hamburgo (Arroios Luiz Rau e Pampa), Estância Velha e Portão (Arroio Estância Velha/Portão), no Vale do Rio dos Sinos, RS. A metodologia utilizada para detecção de HAdV foi a reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR) e para demonstração da infecciosidade viral utilizou-se a cultura de células integrada a qPCR (ICC-qPCR). Das 204 amostras de sedimento, foram obtidas por mês: setembro/12 53% (9/17), novembro/12 71% (12/17), janeiro/13 65% (11/17), março/13 29% (5/17), maio/13 59% (10/17), julho/13 47% (8/17), setembro/13 82% (14/17), novembro/13 76% (13/17), janeiro/14 82% (14/17), março/14 82% (14/17), maio/14 47% (8/17) e julho/14 47% (8/17), totalizando no final dos doze meses 62% (126/204) de amostras positivas para HAdV. No estudo de viabilidade, os resultados confirmaram HAdV viável em 40 amostras das 126 amostras positivas. A presença de vírus viável nas amostras analisadas demonstra a importância da utilização do sedimento no monitoramento ambiental, além do risco de saúde pública.

Palavras-chave: Adenovírus Humano; qPCR; Sedimento; Infecciosidade.

Projeto financiado: CAPES, CNPg, FAPERGS, Universidade Feevale.

Análise do resistoma de cepas de *Escherichia coli* provenientes de água superficial da Lagoa dos Patos- RS

Natália Canal¹, Marina da Rosa Bastos¹, Gertrudes Corção¹

nataliacanal08@gmail.com

1 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Laboratório de Micologia, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.

Resumo

O resistoma ambiental representa um grande reservatório de genes de resistência aos antimicrobianos que podem ser transferidos para patógenos, levando a uma maior dificuldade no tratamento das infecções. Esse trabalho teve como objetivo analisar o resistoma presente em cepas de E. coli resistentes a antimicrobianos provenientes de amostras de água da Lagoa dos Patos. Em um estudo prévio, em algumas cepas foram encontrados genes que conferem resistência a sulfametoxazol-trimetropim e espectinomicina na região variável de integron de classe 1, indicando a presença de outros mecanismos de resistência a antimicrobianos. Nesse trabalho foram utilizadas 51 cepas de E. coli. A detecção de superexpressão de bomba de efluxo para ampicilina (AMP) e tetraciclina (TET) foi realizada através da comparação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) na ausência e presença do carbonil-mclorofenilidrazona (CCCP). Para análise da alteração/ perda de expressão de proteínas de membrana externa (OMPs) as cepas foram cultivadas na ausência e presença de TET. A análise da expressão dos genes-alvos acrA, tolC, marA e marB e genes de referência GAPDH e rpoS foi realizada por PCR em Tempo Real. Nenhuma cepa apresentou fenótipo de superexpressão de bomba de efluxo para AMP, mas 31 cepas apresentaram esse fenótipo para TET, dessa maneira os demais experimentos foram realizados somente com TET. Em 28 cepas o perfil de OMPs manteve-se inalterado durante o crescimento na presença e ausência de TET através de SDS-PAGE. Duas cepas na presenca de TET apresentaram aumento na produção em duas proteínas e uma cepa na presença de TET observou-se a perda da expressão de uma proteína. Das 25 cepas analisadas para expressão dos genes, 12 cepas não apresentaram nenhuma alteração na expressão dos genes analisados, 9 cepas apresentaram superexpressão para todos os genes e as demais cepas apresentaram alteração na expressão para dois ou mais genes. Pode-se concluir que diferentes mecanismos de resistência a antimicrobianos estão presentes nas cepas ambientais de E. coli, além disso, bombas de efluxo e alteração/perda de expressão de OMPs, que estão relacionados principalmente com a manutenção da homesostase celular podem contribuir para a resistência a antimicrobianos no ambiente aquático.

Palavras-chave: resistoma; E. coli; bomba de efluxo; OMPs.

Projeto financiado: CAPES.

Avaliação da presença dos genes alk B, catA e catB em bactérias durante crescimento em meio nutriente e mínimo com 1% de borra oleosa petroquímica

Patricia Dörr de Quadros¹; Juciana Cazzaroli¹; Vanessa Cerqueira²; Fátima Menezes Bento¹

patiquadros11@yahoo.com.br

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Departamento de Microbiologia.LAB-BIO Laboratório de Biodeterioração de Combustíveis e Biocombustíveis. Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170

Resumo

A borra oleosa é um resíduo petroquímico classificado segundo a NBR 10004 (2004) como Perigoso/Classe I em função de suas características de inflamabilidade, corrosividade, reatividade, toxicidade e patogenicidade. Este resíduo forma uma emulsão composta por óleo, agua e sólidos grosseiros, sendo rica em metais pesados. Sua composição é extremamente variável, dificultando o seu reaproveitamento e lhe conferindo recalcitrância. Dentre as estratégias de maneio deste resíduo industrial, destaca-se o processo de bioaumentação, uma técnica que utiliza micro-organismos degradadores para acelerar a biodegradação nas áreas de disposição de borra (land-farming). A seleção prévia de bactérias com potencial degradador da borra oleosa, vem sendo estudada e avaliada em escala laboratorial e piloto. Neste trabalho avaliou-se o potencial de degradação de borra oleosa em 5 bactérias, inoculadas em meios nutriente e mínimo contendo 1% de borra oleosa oriunda do polo petroquímico de Triunfo, RS. Uma colônia de cada isolado foi inoculada em meio LB e meio mineral mínimo estéril, com a adicão de 1% (v/v) de borra oleosa e incubados a 30°C a rotação de 80 rpm. Após 15 dias, na fase aquosa foram avaliados o pH, produção de surfactantes e a viabilidade microbiana. O DNA dos isolados bacterianos foi extraído por lise mecânica (agitação com bolinhas de vidro) e térmica (55°C por 1h), e purificado com isopropanol-etanol. Para testar a presença de genes de degradação de hidrocarbonetos, fragmentos dos genes alkB, (alcano hidroxilase), catA e catB (catecol dioxigenase 1,2 e 1,3) foram amplificados no DNA genômico das bactérias. O pH do meio de cultura ficou entre 6 e 7 durante os 15 dias do experimento e as culturas reduziram a tensão superficial dos meios de cultura. Foi detectada a presença dos genes testados nas cincos bactérias, indicando que estas estirpes possuem potencial de biodegradação de hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos. Verificou-se que as bactérias cresceram e utilizaram a borra oleosa como única fonte de carbono, demonstrando a capacidade de sobrevivência e viabilidade para uso em biorremediação de solos contaminados com este resíduo.

Palavras-chave: biodegradação, solos contaminados, bactérias degradadoras

Projeto financiado: Edital Universal de 2013/CNPq, CAPES, FAPERGS; Recursos do LAB-BIO-UFRGS.

² Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Engenharias, Pelotas/RS.

Perfil bioquímico preliminar de bactérias presentes em um banhado da APA Fazenda Guajuviras no município de Canoas, RS.

<u>Priscila Ribeiro Jankoski¹</u>, Mateus Camboim de Oliveira¹, Francisco Fernando de Castilho Koller¹ (orient.)

priscilajankoski@gmail.com

1 – Centro Universitário La Salle – Unilasalle, Av. Victor Barreto 2288 – Canoas, RS;

Resumo

As áreas úmidas compreendem vários ecossistemas, dentre eles os banhados, que são locais estratégicos para conservação, devido à sua alta diversidade biológica e produtividade que resultam das relações estabelecidas entre a água, solo, vegetação e fauna. Nesses ecossistemas há intensa produção de biomassa, gerando grande quantidade de matéria orgânica, o que proporciona uma riqueza de microrganismos. A APA Fazenda Guajuviras abrange 558ha e nela são observadas áreas alagadiças com espécies típicas de banhados, servindo de importante refúgio para diversos animais. O objetivo desse estudo foi tracar o perfil bioquímico preliminar de bactérias em um banhado da APA Guaiuviras, a partir do cultivo em diferentes meios de cultura seletivos e diferenciais. Para tanto, foram realizadas coletas de água em quatro quadrantes de um banhado presente na área, no mês de março de 2015. As amostras, devidamente identificadas, foram conduzidas sob refrigeração até o laboratório de microbiologia do Unilasalle, onde foram imediatamente processadas. Para obtenção dos isolados foi utilizado o meio não-seletivo BHI, de onde foram escolhidos aleatoriamente 15 isolados. Estes foram submetidos a provas bioquímicas a partir de cultivo nos meios seletivos e diferenciais. Como resultado preliminar das inoculações com os diferentes quadrantes do banhado, os testes indicaram a presença de nove perfis distintos. Os resultados, mostrando a diversidade microbiológica, apontam a necessidade de pesquisas que busquem contribuir para o conhecimento da composição microbiana presente nos banhados, como forma de colaborar para o melhor entendimento da dinâmica desses ambientes e sua influência para a manutenção desses hábitats.

Palavras-chave: Banhados. Biomassa. Bactérias. Provas Bioquímicas.

Atividade antimicrobiana em cultivos de *Bacillus* spp. utilizando farinheta de trigo como substrato

<u>Priscilla Magro Reque</u>¹, Júlia Antônia Orlandini Werner¹, Cristian Maurício Barreto¹, Ana Paula Folmer Corrêa¹, Adriano Brandelli¹

priscilla.reque@ufrgs.br

1 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA), Laboratório de Bioquímica e Microbiologia Aplicada, Campus do Vale, Av. Bento Gonçalves 9500, Porto Alegre - RS, Brasil.

Resumo

O trigo corresponde a segunda maior cultura de cereais no mundo, sendo superado apenas pelo milho. No Brasil, o Estado do Paraná é o maior produtor do grão, seguido pelo Rio Grande do Sul. Os grãos de trigo são amplamente consumidos, especialmente na forma de farinha, sendo seus subprodutos normalmente utilizados para alimentação animal. O objetivo deste trabalho foi testar a atividade antimicrobiana de cultivos de diferentes isolados de Bacillus spp. (B. spp. P7, B. spp. P45, B. amyloliquefaciens 13, B. subtilis FTC01 e B. subtilis ATCC19659), utilizando um subproduto da produção de farinha de trigo, a farinheta, como substrato. Para isso, frascos contendo 5 g de farinheta e 100 mL de tampão fosfato-salino pH 7.4 foram autoclavados e, posteriormente, inoculados com 1 mL de inóculo de cada bactéria na concentração de 108 CFU/mL de solução salina 0.85% NaCl ou 1 mL desta como controle. Após, foram colocados em incubadora orbital a 37 ºC sob agitação por 72h, sendo retiradas alíquotas de 10 mL a cada 24 h. As alíquotas foram filtradas a 0,22 µm e congeladas. As amostras foram posteriormente liofilizadas e ressuspendidas em tampão. Foram preparadas diluições com concentrações de 50, 100, 150 e 200 mg/mL e realizado teste de atividade antimicrobiana contra Listeria monocytogenes, segundo metodologia descrita por Motta e Brandelli (2002), em duplicata. Foram aplicadas gotas de 20 µL de cada diluição em placas de ágar BHI inoculadas com L. monocytogenes, que foram incubadas em estufa a 37 °C por 20h. Somente o cultivo de 72h com B. amyloliquefaciens 13 inibiu o crescimento de L. monocytogenes, com concentração inibitória mínima de 100 mg/mL e tamanho de halo 14,5 mm (± 0,24). Estudos adicionais estão sendo realizados com a finalidade de caracterizar os cultivos e o composto bioativo relacionado com a atividade inibitória contra L. monocytogenes.

Palavras-chave: subprodutos do trigo; fermentação; *Bacillus* sp.; atividade antimicrobiana.

Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da casca de Anadenthera falcata

<u>Rafael Pereira da Silva de Souza</u>¹, Maicon Matos Leitão¹, Carine Cavalcanti Faria de Lima¹, Natiele Amanda Vasques dos Santos Silva¹, Luis Fernando Benitez Macorini¹

rafaetorrada@hotmail.com

1 - UNIGRAN – Centro Universitário da Grande Dourados, Faculdade de Ciências da Saúde, laboratório de Microbiologia, Rua Balbina de Matos, 2121. Jd. Universitário. Dourados/MS. CEP 79.824-900.

Resumo

A busca por princípios ativos de plantas medicinais com propriedades antibióticas tem aumentado, pois constituem uma importante fonte de novos fármacos que, podem ser utilizados para combater microrganismos. Dentre estas plantas destaca-se a Anadenthera Falcata, conhecida como Angico do Cerrado. O objetivo deste trabalho foi avaliar o controle microbiológico por meio do teste de difusão em agar, investigação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) do extrato hidroalcoólico de Anadenthera Falcata, frente cepas de Escherichia coli (ATCC 8739), Streptococcus pyogenes (ATCC 19615), Staphylococcus epidermidis (ATCC 12228), Salmonella typhimurium (ATCC 14028). A análise de difusão em ágar foi realizada utilizando placas de Agar Mueller Hinton, semeadas com as cepas padronizadas em salina na escala 0,5 MacFarland, acrescidas de 100µl do extrato na concentração de 50mg/ml em poços de 6mm de diâmetro, utilizando tetraciclina e cetoconazol como controles positivos. A concentração inibitória mínima foi realizada utilizando microplaca de 96 poços, adicionando 100µL de caldo Mueller Hinton e 100µL do extrato realizando a microdiluição. Após a diluição, adicionou-se 10µL das cepas padronizadas na mesma escala diluídas 1:10 também em salina, gerando volume final de 100µL do caldo acrescido de diferentes concentrações de extrato, resultando no inóculo final de aproximadamente 1x108 UFC/mL, posteriormente levadas à estufa a 37°C por 24h. As CIM foram determinadas em espectrofotômetro a 520 nm. O extrato de Anadenthera Falcata apresentou atividade antimicrobiana frente as cepas, Escherichia coli halo negativo, CIM e CBM 1,562 mg/dl, Streptococcus pyogenes halo de 18 mm, CIM < 0,195 mg/dl e CBM 0,781 mg/dl, Staphylococcus epidermidis halo 14 mm, CIM 0,781 mg/dl e CBM 1,562 mg/dl, Salmonella typhimurium halo negativo, CIM e CBM > 6,25 mg/dl. Conclui-se que o extrato hidroalcoólico da casca de Anadenthera Falcata possui atividade antimicrobiana, e novos testes podem ser realizados afim de elucidar seus mecanismos.

Palavras-chaves: Atividade antimicrobiana; Angico; CIM; CBM.

Projeto financiado: UNIGRAN.

Isolamento e caracterização de um novo vírus gigante de amebas: Golden Marseillevirus-like

Raíssa Nunes dos Santos¹, Fabrício Souza Campos¹, Nathalia Albuquerque Rammé¹, Lucia Cano Ortiz¹, Thalita Souza Arantes², Felipe Lopes Assis², Jônatas Abrahão², Paulo Michel Roehe¹, Ana Cláudia Franco¹

- 1 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Laboratório de Virologia 315, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.
- 2 Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Microbiologia, Laboratório de Vírus, Avenida Presidente Antônio Carlos, 6627, CEP 31.270-901, Belo Horizonte/MG.

Em 2003, os virus gigantes foram pela primeira vez descritos com a descoberta do Acanthamoeba polyphaga mimivirus. Em 2007, o Acanthamoeba polyphaga marseillevirus (APMaV) foi isolado de amostras de água coletadas em uma torre de resfriamento em Paris. Estes vírus estão sendo encontrados em diversas amostras aquáticas, coletadas em fontes, caixas d'água e torres de resfriamento. São vírus associados a protistas e fazem parte do grupo de vírus de DNA grande núcleocitoplasmático. O objetivo deste estudo foi investigar a presença de vírus gigantes em mexilhões coletados no Lago Guaíba, Porto Alegre, Brazil. Mexilhões-dourado (Limnoperna fortunei) foram coletados e preparados como descrito a seguir. Quarenta espécimes foram divididos em grupos de 5 (separados em água interna e corpo, totalizando 16 grupos), homogeneizados com tampão fosfato e centrifugados para coletar o sobrenadante. Amebas da espécie Acanthamoeba polyphaga foram cultivadas em meio PYG em placas de 24 pocos, e os sobrenadantes foram inoculados sobre os cultivos. A placa inoculada foi incubada a 30°C e examinada diariamente (até 3 dias) para identificação do efeito citopático (ECP). Quando o ECP foi evidente, o sobrenadante foi coletado, clarificado e ultracentrifugado em gradiente de sacarose 25%. Uma amostra com evidência clara de ECP, foi submetida a extração de DNA e ao sequenciamento do genoma completo em sequenciador de nova geração (Illumina MiSeg). O genoma do vírus foi nomeado Golden marseillevirus-like e consiste em uma molécula de DNA dupla fita com aproximadamente 360 mil pb e conteúdo de GC de 43%. As análises preliminares mostram identidade com proteínas de outros membros da família Marseilleviridae, indicando que este novo vírus descrito faz parte desta família. Este é o primeiro estudo que isolou e caracterizou um marseillevirus a partir de amostras de mexilhões dourados, indicando que estes vírus são amplamente distribuídos em amostras ambientais.

Palavras-chave: marseillevirus, mexilhão-dourado, vírus gigantes, Marseilleviridae.

Suporte financeiro: CAPES, FINEP, CNPq, FAPERGS.

Adenovírus Humano Entérico em amostras de águas de arroios no trecho inferior da Bacia Hidrográfica do Rio dos Sinos

Rodrigo Staggemeier¹, Tatiana Moraes da Silva Heck¹, Fabiano Costa de Oliveira¹ Nadine Bordin Andriguetti¹,Rute Gabriele Fischoeder Ritzel¹, Fernando Rosado Spilki¹ Sabrina Esteves de Matos Almeida¹

rstaggemeier@gmail.com

1 - Universidade Feevale, Instituto de Ciências da Saúde, Laboratório de Microbiologia, Câmpus II ERS -239, 2755, Novo Hamburgo, RS, CEP 93525-075.

Resumo

O Rio dos Sinos é considerado um dos rios mais poluídos do Brasil, muito em decorrência do lançamento de esgotos sem um pré-tratamento ou um tratamento adequado em suas águas. Os quatro arroios alvos deste trabalho correm por uma região altamente urbanizada onde é liberado grande parte do esgoto urbano e têm sua foz no Rio dos Sinos. Os AdV humanos entéricos (AdV-40 e AdV-41) são excretados em densidades elevadas nas fezes humanas, a presença viral nos recursos hídricos é principalmente em decorrência desse lançamentos de esgotos sem um tratamento adequado. Em geral, a gastrenterite associada ao AdV ocorre em crianças menores de 4 anos, caracterizando-se como uma doenca branda com diarreia e vômito, sendo os AdV 40 e 41 importantes agentes etiológicos da gastrenterite. O objetivo do presente trabalho foi detectar esses AdV entéricos em águas superficiais de arroios provenientes de áreas urbanas da Bacia Hidrográfica do Rio dos Sinos. Foram coletadas amostras de água superficial em 17 pontos diferentes em quatro arroios: Estância Velha/Portão (municípios de Estância Velha e Portão), o Schmidt (Campo Bom), o Pampa e o Luiz Rau (Novo Hamburgo). Foram realizadas seis coletas bimestrais (setembro/2013 a julho/2014) totalizando 102 amostras. As amostras foram concentradas por método de adsorção/eluição, após foi realizada a extração de DNA viral, seguido da reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR), utilizando o primer VTB1 HAdVF que é usado para detecção de AdV-40 e AdV-41. Ao longo dessas 6 coletas 31,37% (32/102) foram positivas para AdV entéricos, sendo 12 positivas no arroio Luiz Rau, 10 no Estância Velha/Portão, 5 no Pampa e 5 no Schmidt. Os resultados sugerem significativa contaminação fecal antrópica dos corpos hídricos da região, além do risco de saúde pública pela presença de agentes virias causadores de gastrenterites.

Palavras-chave: Adenovírus Entérico; Águas; Arroios; Contaminação Fecal.

Projeto financiado: CAPES, CNPg, FAPERGS, Universidade Feevale.

ANÁLISE DE ADENOVÍRUS HUMANO E ANIMAL EM ÁGUAS DAS LAGOAS DA BACIA HIDROGRÁFICA DO RIO TRAMANDAÍ, RS

<u>Rute Gabriele Fischoeder Ritzel</u>¹, Cacinele Mariana da Rocha², Eloísa Bianchi¹, Fabiano Costa de Oliveira¹, Larissa Schemes Heinzelmann¹, Nadine Bordin Andriguetti¹, Rodrigo Staggemeier¹, Tatiana Moraes da Silva Heck¹, Fernando Rosado Spilki¹, Sabrina Esteves de Matos Almeida¹.

¹Universidade Feevale; Instituto de Ciências da Saúde; Laboratório de Microbiologia Molecular; ERS-239, 2755. Novo Hamburgo, RS. CEP 93525-075.

²Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Centro de Estudos Costeiros Limnologicos e Marinhos. Avenida Tramandaí, 976. Imbé, RS. CEP 95625000.

rutegabriele@gmail.com

Os vírus entéricos estão presentes nos recursos hídricos, geralmente em esgotos que não são adequadamente tratados. São denominados os grupos de vírus presentes no trato gastrointestinal humano e animal que, após transmissão por via fecal-oral, podem causar infecções ou enfermidades em organismos imunodeprimidos. Dentre os vírus entéricos, os adenovírus possuem o genoma de DNA, não envelopados, são resistentes no meio ambienteo que favorece a transmissão direta, por rota zoonótica ou transmissão por algum objeto. Os adenovírus de origem animal possuem capacidade de infectar uma variedade de espécies de animais, os tipos virais analisados são adenovírus suíno (PoAdV), adenovírus bovino (BAV), adenovírus aviários (AvAdV) e adenovírus canino (CAV). Na legislação brasileira não é realizado o monitoramento de vírus em pontos de captação de água para consumo. Estes microrganismos são considerados bons indicadores biológicos de qualidade ambiental. O presente estudo tem objetivo de avaliar a contaminação ambiental de origem fecal por Adenovírus humano (HAdV) e animal em amostras de água da Bacia hidrográfica do Rio Tramandaí. Foram coletadas 40 amostras no período de dezembro/2013 e março/2014 provenientes de 10 pontos diferentes em 10 lagoas da Bacia do rio Tramandaí. O método utilizado para concentração de água foi por adsorção/ eluição com membrana negativa, após foi feita a extração do DNA viral das amostras, a detecção viral é obtida por reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR). Das 40 amostras de água, 65% (26/40) foram positivas para HAdV, 27,5%(11/40) para CAV, 5% (2/40)para BAV, 5% para AvAdV (2/40) e 15% para PoAdV(6/40). Em geral, 52,5% (21/40) das amostras foram positivas para analise de adenovírus animal. Desta forma, observou-se significativa contaminação nas lagoas analisadas apresentando um impacto humano importante na Bacia Hidrográfica do Rio Tramandaí.

Palavras- chave: adenovírus animal, adenovírus humano, lagoas, vírus entéricos.

Projeto Financiado: CAPES, CNPq, FAPERGS; Universidade Feevale.

Avaliação parasitológica de excretas de pombos refugiados nas edificações da Faculdade de Veterinária da UFRGS

Sandra Márcia Tietz Marques¹, André Souza¹, Muriel Rodrigues¹, Luiza Peters¹

smtmuni@hotmail.com

1 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Laboratório de Helmintoses, Av. Bento Gonçalves, 9090. Porto Alegre/RS. CEP: 91540-000.

Resumo

A população de pombos nas cidades é um problema ambiental e de saúde pública. Como dificilmente são caçados por outros animais, sua população cresce muito rápido. Mais de 60 doenças são associadas aos pombos e seus excrementos. O objetivo desta investigação foi diagnosticar a presenca de protozoários em excretas de pombos alojados na Faculdade de Veterinária da UFRGS. Vinte e dois prédios foram vistoriados em 2015, além das áreas cercadas dos potreiros como comedouros e bebedouros. As excretas foram recolhidas de oito prédios. A metodologia consistiu em recolher as excretas com o auxílio de uma espátula e encaminhar ao laboratório de helmintoses para serem processadas em até 24 horas. O diagnóstico parasitológico se baseou em três técnicas: Willis-Mollay, Lutz e Ziehl-Neelsen modificado. O resultado foi negativo para a técnica de ZN modificado. Foram diagnosticados oocistos de Eimeria spp. em duas técnicas, nas fezes presentes no prédio três (laboratório de helmintoses e bacteriologia), no prédio sete (Leitecia) e nas cercas divisórias dos potreiros dos equinos. As amostras positivas corresponderam aos locais com maior concentração de pombos. Esses resultados demonstram a necessidade de alertar a comunidade, principalmente os trabalhadores que tem contato com as superfícies contaminadas, como os tratadores dos animais, o pessoal da limpeza e da jardinagem. A transferência de contaminantes pode começar em qualquer local e se espalhar e por isso é tão importante manter todos os prédios livres de pombos. Excrementos de pássaros encontrados em qualquer lugar devem ser consideradas resíduos perigosos.

Palavras-chave: pombos, diagnóstico parasitológico, Eimeria spp.

PRESENÇA DE ADENOVÍRUS NA AVALIAÇÃO AMBIENTAL EM AMOSTRAS DE ÁGUA E SEDIMENTO DO RIO PARANHANA-RS.

<u>Tatiana Moraes da Silva Heck</u>¹, Rodrigo Staggemeier¹, Rute Gabriele Fischoeder Ritzel², Nadine Bordin Andriguetti², Fabiano Costa de Oliveira², Larissa Ferreira de Jesus¹, Fágner Henrique Heldt¹, Juliana Schons Gularte¹, Iuri Dias Manfro², Meriane Demoliner², Mayra Cristina Soliman², Luana Ruskowski², Carlos Augusto do Nascimento¹, Fernando Rosado Spilki¹, Sabrina Esteves de Matos Almeida¹.

tatianaheck@terra.com.br

- 1 Universidade Feevale, Instituto de Ciências da Saúde, Programa de Pós Graduação em Qualidade Ambiental, Laboratório de Microbiologia Molecular, Estrada RS 239, 2755. Novo Hamburgo/RS. CEP: 93352-000.
- 2 Universidade Feevale, Instituto de Ciências da Saúde, Laboratório de Microbiologia Molecular, Estrada RS 239, 2755. Novo Hamburgo/RS. CEP: 93352-000.

Resumo

O Rio Paranhana situa-se no Estado do Rio Grande do Sul (RS) e é o principal afluente do Rio dos Sinos, o qual fornece água para o abastecimento público da região. Os Adenovírus (AdV) são vírus entéricos e bons indicadores de contaminação fecal. Excretados em grandes quantidades nas fezes de humanos e animais, estão presentes em diferentes espécies de mamíferos. Resistem por longos períodos no trato gastrointestinal e no ambiente e estão nas descargas de esgoto e dejetos de animas, podendo depositar-se no solo ou na água. Através do fenômeno adsorçãodessorção, os AdV são capazes de penetrar no solo/sedimento e migrar por estas matrizes podendo atingir águas subterrâneas, prejudicando o curso hídrico e afetando a qualidade ambiental. O objetivo foi avaliar a contaminação ambiental através da detecção de AdV Humano (HAdV), AdV Bovino (BAV), AdV Canino (CAV), AdV Suíno (PoAdV) e AdV Aviário (AvAdV) em amostras de água e sedimento ao longo do Rio Paranhana. Foram analisadas 16 amostras de cada matriz (água e sedimento) em maio/2015. Para a análise foi realizada a eluição do sedimento e a concentração das águas, seguido pela extração do DNA viral de ambas as amostras, a detecção molecular foi por meio da reação em cadeia da polimerase quatitativa (qPCR). Das 16 amostras analisadas de sedimentos, foram detectadas 50% (8/16) de positividade para HAdV. 12.5% (2/16) para AvAdV. 43.75% (7/16) para CAV. 6.25% (1/16) para PoAdV e 18,75% (3/16) para BAV. Em relação a água, obtivemos um resultado de 50% (8/16) de amostras positivas para HAdV, 37,5% (6/16) para AvAdV e CAV, 6,25% (1/16) para PoAdV e 12,5% (2/16) para BAV. Os resultados demonstram significativa contaminação fecal humana e animal na região, afetando a qualidade do ambiente, podendo atingir o fornecimento de água e a saúde do homem.

Palavras-chave: Qualidade Ambiental; Rio Paranhana; Bioindicadores; Adenovírus.

Projeto financiado: CAPES, CNPq, FAPERGS, Universidade Feevale.

Isolamento e identificação de *Acanthamoeba* spp. a partir de amostras de solo da Isla Rey Jorge - Antártida.

<u>Vinicius José Maschio</u>¹, Keli Cristiane Carvalho Barroso¹, Paris Leornado Lavin Sepulveda², Marilise Brittes Rott¹

vinimaschio@yahoo.com.br

1 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Laboratório de Parasitologia, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.

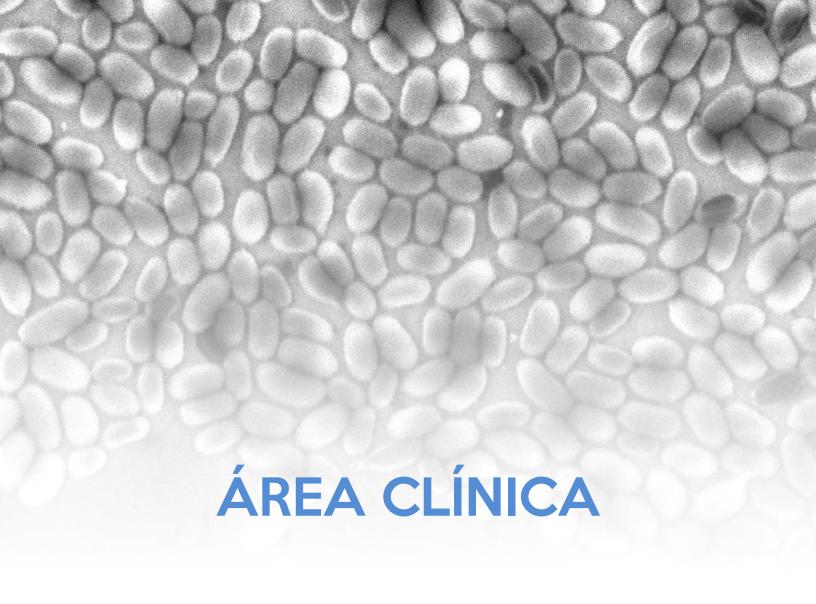
2 – Instituto Antártico Chileno.

RESUMO

Amebas de vida livre do gênero Acanthamoeba são protozoários anfizóicos e ubiquitários já isolados de diversos ambientes tais como solo, água, ambiente hospitalar, dutos de ar condicionado, entre outros. Além de um organismo causador de encefalite amebiana granulomatosa e ceratite amebiana, Acanthamoeba se destaca pela capacidade de veicular outros microrganismos. Considerado o Cavalo de Tróia do mundo microbiano, esta ameba atua como hospedeiro natural e vetor de diversas bactérias patogênicas, tais como Pseudomonas aeruginosa, Mycobacterium avium, Legionella pneumophila e outros patógenos considerados emergentes. Devido a esta característica, o presente trabalho tem como objetivo isolar e caracterizar amebas do gênero Acanthamoeba a partir de amostra de solo Antártico e identificar a presença de bactérias resistentes a amebas nos isolados amebianos. Um total de 24 amostras de solo foram analisadas. As amostras passaram pelo processo de filtração através de membranas de nitroclelulose com poros de 3,0 µm. As membranas foram semeadas em placas com ágar não-nutriente 1,5% coberto por uma suspensão de Escherichia coli inativadas pelo calor e incubadas a 30°C. Um total de 11 amostras foram positivas para amebas de vida livre, que após clonagem celular foram axenizadas. A técnica da PCR, utilizando oligonucleotídeos gênero-específicos que amplificam a região ASA.S1 do gene 18S rDNA será utilizada para a confirmação do gênero Acanthamoeba. Ensaios fisiológicos de termotolerância e osmotolerância também serão utilizados para avaliar a patogenicidade dos isolados. Testes moleculares serão utilizados para identificar possíveis bactérias resistentes a amebas nos isolados amebianos. Os resultados preliminares apontam a presença de amebas de vida livre no solo da Antártida, sendo que a busca por bactérias internalizadas nas amebas poderá fornecer resultados com grande relevância clínica e ambiental.

Palavras-chave: Acanthamoeba; Antártida; isolamento; bactérias.

Projeto financiado: CAPES.



Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) isolados a partir de origens clínicas diversas, em hospitais de Porto Alegre, RS, Brasil.

<u>Adriana Medianeira Rossato¹</u>, Gustavo Sambrano¹, Keli Cristine Reiter¹, Renata Soares¹, Thiago Galvão Paim¹, Pedro Alves D'azevedo¹.

¹ Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFSPA). Rua Sarmento Leite, 245; Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil; CEP 90050-170. E- mail: adrimfarma@yahoo.com.br

Staphylococcus aureus são patógenos oportunistas, presentes na microbiota da pele e de outros sítios anatômicos, frequentemente associados a Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS). O aumento das infecções estafilocócicas aliada ao uso irracional de antimicrobianos, acarretou no aparecimento de S. aureus capaz de produzir mecanismos de resistência frente a várias classes de antimicrobianos, que torna difícil o tratamento e agrava o processo infeccioso. Este trabalho teve como objetivos determinar o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos de S. aureus e relacionar com o espécime clínico. O perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos foi realizado pelo método de disco-difusão em ágar, conforme recomendações do CLSI, 2015. Neste estudo foram analisadas 167 MRSA isolados de diversos sítios clínicos. O perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos demonstrou baixos índices de resistência a teicoplanina 1 (0,6%), seguida da tetraciclina 34 (20,3%), sulfametoxazol-trimetoprima 47 (28,1%) e rifampicina 52 (31,1%). O maior índice de resistência foi observado para eritromicina 134 (80,2%), clindamicina 107 (64,1 %) e levofloxacino 103 (62%). Níveis intermediários de resistência foram verificados para levofloxacino 16 (9,6%) e teicoplanina 5 (3%). A resistência induzível à clindamicina foi constatada em 11 (6,6%) dos isolados de MRSA. Cento e nove (65,3%) dos MRSA apresentaram resistência a múltiplas drogas (MDR). Ao relacionar o perfil de resistência do MRSA com o espécime clínico, os isolados de sangue 40 (24%), aspirado traqueal 37 (22,1%) e escarro 25 (15%) apresentaram maiores índices de resistência. O tratamento de infecções causadas por S. aureus tem se tornado um grande desafio para a clínica médica, pois além de se tratar de um micro-organismo com grande potencial de virulência, as opções de antimicrobianos têm sido reduzidas a partir do surgimento das resistências. Diante disso, conhecer o perfil de susceptibilidade do MRSA aos antimicrobianos é necessário para entender e controlar a disseminação desses microorganismos multirresistentes.

Palavras-Chave: *Staplylococcus aureus* resistente à meticilina; Antimicrobianos; Multirresistência; Tratamento.

Financiamento: CNPq.

Análise comparativa de diferentes protocolos de processamento histológico de *Aedes aegypti*

Alessandra Bittencourt de Lemos¹, Onilda Santos da Silva¹

aleblemos2@gmail.com

1 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Laboratório de Parasitologia, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.

Resumo

Aedes aegypti é uma espécie mosquito de grande importância para a saúde pública, devido a sua competência vetorial para os vírus da dengue e chikungunya. Possui hábitos diurnos, sendo perfeitamente adaptado às zonas urbanas. Sendo antropofílico, mantém com facilidade o ciclo de transmissão dos patógenos a humanos. Por este motivo muitas pesquisas são realizadas buscando formas de controlar as populações deste vetor nos centros urbanos. Muitos destes estudos dependem de análises histológicas da espécie após tratamento com produtos químicos ou biológicos. Sendo assim, comparamos dois métodos de processamento: um utilizando parafina e outro historesina, objetivando sua posterior utilização nas avaliações histopatológicas decorrentes das intoxicações ou infecções. Para tanto, larvas de Aedes aegypti foram desidratadas com uma série progressiva de álcool (70% por 10', 95% por 15', 100% por 20' e 100% por 30'). Apenas para o uso da parafina as larvas passaram por dois banhos de xilol, de 30' e 60'. Na historesina, a inclusão foi realizada com uma série gradual de resina nas proporções 2:1, 1:1, 1:2 e pura. Na parafina, foram três séries de 30', 60' e 60' cada. O emblocamento para ambas as técnicas seguiu protocolo padrão, assim como a microtomia e a coloração, que foi realizada com HE. Como resultado, observou-se que a técnica de historesina garante um aproveitamento superior de material, onde os blocos são mais firmes e parecem não se perder após o corte. Além disso, não há necessidade de refrigeração durante a microtomia como acontece com a parafina, o que facilita todo o processamento. Apesar do custo da historesina ser superior, sua manipulação não exige contato com produtos químicos tóxicos como o xilol, nem exige o uso de materiais quentes durante o processamento. A qualidade das imagens também se mostrou superior, provavelmente pela facilidade de manipulação no momento do processamento e emblocamento.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*; histologia; historesina; parafina; HE.

VALIDAÇÃO DE MÉTODO MICROBIOLÓGICO PARA DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DE COMPOSTOS ANTIMICROBIANOS

Andressa Veiga¹; Luciane Rossa¹; Alan Guilherme Gonçalves²; Fabio Seigi Murakami¹

dessa.v@gmail.com

¹ Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Laboratório de Controle de Qualidade II. Av. Pref. Lothário Meissner, 632 - Jardim Botânico

CEP: 80210-170. Curitiba/PR

² Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Laboratório de Controle de Qualidade I. Av. Pref. Lothário Meissner, 632 -Jardim Botânico

CEP: 80210-170. Curitiba/PR

Resumo

A resistência microbiana é um processo de evolução natural dos microrganismos que, vem sendo acelerado em decorrência da utilização generalizada e abusiva de compostos antimicrobianos. Em virtude desse aumento e devido à dificuldade de aquisição de novos compostos antimicrobianos é necessário o desenvolvimento e otimização de métodos de triagem utilizados na identificação de compostos com potencial atividade antimicrobiana. A microdiluição é um método muito utilizado para determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) de compostos antimicrobianos e apesar de ser um método descrito pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ainda não há padronização no que diz respeito à utilização de "reveladores" dentre os quais destacam-se os sais de tetrazólio como o cloreto de 2,3,5 trifeniltetrazólio (TTC). Há também divergências quanto ao método de leitura dos resultados, que podem ser realizados visualmente ou com auxílio de aparelhos (espectrofotômetro). Diante do exposto justifica-se o desenvolvimento e validação de um método microbiológico quantitativo para determinar a CIM de compostos antimicrobianos utilizando TTC como revelador e leituras espectrofotométricas. Foram contruídas curvas de crescimento para Escherichia coli ATCC 8739, Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027, Staphylococcus aureus ATCC 6538 e Candida albicans ATCC 10231 por meio de macro e microdiluição utilizando cloranfenicol e cetoconazol para inibição do crescimento de bactérias e e leveduras respectivamente. Foram realizados testes de toxicidade do TTC frente aos microrganismos permitindo a escolha da concentração de TTC em 0,125 % (p/v). A quantificação dos microrganismos foi realizada por contagem padrão em placas através do método "pour plate". E após varredura em espectrofotômetro padronizou-se a leitura em 540 nm. A Validação foi realizada com base nos parâmetros exigidos pela Farmacopeia Americana (USP 32) para validação de métodos microbiológicos alternativos. A partir dos resultados, observou-se linearidade satisfatória (R2 > 0,95) para os quatro microrganismos e o método demonstrou ser robusto, preciso, exato e específico.

Palavras-chave: validação; microdiluição; CIM; espectrofotômetro; TTC.

Financiador (es): CAPES

Regulação transcricional do mecanismo de resposta SOS em Escherichia coli

<u>Artur Teixeira de Araujo Junior¹</u>; Danyela de Cássia Oliveira¹; Solange Ferreira da Silveira Silveira¹; Daniel da Rosa Farias¹; Railson Schreinert dos Santos¹; Camila Fernanda de Oliveira Junkes², Antonio Costa de Oliveira¹

arturtaj@hotmail.com

- 1 Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Centro de Genômica e Fitomelhoramento, Campus Universitário, Capão do Leão/RS Brasil CEP: 96160-000.
- 2 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Laboratório de Fisiologia Vegetal, Departamento de Botânica/Centro de Biotecnologia, UFRGS, Caixa Postal 110, Porto Alegre/RS CEP: 90040-060.

Resumo

Os genes relacionados à resposta SOS estão envolvidos principalmente no reparo e na mutagênese do DNA, sendo importantes por promoverem o surgimento de resistência a determinadas condições como, por exemplo, antibióticos. Os fatores de transcrição (FTs) possuem a capacidade de regular a expressão de determinados genes, bloqueando ou permitindo o acesso da RNA polimerase na região promotora. Desta forma, o seguinte trabalho tem o objetivo de fazer uma análise in silico da regulação transcricional dos genes SOS em Escherichia coli K-12. Para isso, foram analisadas as regiões promotoras destes genes através do RegulonDB. Posteriormente, foi realizada uma análise de expressão transcricional por meio do uso do software Genevestigator. Temos que 70% dos genes de resposta SOS possuem uma quantidade de um a dois sítios de ligação para FTs, sendo encontrados dez tipos diferentes de sítios, no qual, 63,76% pertencem ao FT LexA e 11,59% ao ArcA-Phosphorylated, ambos já retratados como reguladores de resposta desse mecanismo. Percebe-se que 89,85% destes sítios estão na região proximal, encontrados a até 200 pb do início da transcrição. Estes FTs comumente participam da regulação negativa (84,05%) destes genes, ou seja, inibindo a transcrição. Dos artigos publicados abordando esse tema temos que 78,66% utilizaram técnicas de análise de expressão gênica, ligação de proteínas purificadas e análise de similaridade com sequências de dados humanos. Os dados provenientes do Genevestigator demonstram que a expressão em condições normais desses genes é de nível constante e baixa, tendo uma maior expressão no desenvolvimento inicial. Quando analisamos as condições de estresse temos um maior potencial de expressão desses genes quando o microrganismo se encontra sob ação de norfloxacina. Tais resultados são de elevada importância para o combate à resistência e apresentam potencial de aplicação para outros microrganismos relacionados. A função destes genes no desenvolvimento inicial desta bactéria ainda merece maiores estudos.

Palavras-chave: antibiótico; desenvolvimento inicial; resistência; norfloxacina.

Perfil de Suscetibilidade de Candida spp. a Antifúngicos Azólicos

<u>Bruna Pippi</u>¹, Paula Reginatto¹, Vanessa Zafaneli Bergamo¹, Gabriella da Rosa Monte Machado¹, Fernanda Emili Klein Silva¹, Daiane Flores Dalla Lana¹, Letícia Jacobi Danielli¹, Alexandre Meneghello Fuentefria¹

brunapippi@yahoo.com.br

1 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Laboratório de Micologia, Avenida Ipiranga, 2752. Porto Alegre/RS. CEP: 90610-000.

Resumo

As taxas de mortalidade causadas por Candida sp. têm aumentado nas últimas décadas e a resistência aos anifúngicos é um desafio no tratamento dessas infecções, representando um problema de saúde pública. Os azóis são os antifúngicos mais utilizados na terapia e profilaxia destas infecções e resistência a esta classe tem sido frequentemente relatada. Este estudo objetiva avaliar o perfil de suscetibilidade das principais espécies de Candida de interesse clínico frente a antifúngicos azólicos. Para isso, foi determinada a concentração inibitória mínima (CIM) do fluconazol, itraconazol, cetoconazol e miconazol para 114 isolados de C. albicans, C. glabrata, C. krusei, C. parapsilosis e C. tropicalis. A CIM dos antifúngicos foi determinada pelo método de microdiluição em caldo de acordo com protocolo M27-A3 (CLSI 2008). Os critérios de definição de suscetibilidade ao fluconazol e itraconazol foram definidos conforme o documento M27-S4 (CLSI 2012); para miconazol e cetoconazol as CIM foram estabelecidas conforme estudos anteriores (Isham & Ghannoum, 2010; Bremenkamp et al., 2011). Entre os isolados testados, 24%, 47%, 11% e 16% eram resistentes ao fluconaozol, itraconazol, cetoconazol e miconazol, respectivamente. O itraconazol foi o azol com menor eficácia e, em geral, C tropicalis foi a espécie com maior resistência. Apesar de C. albicans ser a espécie mais estudada, várias outras espécies já são reconhecidas como agentes causadores de candidemia e candidíase. Os azóis, especialmente o fluconazol, são os medicamentos mais utilizados no tratamento de infecções causadas por estas espécies. No entanto, como pode ser observado neste estudo, juntamente com aumento do uso, há também aumento na resistência a esses compostos. Por fim, vale ressaltar que estudos como este são de fundamental importância para ajudar na escolha de um tratamento adequado dessas infecções, e devido ao elevado grau de resistência demonstrada aqui, sugere-se a revalidação de antifúngicos e a busca de novas estratégias farmacêuticas.

Palavras-chave: Candida, Antifúngico, azóis, resistência,

Projeto financiado: CAPES, CNPq

Atividade Antibiofilme de Polímeros do Ácido Polilático com Sais Imidazólicos frente a *Candida* sp.

<u>Clarissa Martins Leal Schrekker</u>¹, Balaji Sidram Selukar¹, Griselda Barrera Galland¹, Moshe Kol², Henri Stephan Schrekker¹, Alexandre Meneghello Fuentefria¹

clarissa.schrekker@ufrgs.br

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Química - Faculdade de Farmácia - Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Grupo Multidisciplinar em Química Médica e Microbiológica, Avenida Bento Gonçalves, 9500, Agronomia, Porto Alegre/RS, CEP: 91509-900.

O biofilme é uma complexa comunidade de micro-organismos, com uma estrutura tridimensional. O uso de dispositivos médicos como próteses, implantes e cateteres, aumentam o risco de formação de biofilmes por *Candida* sp. Portanto, é necessário o estudo de novos biomateriais com propriedades antibiofilmes. Neste contexto, os polímeros biodegradáveis de Ácido polilático (PLA) com Sais imidazólicos (SI) apresentam-se como candidatos promissores.

O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de biomateriais que possuam propriedades antibiofilme frente espécies patogênicas de *Candida*, para dispositivos médicos, preparando misturas de PLA com SI.

Foram preparados híbridos de polímeros PLA, combinados com os SI C_{16} MImCl e o C_{16} MImMeS, em diferentes teores (0,125%, 0,25% e 0,5% em massa), aplicando duas metodologias: (a) no estado fundido em Câmara de Misturas e (b) pelo processo de Casting de uma solução em clorofórmio. Os filmes de PLA foram testados para verificar a Atividade Antibiofilme em Macro-Experimento, e através do Ensaio de Menor Concentração Antibiofilme (MCA) em Micro-Experimento, frente a isolados de *Candida*. Nos ensaios Antibiofilme em Macro os filmes de PLA, com o C_{16} MImCl e C_{16} MImMeS, apresentaram Atividade Antibiofilme frente a diferentes isolados de *C. tropicalis* 72A, *C. parapsilosis RL11*, *C. parapsilosis RL20* e *C. albicans CA04*. Nos ensaios MCA em Micro os filmes de PLA, com o C_{16} MImCl e C_{16} MImMeS, foram testados frente a 12 isolados clínicos de *Candida tropicalis*, sendo possível verificar que a melhor porcentagem de impedimento da formação do biofilme foi com os filmes PLA 0,5% C_{16} MImCl e PLA 0,5% C_{16} MImMeS.

Desta forma, estes filmes de PLA com os sais imidazólicos apresentam grande potencial para serem utilizados como biomateriais em dispositivos médicos.

Palavras-Chave: Ácido Polilático, Sais Imidazólicos, *Candida*, Biofilme, Biomateriais.

Projeto Financiado: CAPES e CNPq.

² Tel Aviv University, School of Chemistry, Tel Aviv 69978, Israel.

Suscetibilidade *in vitro* de isolados clínicos de *Sporotrix brasiliensis* ao extrato hidroalcoólico de própolis marrom

<u>Cristina Mendes Peter¹</u>, Stefanie Bressan Waller², Luiza da Gama Osório², Tony Picoli², Mirele da Silva Bragato¹, Renata Osório de Faria², Mário Carlos Araújo Meirelles², João Luíz Zani¹.

cristina_peter@hotmail.com

1-Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Veterinária, Laboratório de Bacteriologia e Saúde Populacional, Campus Universitário Capão do Leão s/nº, Pelotas/RS. CEP: 96010-900. 2 - Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Veterinária, Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Micologia Veterinária, Campus Universitário Capão do Leão s/nº, Pelotas/RS. CEP: 96010-900.

2- Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Veterinária, Departamento de Veterinária Preventiva, Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Micologia Veterinária, Campus Universitário Capão do Leão, s/ nº. Pelotas/RS. CEP: 96010-900.

Resumo

A esporotricose é uma micose zoonótica de ocorrência mundial, cuja espécie Sporothrix brasiliensis é considerada a de maior virulência e prevalência no Brasil. O fármaco de eleição para o tratamento de esporotricose humana e animal é o itraconazol, no entanto, existem isolados resistentes. Como alternativa, estão os estudos com propriedades terapêuticas de produtos naturais, como a própolis. Neste contexto, objetivou-se avaliar a atividade anti-S. brasiliensis in vitro do extrato hidroalcoólico de própolis marrom, e analisar seu perfil cromatográfico. A própolis utilizada é oriunda do Município de Pelotas, RS. O extrato foi adquirido de forma comercial, e sua análise química realizada por Cromatografia Liquida de Alta Eficiência. Dez isolados clínicos de S. brasiliensis da região de Pelotas foram utilizados. O teste de sensibilidade foi realizado pela técnica de microdiluição em caldo (CLSI M38-A2), adaptado para produtos naturais. A própolis foi testado entre 0,78 a 0,024 mg/mL, e o itraconazol entre 16 a 0, 0313 µg/mL. Os resultados foram expressos em concentração inibitória mínima (CIM) e concentração fungicida mínima (CFM). Para análises dos resultados, utilizou-se análise de variância e comparação entre médias pelo teste de Tukey com significância de (p<0,05). Todos os isolados de S. brasiliensis foram sensíveis à própolis marrom (100% - 10/10), demonstrando atividade fungistática nas seis concentrações testadas (p<0,001), embora não tenha demonstrado ação fungicida significativa. De acordo com o CLSI, valores de CIM ≥ 4 µg/mL para o itraconazol, podem ser considerados resistentes. Neste critério, nenhum isolado apresentou sensibilidade ao antifúngico comercial (0% - 0/10) (p<0,001). Entre os compostos identificados, destacaram-se ácido cafeico, ácido p-cumárico e ácido trans-ferúlico, que são descritos como antimicrobianos. A atividade inibitória da própolis marrom estimula maiores estudos como alternativa natural no tratamento da esporotricose.

Palavras-chave: esporotricose; resistência antifúngica; alternativa terapêutica; própolis; composição química;

Prevalência de infecção por *Eimeria* spp. em ovinos e caprinos de pequenas propriedades do Rio Grande do Sul

<u>Daniela da Silva Maria</u>¹, Taís Bock Nogueira¹, Sandra Márcia Tietz Marques¹, Mary Jane Tweedie de Mattos¹

daniela.silva.maria@gmail.com

1 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária, Laboratório de Helmintoses, Av. Bento Gonçalves, 9090 . Porto Alegre/RS. CEP: 91540-000

Resumo

A eimeriose é uma doença intestinal causada pelo protozoário do gênero Eimeria spp., que atinge, principalmente, as vilosidades intestinais, afetando o desenvolvimento dos animais e causando diarreia, levando a perdas econômicas na caprino e ovinocultura. O objetivo deste trabalho foi verificar a prevalência de infecção por Eimeria spp. em pequenos ruminantes através de amostras recebidas no Laboratório de Helmintoses da Faculdade de Veterinária/UFRGS, no período de 2012 a 2014. Foram analisadas 659 amostras fecais, sendo 611 de ovinos e 48 de caprinos, de ambos os sexos e idades variadas, originários das regiões Metropolitana, Serrana, da Campanha, Litoral Norte e Vale do Taquari. Utilizou-se o método da contagem de oocistos nas fezes (Oopg). A prevalência de amostras positivas para Eimeiria spp. foi de 25,5% (168/659); em ovinos foi de 23,7% (145/611) e em caprinos foi de 47,9% (23/48). Em 2012, a positividade foi de 24,9% (47/189), sendo 34 de ovinos e 13 de caprinos; em 2013 foi 27,9% (62/222), 55 de ovinos e 7 de caprinos; em 2014 foi 23,8% (59/248), 53 de ovinos e 3 de caprinos. Os proprietários foram orientados quanto às medicações, manejo alimentar, higiênico e sanitário, para que possam aplicar as medidas corretas de controle e prevenção.

Palavras-chave: eimeriose; caprinos; ovinos; prevalência; Oopg.

PREVALÊNCIA DE SÍFILIS E TOXOPLASMOSE EM PRÉ – NATAL DE GESTANTES EM UMA UNIDADE DE SAÚDE NO INTERIOR DO RS.

<u>Danielly Joani Bullé</u>¹, Scheila Soares de Oliveira¹, Thamires Klein de Souza¹, Claiton Edinei do Santos², Jane Dagmar Pollo Renner³

Daniellybulle@unisc.br .

Scheila01@hotmail.com

Thamires.klein@ufrgs.br,

clairton03@hotmail.com

janerenner@unisc.br

- 1- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Laboratório de Parasitologia, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.
- 2- Universidade de Santa Cruz do Sul-UNISC, Curso de Ciências Biológicas.
- 3-Universidade de Santa Cruz do Sul-UNISC, Mestrado em promoção da Saúde

Resumo

Doenças infecciosas como a sífilis e a toxoplasmose, provocam alterações na saúde feminina. No caso de gravidez, é necessário haver uma atenção especial as gestantes, pois essas infecções são transmitidas para feto via placenta, ocasionando infecções congênitas de gravidade variável dependendo da idade fetal, determinadas sequelas são irreversíveis e/ou doencas crônicas graves, podendo ser causa de morte fetal ou perinatal. Visando a prevenção e minimização dos problemas decorridos destas patologias, torna-se indispensável a realização dos exames solicitados durante o prénatal, entre os quais o teste rápido de triagem para sífilis e/ou VDRL/RPR; e detecção de anticorpos da classe IgG e IgM para toxoplasmose. O objetivo da pesquisa foi verificar a prevalência da soropositividade da gestante no acompanhamento do prénatal em um grupo de uma unidade de saúde no interior do RS. Foi realizado um estudo descritivo-analítico transversal e retrospectivo, onde foram verificados os resultados do VDRL (Sífilis), IgG e IgM para toxoplasmose do soro das gestantes. Foram analisadas 50 gestantes no total, das quais é possível perceber que apenas 84% (42 gestantes) realizaram o Pré-Natal, 15 gestantes apresentaram IgG reagente, enquanto (64,3%) 27 gestantes apresentaram IgG não reagente, o IgM foi reagente em (9,5%) 4 gestantes, e (90,5%) 38 gestantes o IgM foi não reagente. O VDRL foi reagente em (7,1%), (92,9%) apresentaram VDRL não reagente. Foi possível estimar a prevalência de soropositividade para sífilis e toxoplasmose nestas gestantes, mostrando que para uma real efetivação do sucesso no combate à óbitos maternos e infantis, há a necessidade de o pré-natal ser levado a sério pelas futuras mamães, além de ter incentivo de políticas públicas para que tais mulheres tenham conhecimento do quanto o mesmo é indispensável.

Palavras Chaves: Pré-natal; infecções; prevenção; saúde.

Perfil dos usuários de lentes de contato do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e de clínicas particulares e sua relação com casos de ceratite por *Acanthamoeba* spp.

<u>Denise Leal dos Santos</u>¹, Sergio Kwitko², Diane Ruschel Marinho², Bruno Schneider de Araújo², Claudete Inês Locatelli², Marilise Brittes Rott

delealsantos@yahoo.com.br

- 1 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Laboratório de Parasitologia, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.
- 2 Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Serviço de Oftalmologia, Rua Ramiro Barcelos, 2.350. Largo Eduardo Z. Faraco. Porto Alegre/RS. CEP: 90035-903.

Resumo

Amebas do gênero *Acanthamoeba* são amplamente distribuídas na natureza, tendo sido isoladas do solo, ar e água. São protistas de vida livre, mas podem ser consideradas como patógenos/oportunistas, pois podem causar doenças tanto em indivíduos sadios como em imunodeprimidos. Esta ameba pode produzir infecções oculares (ceratites) em geral em usuários de lentes de contato gelatinosas ou rígidas. Sabe-se que adequada manutenção e higiene das lentes são essenciais para evitar infecções oculares. Com a expansão mundial do mercado de lentes de contato, tem-se observado maior incidência de casos de ceratite por *Acanthamoeba* spp. entre seus usuários.

Existem muitos relatos de casos entre usuários de lentes de contato descritos principalmente no Reino Unido e Estados Unidos. No Brasil estas informações são escassas. Assim, um levantamento relacionando o perfil de usuários de lentes de contato com casos de ceratite por Acanthamoeba spp. tem sido realizado no HCPA e em clínicas particulares, através da aplicação de um questionário e estudo retrospectivo de casos de pacientes que já desenvolveram a doença. O questionário, constituído de 20 questões, abrangendo o tipo de lentes, soluções multipropósito usadas, manuseio e limpeza, até o presente momento foi aplicado a 47 usuários de lentes de contato (35 do sexo feminino e 12 do sexo masculino) de três clínicas particulares sendo 37 usuários de lentes de contato gelatinosas, 9 de lentes rígidas e 1 não soube responder que lente usa. Destes, 14 acusaram ter conhecimento de uma ameba causadora de ceratite, enquanto 33 nunca tinham ouvido falar. Em relação à higienização das lentes: 40 usuários usavam somente solução multipropósito e 7 mesclavam o uso desta solução com água da torneira, sabão líquido e soro fisiológico. O levantamento de casos de ceratite tem sido feito através de dados coletados dos prontuários dos pacientes do HCPA e de uma clínica particular tendo como resultados parciais 22 casos de ceratite por Acanthamoeba spp. diagnosticados, sendo 20 (11 do sexo feminino e 9 do sexo masculino) de uma clínica particular e 2 pacientes do HCPA (do sexo feminino). Podemos citar como dados relevantes o fato de 12 pacientes de uma clínica particular e 2 pacientes do HCPA terem realizado transplante de córnea, 13 eram usuários de lentes gelatinosas e 9 de lentes rígidas; 8 tiveram como 1º diagnóstico herpes, 1 febre do feno , 1 toxicidade medicamentosa e 6 não obtivemos informações. Estes dados estão sendo analisados, computados e tratados estatisticamente.

Palavras-chave: Acanthamoeba; lentes de contato; ceratite

Variabilidade genética do gene da VP3 do girovírus aviário tipo 2

<u>Fernando Finoketti¹</u>, Helton Fernandes dos Santos^{1,2}, Fabrício Souza Campos¹, Paulo Michel Roehe^{1,2}, Ana Cláudia Franco¹.

fernando finoketti@yahoo.com.br

- 1 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Laboratório de Virologia, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.
- 2 Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Laboratório de Micologia, Estrada Municipal do Conde, 6000. Eldorado do Sul/RS. CEP: 92990-000.

Resumo

O vírus da anemia infeciosa das galinhas (CAV) e o girovírus aviário tipo 2 (AGV-2) são ambos membros da família Circoviridae, gênero Gyrovirus. Uma das proteínas codificadas pelo CAV, a Apoptina (ou VP3), induz, in vitro, apoptose seletiva em células tumorais. In vivo a infecção pelo CAV tem como característica a atrofia tímica, causada por extensa lise de timócitos. A VP3 do AGV-2 apresenta 32,2% de identidade com a Apoptina e não se conhece ainda se há relação entre variação gênica da VP3 em AGV-2 e gravidade da doença clínica. Assim, o objetivo desse estudo foi sequenciar variantes de VP3 do AGV-2 em diferentes espécies de aves e correlacionar o padrão molecular da VP3 com o estado de saúde dos animais. O DNA do bulbo das penas de 9 animais saudáveis e 6 animais com perda de peso e anemia foi extraído e submetido à reação em cadeia da polimerase (PCR). Todo o gene da VP3 foi amplificado e sequenciado (produto de 523pb) e foi realizado o alinhamento das sequencias de nucleotídeos e de aminoácidos das diferentes amostras. A análise filogenética dos genes da VP3 resultou na formação de 3 clusters, nomeados N1, SM e T conforme classificação prévia. A diferença de aminoácidos entre esses grupos variou entre 8,9 e 12,0%. Amostras similares ao grupo N1 foram originadas de aves doentes, enquanto que as similares ao grupo T foram originadas de animais saudáveis. Adicionalmente, das amostras analisadas, apenas duas não se agruparam com nenhum dos três clusters. Esse estudo mostrou a existência da variação genética no gene da VP3 do AGV-2 de diferentes amostras de aves saudáveis e doentes. Para confirmar a correlação existente entre o genótipo da VP3 e o estado de clínico das aves mais amostras serão analisadas.

Palavras-chave: AGV-2; apoptina; variabilidade genética; VP3.

Projeto financiado: CAPES; CNPq; FINEP.

Reversão da resistência antifúngica por nanopartículas contendo fluconazol frente a leveduras resistentes de *Candida* spp.

<u>Gabriella da Rosa Monte Machado</u>¹, Bruna Pippi¹, Vanessa Zafaneli Bergamo¹, Mariana Domingues Bianchin³, Daiane Dalla Lana², Liliane Wanderley¹, Irene Clemes Kulkamp Guerreiro², Alexandre Meneghello Fuentefria^{1,2}

gabbirosam@gmail.com

- 1- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Programa de Pós Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS.
- 2- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Av. Ipiranga nº 2752, Bairro Santa Cecília. Porto Alegre/RS.
- 3- Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Programa de Pós Graduação em Farmacologia e Terapêutica, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS.

Resumo

Infecções fúngicas provocadas por leveduras de Candida spp. têm aumentado consideravelmente nos últimos anos e representam uma preocupação crescente no âmbito da saúde mundialmente. O uso indiscriminado de antifúngicos como o fluconazol (FLZ) e o aumento do número de pacientes imunocomprometidos corroborou para o desenvolvimento de isolados resistentes a este fármaco. Formulações farmacêuticas mais eficazes podem ser desenvolvidas através de nanotecnologia. Dessa forma, a incorporação do FLZ em um sistema de liberação de fármacos, poderia potencializar seu efeito frente a isolados resistentes de Candida spp. As suspensões de nanocápsulas de núcleo lipídico contendo FLZ (LNC_F) e sem adição de FLZ (LNC_B) foram preparadas pelo método de deposição interfacial de polímero pré-formado (Fessi et al., 1989). A determinação possível Concentração Inibitória Mínima (CIM) das nanocápsulas seguiu o proposto pelo documento M27-A3 (CLSI, 2008). O possível dano ocasionado pelas nanocápsulas na integridade das células de leveduras foi avaliado através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (Moraes et al., 2015). Como resultado, LNC_F demonstrou ser capaz de reverter à resistência antifúngica dos isolados testados, reduzindo seus valores de CIM. Dentre os sete isolados testados, três apresentaram superexpressão das bombas de efluxo em suas células. A superexpressão dessas bombas foi inibida pelo fármaco Verapamil e estaria relacionada com o mecanismo de resistência destas leveduras ao FLZ. Com a análise microscópica do isolado de Candida tropicalis (CT 57A), foi possível verificar a presença de rachaduras na parede celular desta levedura e aumento de cicatrizes de brotamento, afetando o crescimento celular e a integridade da célula.

Palavras-chave: Candida spp., nanopartículas, resistência antifúngica, fluconazol

Órgão financiador: CNPq

PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS DE BACILOS GRAM-POSITIVOS ISOLADOS DE AMOSTRAS DE PELES ALÓGENAS

<u>Karine Lena Meneghetti</u> ¹, Letícia Muner Otton ¹, Micaela do Canto Canabarro ¹, Luana Pretto ², Aline Francielle Damo Souza ², Mercedes Passos Geimba ¹, Gertrudes Corção ¹

karine meneghetti@hotmail.com

- ¹ UFRGS Universidade Federal do Rio Grande do Sul / Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, (Sarmento Leite 500, 90050-170, Porto Alegre-RS, Brasil)
- ² Banco de Tecidos Pele Dr. Roberto Corrêa Chem do complexo hospitalar Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre

Resumo: Pele alógena humana é eficientemente utilizada no tratamento de lesões severas de pele, sendo indicada para a cobertura temporária de queimaduras ou feridas crônicas. Contudo, o descarte de pele alógena devido contaminação microbiana, mesmo após submetida ao tratamento antimicrobiano, ainda é um importante problema nos bancos de pele. Este trabalho teve como objetivo avaliar o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de bacilos Gram-positivos isolados de amostras de pele alógena humana já descartas por contaminação microbiana no Banco de Tecidos - Pele Dr. Roberto Corrêa Chem do complexo hospitalar Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, para posterior estudos de padronização de um tratamento antimicrobiano que elimine estes microrganismos. Através do método de disco-difusão em ágar Mueller Hinton os isolados foram analisados quanto ao seu perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos: penicilina, ciprofloxacina, vancomicina, tetraciclina, amicacina, gentamicina, estreptomicina e azitromicina. Os resultados foram interpretados com base nos halos de inibição de Staphylococcus sp. CLSI (2015) e EUCAST (2014) visto que não estão estabelecidos os pontos de corte por este método para bacilos Gram-positivos. Dos 117 isolados avaliados, 46 (39,3%) foram resistentes e 71 (60,7%) sensíveis à penicilina (CLSI); apenas 2 (1,7%) isolados foram intermediários à azitromicina (CLSI) e todos isolados foram sensíveis à ciprofloxacina, tetraciclina, amicacina, gentamicina (CLSI) e à estreptomicina (EUCAST); para vancomicina os halos de inibição variaram entre 16 a 44mm, porém a avaliação da susceptibilidade a este antimicrobiano terá que ser complementada por microdiluição por não haver ponto de corte estabelecido para este antimicrobiano pelo método de disco difusão. Apesar da maioria dos isolados apresentar sensibilidade aos antimicrobianos testados, a possível persistência dos mesmos na pele após tratamento antimicrobiano no banco de pele, pode ser devido a formação de esporos (observados na coloração de Gram). Os resultados do perfil de susceptibilidade serão confirmados pelo método de microdiluição em caldo.

Palavras-chave: pele alógena humana, banco de pele, contaminação pele alógena

Agência de fomento: CAPES

Avaliação dos resultados micológicos analisados no Laboratório de Biomedicina da Universidade Feevale – RS

<u>Kelly Concari Posser</u>¹, Amanda Becker¹, Graziele Pressi¹, Haede Wasem Bender¹, Raquel Verônica Mattje Jacobus¹, Rute Gabriele Fischoeder Ritzel¹, Suelen Marin Albino¹, Vlademir Vicente Cantarelli¹.

kellycposser@hotmail.com

¹ Universidade Feevale; Instituto de Ciências da Saúde; Laboratório de Biomedicina; ERS-239, 2755. Novo Hamburgo, RS. CEP 93525-075.

As micoses superficiais e cutâneas são causadas por espécies de dermatófitos e Candida sp oriundas da comunidade. As infecções fúngicas geralmente ocorrem por fungos filamentosos queratinofílicos, que utilizam como fonte de nutriente a queratina durante o processo infeccioso de pele, cabelos e unhas. Esses fungos são os dermatófitos, classificados em três gêneros: Trichophyton, Microsporum e Epidermophyton. A transmissão das dermatofitoses ocorre pelo contato direto com animais e humanos infectados ou indiretos por fômites contaminados. A Candida sp é uma levedura presente na microbiota normal da pele e representa o fungo oportunista mais comum. As espécies relacionadas com quadros patológicos são: C. albicans, C. glabrata, C. tropicalis, C. parapsilosis, C. krusei e C. dubliniensis. A gravidade dos sintomas pode variar dependendo do estado imunológico do indivíduo infectado. O objetivo do trabalho foi analisar a ocorrência de dermatófitos e Candida sp nas amostras de pacientes atendidos pelo setor de micologia do Laboratório de Biomedicina da Universidade Feevale no período de 2013 a 2014. A metodologia utilizada foi a de levantamento de dados das amostras analisadas, divididas em: amostras positivas para dermatófitos e para Candida sp. Constatou-se que das 26 amostras clínicas recebidas em 2013, 19,23% (5/26) foram positivas para dermatófitos, destas, 3 foram identificadas como Trichophyton rubrum, 1 amostra como Trichophyton interdigitalis e 1 amostra Trichophyton mentagrophytes. No ano de 2014, das 42 amostras analisadas, 19,04% (8/42) foram positivas para dermatófitos, deste modo, 3 foram identificadas como Trichophyton mentagrophytes, 1 amostra como Epidermophyton floccosum, 3 amostras como Trichophyton rubrum e 1 amostra Trichophyton interdigitalis. Para Candida sp foram positivas 2 amostras, sendo identificadas como C. krusei e C. parapsilosis. Assim, de um total de 68 amostras analisadas, constatou-se prevalência de 20,59% (14/68) de dermatóficos contra apenas 2,94% (2/68) de amostras positivas para Candida sp.

Palavras- chave: dermatofitoses, leveduras, fungos, queratinofílicos.

Projeto Financiado: Universidade Feevale.

Análise da presença de glicose sobre a capacidade de formação de biofilmes em isolados de *Pseudomonas* sp. de efluente hospitalar

Letícia Muner Otton¹, Marina Campos¹, Karine Lena Meneguetti¹, Gertrudes Corção¹

1 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Laboratório de Bacteriologia, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.

leticiaotton@hotmail.com

Resumo

Pseudomonas sp. é um patógeno oportunista de importância clínica que apresenta a formação de biofilmes como um importante fator de virulência e persistência a desinfecção e tratamento a antimicrobianos. Estudos com outros gêneros bacterianos demonstraram que a presença de glicose no meio pode favorecer a formação de biofilmes. Este estudo visou determinar se a presença de diferentes concentrações de glicose interfere na capacidade de formação de biofilmes em isolados do gênero Pseudomonas sp. O estudo compreendeu 45 cepas bacterianas de P. aeruginosa e 37 cepas pertencentes a outras espécies do gênero. Para o teste de capacidade de formação de biofilmes, suspensões bacterianas foram colocadas em placas de 96 poços na presença de diferentes concentrações de glicose (0, 1 e 2,5%) e incubadas por 24 horas seguidas de lavagem, fixação com metanol e coloração dos poços com cristal violeta. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (570 nm). Foi visto que as cepas de P. aeruginosa apresentaram uma habilidade maior em formar biofilmes, uma vez que 11% destes isolados não conseguiram formar biofilmes em alguma das concentrações de glicose, contra 36% dos isolados das demais espécies do gênero. Entretanto, não houve diferença significativa entre as concentrações de glicose para nenhum dos dois grupos. Desta maneira, pode-se concluir que existe uma habilidade maior das cepas de P. aeruginosa em estruturar biofilmes em relação as demais espécies deste gênero, mas a glicose não aumentou a eficiência da formação do biofilme.

Palavras-chave: Pseudomonas, biofilmes, glicose.

Apoio: FAPERGS-PROBIC; CAPES

Atividade antibacteriana de óleos essenciais de Rosmarinus officinalis L., Origanum vulgare e Eugenia uniflora L. frente à Staphylococcus aureus.

Marcelle Oliveira Garcia¹, Kamila da Cunha Furtado¹, Beatriz Bohns Pruski¹, Nájela Adriane Becker¹, Rosana Serpa², Gladis Aver Ribeiro¹, Daiane Drawanz Hartwig¹

marcelle garcia@hotmail.com

1 — Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Campus Capão do Leão, Pelotas/RS. CEP: 96010-900. 2 — Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Patologia e Medicina Legal, Cel. Nunes de Melo, 1315. Rodolfo Teófilo, Fortaleza/CE. CEP: 60441-750.

Resumo

Bactérias resistentes a antimicrobianos demonstram um desafio no tratamento de infecções, por isso há a necessidade de encontrar novas substâncias com propriedades antimicrobianas para serem utilizadas no combate a esses microorganismos. Diversos produtos naturais, como os óleos essenciais (OE), apresentam propriedades contra micro-organismos causadores de infecções. O OE de Rosmarinus officinalis L. (alecrim) (A), de Eugenia uniflora L. (pitanga) (B) e Origanum vulgare (orégano) (C) possuem propriedades antimicrobianas. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antibacteriana de OE extraídos de A, B e C contra Staphylococcus aureus ATCC 25904. A análise da capacidade antibacteriana dos óleos essenciais foram realizadas através da técnica de difusão em disco (DD), segundo a metodologia proposta por Kirby & Bauer (1968), no qual foram utilizados discos de Amicacina como controle positivo e discos embebidos em 10 µL de água destilada estéril como controle negativo. A partir do resultado da DD foi realizada a determinação da concentração inibitória mínima (CIM), seguindo as normas do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012 com modificações) e por último foi feita a determinação da concentração bactericida mínima (CBM), definida como a menor concentração do OE capaz de inibir 99,9% do inóculo bacteriano. Foi possível observar que na DD todas as cepas bacterianas apresentaram halos de inibição frente aos OE testados. No teste de CIM foi revelada ação antibacteriana do OE até a concentração de 0,39%, 0,19% e 1,56% para os OE A, B e C, respectivamente. Analisou-se na CBM que os OE testados apresentaram ação bactericida nas diluições 0,39% para o OE A e nos OE B e C apenas na concentração de 25%. Portanto, a partir desses resultados, conclui-se que o OE A foi mais eficaz e poderá contribuir na terapêutica de infecções devido a sua ação antibacteriana.

Palavras-chave: óleo essencial; *Staphylococcus aureus*; *Rosmarinus officinalis* L.; *Origanum* vulgare; Eugenia *uniflora* L.

Soroprevalência de anticorpos neutralizantes específicos para Enterovírus bovino em touros do Rio Grande do Sul, Brasil.

<u>Meriane Demoliner</u>¹, Ana Karolina Antunes Eisen¹, Mayra Soliman¹, Andréia Henzel¹, Fernando Rosado Spilki¹

merianedemoliner@gmail.com

1 - Universidade Feevale, Instituto de Ciências da Saúde, Laboratório de Microbiologia Molecular. ERS 239, 2755 - Vila Nova, Novo Hamburgo – RS. CEP: 93525-075

Resumo

O Enterovírus bovino (BEV), membro da família Picornaviridae, é um vírus não envelopado de RNA fita simples linear. Considerado ubíquo nos rebanhos bovinos, é transmitido principalmente através da rota fecal-oral e eliminado em altas concentrações através de fezes de animais infectados. Todavia, sua prevalência no Rio Grande do Sul é desconhecida. A infecção acontece geralmente de forma assintomática, entretanto pode ocorrer manifestações clínicas, como gastroenterites, doenças respiratórias e inclusive desordens de fertilidade. O objetivo deste estudo é relatar a soroprevalência de anticorpos neutralizantes específicos para BEV em touros de dezoito fazendas localizadas nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sudoeste do Rio Grande do Sul. Através da técnica de soroneutralização, foram analisadas 255 amostras de soro diluídas de forma serial (1:5 à 1:640) em microplacas de 96 orifícios com meio mínimo essencial de Eagle (E-MEM) e incubadas com 100 - 200 TCID₅₀/mL de uma amostra padrão de BEV-2. Após, uma suspensão de células de linhagem de rim bovino (CRIB) foi adicionada e as placas foram incubadas novamente a 37°C em atmosfera de 5% de CO2 por três dias. Das amostras analisadas, 99,2% (253/255) foram positivas para a presença de anticorpos anti-BEV. Os títulos mais baixos de anticorpos (<1:10) foram menos frequentes (4/253), 1:20 (11/253) e. os mais prevalentes na faixa de 1:160 (64/253) e ≥1:640 (61/253). Esses resultados demonstram que há uma ampla circulação do BEV nas propriedades estudadas, causando infecções assintomáticas ou não diagnosticadas clinicamente em bovinos.

Palavras-chave: Enterovírus Bovino; soroneutralização; anticorpos neutralizantes; soroprevalência

Projeto financiado: Feevale, CNPq, Fapergs e CAPES.

Perfil da administração de vancomicina em pacientes atendidos nos hospitais do Grupo Hospitalar Conceição – Porto Alegre

Roberto Matusiak¹, Tatiana Borba Spader², Roberto Minozzo¹, Antonio Batista do Amaral¹

mroberto@ghc.com.br

1 - Hospital Nossa Senhora da Conceição, Laboratório Central de Análises Clinicas.
Av. Francisco Trein, 596. Bairro Cristo Redentor. Porto Alegre – RS. CEP 91350-200.
2 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas. Rua Ramiro Barcelos, 2400 - 2º andar. Bairro Santana. Porto Alegre – RS. CEP 90035-003.

Resumo

A vancomicina é um antibiótico glicopeptídico mais amplamente administrado no combate de infecções graves por bactérias Gram positivas meticilina resistentes. A dosagem sérica deste medicamento se faz necessária, pois concentrações séricas inferiores estão relacionadas com resposta terapêutica menos efetiva e um aumento da predisposição bacteriana à resistência; já valores superiores estão associados a nefrotoxicidade e ototoxicidade.

A dosagem de vancomicina sérica foi realizada pelo método de Imunoensaio Enzimático. Os resultados das dosagens no vale foram divididos em grupos: dosagem sérica na faixa terapêutica (15 a 20 mcg/ml), níveis subterapêuticos (inferior a 15mcg/ml), níveis de superdosagem (21 a 40mcg/ml) e níveis tóxicos (superior a 40mg/ml). Os dados são referentes a todos os 5605 casos que constam no banco de dados no período de janeiro de 2014 a dezembro de 2014. Das 5605 amostras, 1636 dosagens (9,19%) encontravam-se em níveis subterapêuticos com média de 9,75 mcg/ml, 1265 dosagens (22,57%) encontravam-se em níveis terapêuticos com média de 18,24 mcg/ml, 2233 dosagens (39,84%) encontravam-se em níveis de superdosagem com média de 28,38 mcg/ml e 471 dosagens (8,40%) encontravam-se em níveis tóxicos com média de 52,33 mcg/ml. Pacientes pediátricos demonstraram um perfil de subdosagem em 65% das dosagens realizadas (396 pacientes), já pacientes pertencentes a UTI-HNSC demonstraram um perfil de superdosagem em 46,48% das dosagens realizadas (1792 pacientes). De modo a confirmar os dados pacientes pediátricos demonstraram um perfil de subdosagem predominante, com valores máximos em pacientes de 1 a 10 anos (65% das dosagens). Já em pacientes idosos (>60 anos), o perfil predominante foi de superdosagem (51,19%), e quando adicionado aos pacientes com dosagens a níveis tóxicos, totalizou mais de 60% dos resultados. Em nenhuma das análises realizadas, as dosagens em níveis terapêuticos apresentam-se em quantidade ideal.

Palavras-chave: bactérias Gram positivas meticilina resistentes; vancomicina; dosagem sérica; níveis terapêuticos; superdosagem.

A importância do *Bacillus cereus* em Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Município de PORTO ALEGRE

<u>Silvia Adriana Mayer Lentz</u>¹; Paula Marques Rivas²; Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso¹.

silvia_drica@hotmail.com

- 1-Universidade Federal do Rio Grande do Sul Faculdade de Veterinária Av. Bento Gonçalves, nº 9090, Porto Alegre RS CEP: 91540-000
- 2-Prefeitura Municipal de Porto Alegre Equipe de Vigilância de Alimentos Av. Padre Cacique, n° 372, Porto Alegre RS CEP: 90810-240

Resumo

As doenças transmitidas por alimentos têm elevada prevalência mundial. Em Porto Alegre, observa-se que *Bacillus cereus* vem sendo responsabilizado pela maioria dos surtos ocorridos na última década. Objetivou-se relatar o perfil desses surtos, com informações das fichas de registro da Equipe de Vigilância de Alimentos do município. Foram analisados 38 surtos entre 2003 e 2013. O grupo de doentes era composto, principalmente, por indivíduos entre 20 e 49 anos, os quais tiveram diarreia e cólica abdominal como sintomas predominantes. A maioria dos surtos foi associada à ingestão de alimentos que continham molhos ou cereais, que sofreram abuso de temperatura durante o preparo e armazenamento. A educação continuada para os manipuladores dos serviços de alimentação deve ser enfatizada para prevenção destas ocorrências.

Palavras-chave: Vigilância de alimentos, surtos, Bacillus cereus

Atividade antifúngica *in vitro* de itraconazóis comercial e manipulados frente a isolados clínicos de *Sporothrix brasiliensis*

<u>Stefanie Bressan Waller^{1,3}</u>, Isabel Martins Madrid², Angelita dos Reis Gomes^{1,3}, Tony Picoli¹, Renata Osório de Faria³, Mário Carlos Araújo Meireles³

waller.stefanie@yahoo.com.br

- 1 Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Campus Universitário Capão do Leão, s/ nº. Pelotas/RS. CEP: 96010-900.
- 2 Centro de Controle de Zoonoses, Secretaria Municipal de Saúde, Prefeitura Municipal de Pelotas. Rua Lobo da Costa, 1764, Centro. Pelotas/RS. CEP: 96010-150. 3 Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Veterinária, Departamento de Veterinária Preventiva, Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Micologia Veterinária, Campus Universitário Capão do Leão, s/ nº. Pelotas/RS. CEP: 96010-900.

Resumo

A esporotricose é uma zoonose causada por fungos do complexo Sporothrix schenckii, sendo Sporothrix brasiliensis a espécie mais prevalente no Brasil. A terapia da esporotricose tem no itraconazol o fármaco de eleição, disponível nas formas comercial industrializada e manipulado em estabelecimentos farmacêuticos. No entanto, não existem dados comparativos da eficácia de itraconazóis comercial e manipulados frente à Sporothrix brasiliensis. Foram testadas quatro cápsulas orais de itraconazol obtido de diferentes origens: uma comercial de uso veterinário (CV) a 25 mg, e três de farmácias de manipulação, sendo uma veterinária (MV) a 64 mg e duas humanas (MH₁ e MH₂) a 65 mg para ambas. Os antifúngicos foram testados de acordo com o documento M38-A2 do Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI), em concentrações entre 64 a 0.125 µg/ml contra Sporothrix brasiliensis (n: 28) isolado de humanos, cães e gatos com esporotricose. Os resultados foram expressos em concentração inibitória mínima (CIM) e concentração fungicida mínima (CFM) e analisados estatisticamente pelo teste de Tukey com *p*<0.05 (BioEstat®, versão 5.3). De acordo com o documento do CLSI para os critérios de sensibilidade e resistência do Sporothrix spp. aos antifúngicos, observou-se atividade fungistática em 82.1% (23/28) dos isolados para MH₁, 75% (21/28) para CV, 67.9% (19/28) para MH₂ e 60.7% (17/28) para MV, sendo que os demais isolados foram considerados resistentes aos produtos. Houve diferenca estatística somente entre os produtos manipulados MH_1 e MV (p<0.05), o qual este apresentou menor atividade em comparação à aquele. Todos itraconazóis foram fracos fungicidas, principalmente o CV (p<0.05). Sugere-se realização de testes in vitro com o itraconazol comercial e manipulado antes de iniciar o tratamento in vivo, a fim de certificar a eficácia do mesmo contra a esporotricose humana e animal.

Palavras-chave: esporotricose; tratamento; manipulação farmacêutica; resistência antifúngica.

Prevalência de infecção por Eimeria sp. em bovinos do Rio Grande do Sul

<u>Taís Bock Nogueira</u>, Daniela da Silva Maria, Mary Jane Tweedie de Mattos Gomes e Sandra Márcia Tietz Marques

tbn7@bol.com.br

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Laboratório de Helmintologia, Avenida Bento Gonçalves, 9090. Porto Alegre/RS. CEP: 91540-000.

Resumo

A eimeriose em bovinos causa perdas econômicas importantes, visto que provoca lesões na mucosa intestinal, levando à diminuição da absorção de nutrientes, diarreia e, como consequência, perda de peso e desidratação. O objetivo deste trabalho foi analisar amostras fecais de bovinos quanto à positividade para infecção pelo gênero Eimeria nos anos de 2012, 2013 e 2014. No laboratório de helmintoses da Faculdade de Veterinária da UFRGS foram analisadas amostras fecais de 304 bovinos do estado do Rio Grande do Sul, machos e fêmeas de diferentes idades, utilizando os métodos de Willis-Mollay e Gordon & Withlock. Das amostras processadas, 15,5% (47/304) foram positivas para infecção pelo gênero Eimeria. Em 2012, 1% (3/304) dos bovinos estavam poliparasitados por Eimeria sp. e por nematóides da superfamília Strongyloidea; em 2013, 1,3% (4/304) por Eimeria sp. e 3% (9/304) por Eimeria sp. e pela superfamília Strongyloidea, e, em 2014, 3,3% (10/304) por Eimeria sp., 5,3% (16/304) por Eimeria sp. e pela superfamília Strongyloidea, 1% (3/304) por Eimeria sp., superfamília Strongyloidea e Moniezia sp., 0,3% (1/304) por Eimeria sp., superfamília Strongyloidea, Strongylus sp. e Tenia sp. e 0,3% (1/304) por Eimeria sp., superfamília Strongyloidea e Trichuris sp. Não houve diferenças significativas entre as proporções de machos e fêmeas infectados e entre animais de diferentes idades. Conclui-se que devem ser adotadas práticas de manejo e higiene que possibilitem o controle da eimeriose, tal como a realização de exames para o diagnóstico precoce das infecções e adoção do tratamento adequado, melhorando a sanidade e produtividade do rebanho.

Palavras-chave: Eimeria; bovinos; diagnóstico laboratorial.

Atividade in vitro da Anfotericina B combinada com Ciclosporina A frente a isolados de Rhodotorula mucilaginosa

<u>Tatiana Borba Spader</u>¹, Roberto Matusiak², Flávio de Mattos Oliveira¹, Andreia Maciel Cardozo², Sydney Hartz Alves³, Luiz Carlos Severo¹

tatispader@gmail.com.br

- 1 Laboratório de Patologia e Micologia do Complexo Hospitalar Santa Casa de Porto Alegre. R. Sarmento Leite, 187. Centro. Porto Alegre RS. CEP 90050-170
- 2 Hospital Nossa Senhora da Conceição, Laboratório Central de Análises Clinicas. Av. Francisco Trein, 596. Bairro Cristo Redentor. Porto Alegre RS. CEP 91350-200.
- 3- LAPEMI, Departamento de Microbiologia Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria RS. CEP 97.105-900.

Resumo

O crescente número de paciente imunocomprometidos devido aos avanços médicos tem desafiado o diagnóstico e o tratamento de infecções oportunistas emergentes. As infecções por fungos oportunistas como *Rhodotorula mucilaginosa* são atualmente temidas devido ao insucesso da terapêutica antimicótica. Os sinergismos obtidos pela combinação de fármacos são importantes para a redução de efeitos tóxicos da Anfotericina B bem como acelerar a resposta ao tratamento, podendo, inclusive, reduzir a duração do mesmo. O presente trabalho objetiva avaliar a atividade da combinação antifúngica entre anfotericina B e ciclosporina A, buscando-se *in vitro* opções para futuros tratamentos *in vivo*.

Avaliou-se *in vitro* a atividade das associações [Anfotericina B + Ciclosporina A] frente a trinta isolados clínicos de *Rhodotorula mucilaginosa*. A interação farmacológica foi realizada a partir do teste de checkerboard utilizando o método de diluição em caldo (CLSI M38 - A) com posterior determinação do índice da concentração fracionária mínima (FICI). Na combinação anfotericina B – ciclosporina A, o efeito sinérgico foi observado em 2 isolados (6,67%) com FICI de 0,25 a 0,5. O efeito indiferente esteve presente em 25 isolados (83,33%) com FICI de 1,0 a 4,0. Todavia, o antagonismo foi observado em 3 isolados (10%). Em conclusão, os resultados indicaram que a combinação de anfotericina B e ciclosporina pode não ser efetiva em infecções causadas por *Rhodotorula mucilaginosa*.

Palavras-chave: Rhodotorula mucilaginosa; suscetibilidade; combinação de fármacos; anfotericina B

Interação entre *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) e *Acanthamoeba polyphaga* e suas implicações em ceratite microbiana

<u>Thamires Klein de Souza¹</u>, Scheila Soares de Oliveira¹, Danielly Joani Bullé¹, Lisianne Brittes Benitez², Marilise Brittes Rott¹

thamires.klein@ufrgs.br_scheila01@hotmail.com_daniellybulle@unisc.br_lisianne@unisc.br_marilise.rott@ufrgs.br

- 1 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Laboratório de Parasitologia, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.
- 2 Universidade de Santa Cruz do Sul, Departamento de Biologia e Farmácia, Laboratório de Microbiologia. Avenida Independência, 2293. Bairro Universitário. Santa Cruz do Sul/RS. CEP: 96815-900.

Resumo

Interações entre o gênero *Acanthamoeba* e bactérias podem resultar em um estado endossimbiótico ou levar à destruição de um dos associados ou ambos. Entretanto, foram relatadas interações de algumas bactérias patogênicas e espécies de *Acanthamoeba*, entre elas, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA). O presente estudo objetivou caracterizar as principais interações entre *Acanthamoeba polyphaga* e *Staphylococcus aureus* (MRSA), avaliando-se a alteração fenotípica em *Acanthamoeba* através dos métodos de termotolerância e osmotolerância.

Amebas de vida livre foram mantidas em meio PYG suplementado com antibióticos à temperatura de 30°C e os isolados de *Staphylococccus aureus* foram mantidos em Caldo BHI (Brain Heart Infusion). Para os testes de osmotolerância, amebas foram submetidas ao crescimento em placas com Ágar Page e placas com Ágar Page acrescido de 0,5 molar e 1,0 molar de manitol. Um volume de 5 μL, de uma diluição de 200 mil trofozoítos por mililitro foi inoculado no centro das placas e foram incubadas a 30°C por dez dias. Nos testes de termotolerância, amebas foram submetidas ao crescimento em placas com Ágar Page e incubadas a diferentes temperaturas: 30°C, 37°C e 42°C. Após estes procedimentos, foram contados os números de cistos e trofozoítos em cada uma das placas.

Acanthamoeba polyphaga apresentou crescimento nas temperaturas de 37°C e 30°C, bem como a 0,5 M e 1,0 M de manitol. Esta cepa não apresentou crescimento na temperatura de 42°C sendo considerada de baixo potencial patogênico. Os mesmos resultados foram obtidos quando a cepa de Acanthamoeba polyphaga foi submetida ao contato com o Staphylococcus aureus, apresentando crescimento nas temperaturas de 37°C e 30°C e nas diferentes concentrações osmolares (0,5 M e 1,0 M). Não foi observado crescimento na temperatura de 42°C, indicando que esta interação entre os microrganismos não promoveu alteração no potencial patogênico.

Palavras-chave: cocultivo; interação; osmotolerância; termotolerância.

Projeto financiado: CAPES

Avaliação da formulação de um enxaguante bucal contendo um sal imidazólico cloreto de 1-metil-3-hexadecilimidazol (C₁₆MImCl) com atividade antibiofilme contra os isolados de *Candida tropicalis*.

<u>Vanessa Zafaneli Bergamo</u>¹, Marina Cardoso Nemitz², Bruna Pippi¹, Gabriella da Rosa Monte Machado¹, Daiane Flores Dalla Lana¹, Ricardo Keitel Donato³, Helder Ferreira Teixeira², Alexandre Meneghello Fuentefria¹

bergamovanessa@hotmail.com

- 1 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmacia, Laboratório de Micologia, Avenida Ipiranga 2752. Porto Alegre/RS. CEP: 90610-000.
- 2 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Laboratório de Desenvolvimento Galênico, Avenida Ipiranga 2752. Porto Alegre/RS. CEP: 90610-000.
- 3- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Quimica, Laboratorio Tecnocat, Avenida Bento Gonçalves, 9500. Porto Alegre/RS. CEP: 91501970.

Resumo

A candidíase oral sob a forma de estomatite protética está associada com a aderência e a formação de biofilme por Candida sp. sobre a superfície de próteses dentarias Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a formulação de um enxaguante bucal contendo um sal imidazolico cloreto de 1-metil-3-hexadecilimidazol (C₁₆MImCl) com a possível atividade antibiofilme contra os isolados de Candida tropicalis (72A, 57A). A concentração determinada para este sal na formulação foi avaliada através do ensaio de microdiluição em caldo (CLSI M27- A3). Ambas as formulações possuem em sua composição 0,005% de C₁₆MImCl, 0,05% de sacarina sódica, 0,3% de essência de hortelã pimenta, e 0,05% de ácido lático em água qsp. A diferença entre as formulações produzidas é a presença de sorbato de potássio 0,05% na formulação 1 e a sua ausência na formulação 2. Para escolha da melhor formulação, foi realizada a avaliação da atividade antibiofilme em microplacas de 24 poços em comparação com as respectivas formulações placebos. Após, a atividade antibiofilme da formulação escolhida foi avaliada em comparação a atividade antibiofilme de uma formulação manipulada de cetilpiridínio (0,05%) e formulações comerciais LISTERINE® COOL MINT e COLGATE® PLAX FRESHMINT. A concentração determinada para os testes da atividade antibiofilme foi de 50 µg/ml e o dano da formulação 2 mostrou ser significativamente diferente (p<0.01) do dano do seu respectivo placebo para os isolados avaliados. Após tratamento com a formulação escolhida (sal imidazólico na ausência de sorbato de potássio) foi possível observar que a atividade frente aos isolados mostraram ser significativamente semelhante (p>0.01) à formulação de cetilpiridínio e às formulações comerciais. Desta forma, é possível sugerir que a formulação escolhida contendo 0.005% do sal possui alto potencial antibiofilme contra os isolados C. tropicalis, uma vez que possui resultados semelhantes a formulações contendo o ativo clássico cetilpiridínio, bem como a formulações comerciais.

Palavras-chave: antibiofilme; enxaguantes, sal imidazólico, *Candida tropicalis*; próteses dentarias.

Projeto financiado: CAPES.

Herpesvírus bovino tipo 6 em amostras de sangue total de bovinos no sul do brasil

Willian Pinto Paim¹, Fabrício Souza Campos¹, Ana Cláudia Franco¹, Paulo Michel Roehe¹

ppaimw@gmail.com

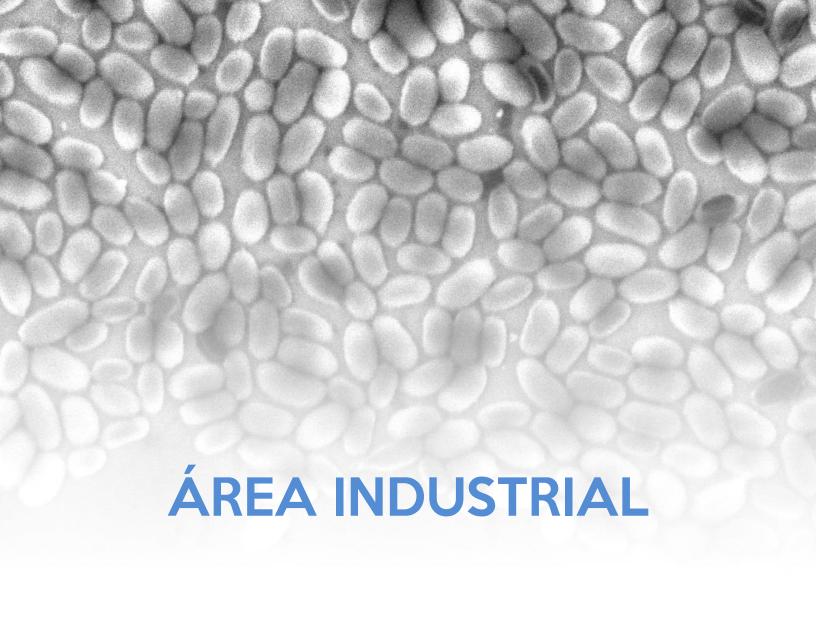
1 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia (DEMIP), Instituto de Ciências Básicas e da Saúde (ICBS), Rua Sarmento leite, 500. Porto Alegre/RS, Brasil. CEP: 90050-170.

Resumo

O herpesvírus bovino tipo 6 (BoHV-6), pertencente à família *Herpesviridae*, subfamília *Gammaherpesvirinae*, gênero *Macavirus*. O BoHV-6 é um vírus linfotrópico de bovinos, que induz infecções latentes em leucócitos. Seu papel como agente patogênico para bovinos ainda não foi determinado. O BoHV-6 já foi identificado nos EUA, Canadá e Europa; até o presente, o vírus ainda não foi detectado em bovinos no Brasil. O objetivo deste estudo foi pesquisar a ocorrência de infecções pelo BoHV-6 em bovinos através da amplificação de segmentos genômicos pela reação da polimerase em cadeia (PCR). Para isso, até o momento foram coletadas 19 amostras de sangue total de bovinos, coletadas em rebanhos do Rio Grande do Sul. O DNA total foi extraído e submetido à amplificação de um fragmento de 382 pares de base do gene que codifica a glicoproteína B (gB). Das 19 amostras analisadas, duas deram origem a amplicons com o fragmento de tamanho esperado, os quais serão submetidos a sequenciamento para confirmação de sua identidade. A confirmação deste achado poderá ser indicativo da circulação do vírus em rebanhos do Rio Grande do Sul.

Palavrar chaves: BoHV-6, latência, PCR.

Órgão financiador: FINEP.



Avaliação do potencial de refugos da produção cervejeira para a produção de etanol de forma espontânea e por leveduras isoladas de plantas nativas do Rio Grande do Sul

<u>Bibiana Meyer Neibert Knobelock dos Santos</u>¹, Caroline dos Santos Borstmann¹, Glauco Caon³, Juliana Lopes Horstmann⁴, João Marcelo Medina Ketzer², Renata Medina da Silva^{1, 2}

bibiana.santos@acad.pucrs.br

- 1 Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Faculdade de Biociências, Laboratório de Imunologia e Microbiologia, Avenida Ipiranga, 6881, prédio 12D, sala 201 Porto Alegre/RS. CEP: 90619-900
- 2 Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, TECNOPUC, Instituto do Petróleo e Recursos Naturais, Laboratório de Geobiologia, Avenida Ipiranga, 6881, prédio 96J, sala 607 Porto Alegre/RS. CEP: 90619-900
- 3 Anner Cervejas Especiais
- 4 Sagrada Cervejas Artesanais

Resumo

A diminuição do uso de combustíveis fósseis incita que a pesquisa e a produção de etanol combustível busquem por fontes alternativas de biomassa que dispensem o uso de lavouras para a produção de insumos. Neste contexto, o chamado refugo de produção cervejeira, ou Waste from beer fermentation broth (WBFB), se mostra como um resíduo industrial rico em matéria orgânica e em resíduos microbiológicos, sendo potente para a produção de etanol através de fermentação e sacarificação simultâneas (SSF). O projeto se propõe a avaliar a capacidade de produção de etanol de forma espontânea a partir de WBFB de duas cervejarias artesanais, bem como por leveduras isoladas de casca de árvores nativas do RS, através de experimentos de SSF nestes resíduos. As amostras de WBFB foram cedidas pelas empresas Anner Cervejas Especiais e Sagrada Cervejas Artesanais, e processadas para a produção de quatro meios de cultivo: caldo (caWBFB) e completo (coWBFB); caldo (caeWBFB) e completo (coeWBFB) estéreis. Nenhuma fonte de carbono, enzima ou nutriente foram adicionados aos meios. O crescimento celular foi acompanhado por 48 horas a 28°C, através de espectrofotometria (a 600 nm). A estimativa de provável produção de etanol foi calculada a partir da medida das densidades iniciais e finais dos cultivos. Apenas os meios caWBFB mostraram crescimento microbiano espontâneo, de satisfatório a excelente (DO máx: Anner=0,55; Sagrada= 1,8). O isolado Cc1 cresceu satisfatoriamente (DO máx.=0,55) nos dois WBFB da Sagrada. Observou-se excelentes resultados de Cc2 no caeWBFB da Anner e de Mr1 no caeWBFB da Sagrada (DO máx. entre 1,4 a 1,8). As estimativas de etanol mostraram-se em parte de acordo com os resultados microbiológicos, com a maior delas a de Mr1 (1,33% de etanol). Conclui-se que o WBFB das duas empresas apresentam diferencas no seu potencial para SSF, tanto de forma espontânea como pelas leveduras testadas.

Palavras-chave: resíduo industrial cervejeiro; sacarificação e fermentação simultâneas; *Waste from beer fermentation broth;* microrganismos fermentadores.

Projeto financiado: FAPERGS e CNPq

Efeito sinergetico da combinação nisina e extrato de alho nanoencapsulados em fosfolipídeos contra *listeria monocytogenes*

Cristian Mauricio Barreto¹, Adriano Brandelli ¹

1 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Laboratório de bioquímica e microbiologia aplicada. Av. Bento Gonçalves, 9500 - Prédio 43.212 . Porto Alegre - RS

Resumo

A bactéria patogênica L. monocytogenes, isolada a partir de uma variedade de alimentos, incluindo produtos lácteos, aves e carnes, foi responsável por surtos de intoxicação alimentar em diversos países. Nesse contexto a segurança dos alimentos é uma importante questão para a indústria e consumidores, pois nos últimos anos houve um aumento na demanda por conservantes naturais, considerados não tóxicos, evidenciando uma mudança na consciência sobre a segurança dos alimentos. Atualmente, substâncias antimicrobianas obtidas a partir de fontes naturais, tais como plantas, são de grande interesse, dentro deles o alho por ter vários compostos ativos contra bactérias e fungos. A nisina é uma bacteriocina de amplo espectro contra micro-organismos patogênicos Gram-positivos, porém pouco utilizado, pois não age contra bactérias Gram-negativas e possui custo elevado. Esse trabalho foi desenvolvido para avaliar o potencial anti Listeria de uma mistura de nisina e extrato de alho (EA) encapsulada em nanovesículas de fostatidilcolina, através da produção e caracterização de nanovesículas e testes de atividade antibacteriana in vitro. Foi realizada a encapsulação da combinação (1:1) nisina 0,32 mg/mL e EA em lipossomas de fosfatidilcolina, cujas características físico-químicas foram avaliadas e sua atividade anti listeria foi testada por métodos in vitro. Foram obtidas nanovesículas de diâmetro 179 nm, PDI 0,15 e potencial zeta -27,72 mV. A eficiência de encapsulação foi de 90% e 82,27% para a nisina e EA, respectivamente. No teste de atividade antimicrobiana, o halo de inibição da mistura foi 69% maior que cada produto individualmente. Na avaliação em meio líquido, as nanovesículas com a combinação de produtos reduziu 3-4 log a contagem final de L. monocytogenes em leite integral após 24 horas a 30° C. Desse modo pode-se dizer que a combinação de nisina/EA nanoencapsulada em fosfolipídios é uma tecnologia promissora como conservante de alimentos.

Palavras-chave: Alho, Nisina, Listeria monocytogenes

Projeto financiado: Cnpq.

Quantificação de coliformes e isolamento de *Escherichia coli* nas etapas de produção do queijo colonial produzidos por agricultura familiar do Rio Grande do Sul- Brasil.

<u>Cristina Bergman Zaffari Grecelle^{1 2}, Ana Paula de Souza Lino², Carine Machado Viana², Kellen Larcen Matte², Jane Brasil 2, Marisa da Costa¹.</u>

czaffarigrecelle@gmail.com

- 1 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Laboratório de Microbiologia, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.
- 2 Universidade Luterana do Brasil, Laboratório de Microbiologia de Alimentos. Avenida Farroupilha, 8001. Bairro São Luiz. Canoas/RS. CEP: 92425-900.

Resumo

O queijo de produção artesanal, denominado no Sul do Brasil como colonial, é um produto de grande aceitação, consumo e produção. Rotineiramente, o leite utilizado para produção não é submetido ao tratamento térmico adequado, o produto final apresenta alto teor de umidade e não há um tempo mínimo de maturação. Estes fatores podem favorecer a contaminação e proliferação de micro-organismos oferecendo risco ao consumidor. Micro-organismos indicadores são rotineiramente utilizados para avaliar as condições de segurança e higiene do produto final e a empregada em seu processamento. Quando presentes em um alimento, estes micro-organismos podem indicar contaminação de origem fecal, indicar a possível presença de patógenos ou grau de deterioração. O objetivo deste trabalho foi verificar as condições higiênico-sanitária do processamento do queijo colonial produzido por uma agroindústria familiar através da quantificação de coliformes à 35°C, coliformes à 45°C e isolamento de Escherichia coli das etapas de produção. Entre setembro de 2014 a setembro de 2015, foram realizadas 14 visitas em uma propriedade da agricultura familiar da região de Teutônia produtora de queijo colonial. Nestas visitas foram coletadas 14 amostras de leite cru, 11 de coalhada, 14 de pós salga e 14 amostras do produto acabado, totalizando 53 amostras. Paras as análises das amostras de leite cru e amostras sólidas (demais etapas) foi acrescido em 225mL de água peptonada 0,1% (p/v) em 25mL da amostra para a obtenção da diluição 10⁻¹. A partir desta diluição foram realizadas as demais diluições decimais até 10⁻⁶. A contagem de coliformes à 35^o C foi realizada com Ágar Vermelho Violeta Bile (VRBA) e o resultado expresso em Unidades Formadoras de Colônia (UFC) por mL ou gramas do produto. A confirmação de coliformes à 45°C foi realizada em Caldo Escherichia coli (EC). Nos tubos positivos foi realizado o isolamento de identificação de E.coli. Nas amostras de leite cru foi possível o isolamento de E.coli em uma amostra e Klebsiella sp. em outra. A média de contagem de coliformes à 35°C e 45°C, respectivamente, foram 3,8x105UFC/mL e 3x102UFC/mL. Nas 11 amostras analisadas de coalhada duas apresentaram contagem, sendo que uma das amostras foi que apresentou maior contagem das 53 amostras analisadas, 1,8 x10 5 UFC/g de coliformes à 45°C. As amostras analisadas do pós-salga (em maturação) apresentaram a média de contagem de 7x10⁴ UFC/g para coliformes a 35°C e 4x10³ UFC/g para coliformes a 45°C. Não foi isolado Escherichia coli nestas duas etapas (coalhada e pós salga). O produto acabado apresentou contagem de 3x10² UFC/g para coliformes à 35°C e 1,6x10² UFC/g para coliformes à 45° C. Apesar deste valor estar dentro do permitido pela legislação, em 3 amostras foi possível isolar E. coli e em uma amostra Klebsiella sp. A partir destes resultados sugere-se que a contaminação do produto ocorre, principalmente, na última etapa e por contaminação cruzada.

Palavras-chave: queijo colonial, coliformes, agricultura familiar.

Rápida qualificação da purificação de esporos de *Paenibacillus sp.* por Espectrometria de massa MALDI-ToF e Microscopia de Contraste de Fase.

<u>Daniel Barros Ortega</u>¹, Beatriz Simas Magalhães¹.

ortegadnl@gmail.com

1 – Universidade Católica de Brasília, Pós Graduação em Ciências Genômicas e Biotecnologia, Campus II, SGAN 916 Av. W5 Norte. Brasília/DF CEP: 70790-160

Resumo

O gênero Paenibacillus, bactérias Gram positivas, aeróbias ou anaeróbias facultativas e em forma de bastão é reconhecido por formarem esporos resistentes à falta de nutrientes, ressecamento e a altas temperaturas que, em geral, são formados em resposta à limitação nutricional. A esporulação inicia-se com divisão assimétrica no pólo celular, em seguida, o pré-endósporo é fagociatado pela célula-mãe e liberado. Quando as condições tornam-se favoráveis, o esporo germina retomando a bipartição celular. Neste processo, são ativadas enzimas proteolíticas e lipopetídeos antibacterianos de grande interesse biotecnológico. Para um cultivo padronizado, deve-se partir de culturas de esporos purificados e quantificados, caso contrário o inóculo apresentaria tanto células vegetativas quanto esporos, dificultando a análise de curvas de crescimento. A espectrometria de massa MALDI-ToF associada à microscopia de contraste de fase permitem correlacionar o perfil proteico (2 – 20 kDa) e fase de vida predominante em culturas destes microrganismos, validando o processamento de amostras, sobretudo relacionado à qualidade do processo de purificação de esporos. Para tal, Paenibacillus sp. foram inoculados em meio líquido 2x Glicose de Schaeffer e incubados sob agitação a 37°C. Amostras foram coletadas em 24 horas, 72 horas e após o protocolo de purificação. A morfologia celular foi observada por microscopia de contraste e o estoque de esporos quantificado em câmara de Neubauer. Para aquisição de espectros de massa e consequentemente do perfil proteico, as amostras foram ressuspendidas em ácido fórmico 70% e acetonitrila 100% (10:10 µL) para a extração líquida de proteínas. Imagens de microscopia indicam predominância de células vegetativas em 24 horas e de esporos após a purificação. Os espectros gerados mostram claramente que células vegetativas possuem perfil diferente dos esporos purificados. Desta forma, a espectrometria de massa associada à microscopia de contraste de fase podem ser utilizadas como ferramentas rápidas e eficientes para qualificar o bioprocessamento de amostras.

Palavras-chave: Esporos, purificação, Paenibacillus, MALDI.

Instituição de fomento: CAPES.

Aplicação de diferentes métodos para a detecção de sulfato, utilizando a linhagem *Paracoccus pantotrophus* ATCC 35512 submetida a caldo inorgânico suplementado com tiossulfato, sulfeto ou sulfito de sódio.

<u>Daniel Derrossi Meyer</u>¹, Letícia Muner Otton¹, Felipe Gabriel Andrino², Simone Possedente de Lira², Adalgiza Fornaro³, Gertrudes Corção¹, Adriano Brandelli⁴

d_biomeyer@yahoo.com.br

- 1 Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rua Sarmento Leite 500, 90050-170 Porto Alegre, Brasil.
- 2 Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), Universidade de São Paulo, Av. Pádua Dias 11, 13418-900 Piracicaba, Brasil.
- 3 Departamento de Ciências Atmosféricas, Instituto de Astronomia, Geofísica e Ciências Atmosféricas, Universidade de São Paulo, Rua do Matão 1226, 05508-090 São Paulo, Brasil.
- 4 Departamento de Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9500, 91501-970 Porto Alegre, Brasil.

Resumo

Um dos problemas em Estações de Tratamento de Efluentes (ETEs) é o aumento das emissões de sulfeto de hidrogênio (H₂S), que podem causar danos à saúde das populações humanas e ecossistemas. Para controlar as emissões desse gás, bactérias oxidadoras de enxofre podem ser utilizadas para converter o H₂S em sulfato. Neste trabalho, a detecção de sulfato foi realizada por espectrofotometria, espectrometria de absorção atômica e cromatografia iônica, usando o Paracoccus pantotrophus ATCC 35512 como linhagem de referência para o crescimento em caldo inorgânico suplementado com tiossulfato de sódio (Na₂S₂O₃.5H₂O), sulfeto de sódio (Na₂S) ou sulfito de sódio (Na₂SO₃), separadamente. Substratos contendo enxofre foram adicionados a um caldo inorgânico (sulfeto de sódio, sulfito ou tiossulfato), que servem como um composto análogo ao sulfeto de hidrogênio (H₂S) em solução. Como complemento, água ultrapura desionizada (MilliQ) foi usada para evitar que os íons presentes na água interferissem nos resultados. Os frascos foram incubados durante 9 dias, sem agitação e à temperatura de 37 °C. Os experimentos foram realizados em triplicata, incluindo o controle negativo (sem adição de micro-organismos). A linhagem foi metabolicamente competente na produção de sulfato. No entanto, foi apenas possível observar diferencas significativas na produção de sulfato em relação ao controle negativo quando o meio inorgânico foi suplementado com tiossulfato de sódio. Os três métodos de detecção para o sulfato apresentaram padrões similares, embora o método cromatográfico tenha sido o mais sensível para este estudo. Nesse contexto, a linhagem de P. pantotrophus ATCC 35512 pode ser utilizada como um padrão de referência para estudos de produção de sulfato a partir do tiossulfato de sódio. Esses resultados podem ser úteis na comparação com os de outras bactérias oxidadoras de enxofre, prospectadas de ETEs, a fim de compor um consórcio bacteriano potencialmente capaz de converter H₂S em sulfato.

Palavras-chave: bactérias oxidadoras de enxofre, H₂S, sulfato, *Paracoccus* pantotrophus.

Apoio financeiro: CAPES.

Avaliação da atividade anti-microbiana de um composto comercial à base de nisina aplicado em presunto cozido

<u>Daniela Comparsi Laranja</u>¹, Marcelo joão³, Ana Carolina Fosch Batista¹, Patrícia da Silva Malheiros¹, Eduardo Cesar Tondo¹

dani_laranja@yahoo.com.br

- 1 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Laboratório de Microbiologia e Controle de Alimentos. Avenida Bento Gonçalves, 9500. Bairro Campus do Vale. Porto Alegre/RS. CEP: 91501-970.
- 2 DuPont Nutrition & Health, Solae do Brasil Ind. E Com. Alim. Ltda. Rodovia BR 116, 702. Bairro São Sebastião. Esteio/RS. CEP: 93270-000.

Resumo

O presunto cozido é um dos embutidos cárneos mais consumidos no Brasil, sendo também um dos mais sensíveis à deterioração por bactérias ácido-láticas (BAL) e a contaminação por patógenos alimentares. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade anti-microbiana de um composto comercial à base de Nisina (Nisaplin®) aplicado em presunto cozido. Para tanto, presuntos cozidos foram preparados e fatiados individualmente pela empresa DuPont, Esteio/RS. Em um primeiro momento (ensaio 1), o presunto foi injetado com salmoura contendo 500mg de Nisaplin® por kg. Em seguida (ensaio 2), a adição de nisina foi realizada no tambleamento do presunto. Nos dois ensaios o potencial bioconservante da nisina foi avaliado, através da contaminação artificial de fatias de presunto cozido (controle e teste, com nisina) com um coquetel de 5 cepas de L. monocytogenes. As fatias de presunto foram armazenadas a 8°C, por 10 e 40 dias, e contagens de L. monocytogenes e de BAL foram realizadas ao longo do armazenamento. Os resultados do ensaio 1 demonstraram que o tratamento com nisina reduziu a população de L. monocytogenes em 0,9 log UFC/g em até 48 horas. Porém, após esse período, o perfil de multiplicação da L. monocytogenes foi o mesmo, tanto no presunto controle, quanto no contaminado. As BAL foram inibidas significativamente por 10 dias. Os resultados do ensaio 2 demonstraram que L. monocytogenes também foi inibida por 48 horas, enquanto as BAL foram inibidas por até o 8° dia. Com base nos resultados, concluiuse que o método de incorporação da nisina não influenciou na ação antimicrobiana desse composto, o qual pôde inibir a multiplicação da L. monocytogenes durante os primeiros dias de armazenamento e as BAL por mais de uma semana.

Palavras-chave: Listeria monocytogenes; BAL; presunto cozido; nisina.

Projeto financiado: CAPES.

Avaliação da atividade antagonista e da resistência a antibióticos por bactérias ácido láticas com potencial para uso na produção de alimentos

<u>Jaqueline Oliveira</u>¹, Naiane Miriam Malherbi¹, Vanessa Gomes da Silva¹, Carlos José Raupp Ramos¹, Cátia Tavares dos Passos¹

jaquelineoliveira1995@hotmail.com

1 - Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Laranjeiras do Sul, Laboratório de Microbiologia, Prédio de Laboratórios 01. BR 158, Km 405. Laranjeiras do Sul/PR. CEP: 85301-970

Resumo

A resistência a agentes antimicrobianos por bactérias se tornou um fator preocupante, pois podem gerar riscos à saúde humana. Já a produção de compostos antimicrobianos é uma característica desejável, uma vez que podem ser utilizados como bioconservadores. O objetivo deste trabalho foi analisar 8 cepas de bactérias ácido láticas (BAL), isoladas de leite orgânico cru de um laticínio de Laranjeiras do Sul - PR, quanto a sua capacidade antagonista e resistência a 9 antibióticos. As BAL foram crescidas em caldo MRS, overnight, e inoculadas na superfície do ágar MRS a 25°C/24h. Sthaphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Streptococcus pyogenes e Shighella flexneri foram crescidas em caldo BHI, incubadas a 24h/25°C e após, 0,3mL de cada cultura foi transferida para 7mL de ágar MRS (0,7%) e vertidos na superfície do ágar MRS após as 24h. No teste de resistência a antibióticos, os isolados e duas cepas padrão (Pseudomonas aeruginosa e Escherichia coli) foram inoculados em ágar Müeller-Hinton, na concentração de 108 UFC/mL (escala de McFarland) e realizado antibiograma com discos dos antibióticos: Cefalexina 30mcg (CFX), Doxiciclina 30mcg (DOX), Eritromicina 15mcg (ERY), Estreptomicina 10mcg e 300 mcg (EST10 e EST300), Gentamicina 10mcg (GMN), Moxifloxacina 5mcg (MFX), Neomicina 30mcg (NEO) e Penicilina G 10mcg (PEN), incubados a 28°C/48h. Os resultados da atividade antagonista mostraram que não houve inibição dos microrganismos testados pelas BAL, demonstrando que não houve produção de compostos antimicrobianos. A CFX foi o único antibiótico que não apresentou ação contra nenhuma BAL, sendo a PEN eficiente apenas para a BAL73, destacando-se a BAL24 que foi resistente a todos os antibióticos testados e a BAL13 a 6 deles. Com base no exposto, concluiu-se que não foi verificada atividade antagonista para as BAL isoladas de leite orgânico cru, e que todas apresentaram resistência a algum tipo de antibiótico, o que pode ser preocupante.

Palavras-chave: teste sensibilidade; antimicrobiano.

Projeto financiado: CHAMADA UNIVERSAL – MCTI/CNPq № 14/2013 Edital 464/UFFS/2014 - PRO-ICT/UFFS - BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA 2014/2015

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE *Pseudomonas* sp. PROVENIENTES DE ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE EFLUENTES DE EMPRESA DE SUCOS CONCENTRADOS ATRAVÉS DE TESTES BIOQUÍMICOS

<u>José Antonio Munzi de Campos¹</u>, Diogo Bonalume Andreis¹, Sueli Van Der Sand¹, José Carlos Germani²

josebiotec@gmail.com

- 1 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Laboratório de Micologia, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.
- ²- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Av. Ipiranga, 2752, Porto Alegre/RS, CEP 90610-000

Resumo

Processos de tratamento de águas residuais utilizam microrganismos para dinamizar o processo, dentre estes, Pseudomonas sp. tem sido estudado como agentes de desnitrificação, etapa final da remoção de nitrogênio total do efluente que transforma nitratos e nitritos em nitrogênio gasoso. O objetivo deste trabalho, foi isolar e identificar espécies de Pseudomonas através de testes bioquímicos. Os microrganismos foram isolados do reator aeróbio a partir de uma planta industrial de tratamento de águas residuais na região da Serra Gaúcha. A amostra foi diluída em série até 10⁻¹⁰. Uma alíquota de 100µL de cada diluição foi inoculada, em triplicata, nos meios de cultura PCA, TSA, Meio E (meio composto por 20% do efluente bruto, e 1,5% de ágar) e incubadas em estufa a 28°C por 48h. Do total foram isoladas 16 bactérias. Todas as amostras foram submetidas à coloração de Gram, onde se observou 8 Gram-positivas e 8 Gram-negativas. As bactérias Gram negativas foram submetidas aos testes bioquímicos: ágar McConkey, ágar cetrimide, motilidade em meio SIM, oxidação fermentação (O/F), catalase, bile esculina, citrato de Simons, glicose, crescimento a 4°C em meio TSA e os resultados obtidos como positivo e negativo foram submetidos à plataforma ABIS on-line. O Isolado AE10 apresenta 99% de probabilidade de ser Pseudomonas simiar. Os isolados AE02 e AE12 necessitam de outros testes para definição através da plataforma, e os isolados AE04, AE05, AE15 e AE16 tiveram atividade de fermentação, característica que descarta a possibilidade de ser do gênero Pseudomonas.

Palavras-chave: Identificação; Testes Bioquímicos; Pseudomonas.

Projeto financiado: CAPES.

Avaliação da adesão de *Escherichia coli* e *Salmonella enteritidis* em diferentes superfícies de corte de alimentos.

Luciana Meneghetti Gehrke¹, <u>Alexandre Ferraz da Conceição²,</u> Harry Luiz Pilz Júnior², Lidia Mariana Fiuza^{1,2}.

alexandreferrazconceicao@gmail.com

Universidade do Vale do Rio dos Sinos; ¹MPNA/Nutrição e Alimentos, ITT- Nutrifor; ²Laboratório de Microbiologia e Toxicologia; Avenida Unisinos, 950, São Leopoldo – RS. Cep: 93022-000.

Resumo

A segurança dos alimentos é uma das principais responsabilidades dos serviços de alimentação, uma vez que os micro-organismos patogênicos podem aderir às superfícies de corte de alimentos. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a adesão de Escherichia coli e Salmonella enteritidis, em placas de corte de diferentes materiais: madeira, polietileno e bambu. Para tanto, as bactérias utilizadas foram contabilizadas pela padronização do número de células (100 céls./mL) em câmera de Neubauer. Após, as bactérias foram homogeneizadas, inoculadas em água peptonada (1%) e mantidas em estufa a 37° C por 24 horas. Higienizou-se as placas de corte e adicionou-se sobre elas 5 mL da solução contendo as bactérias, seguido pela incubação (35° C, por 3 horas). Na amostragem do material foram aplicados swabs esterilizados em zigue-zague nas superfícies contaminadas, que em seguida foram enriquecidos em água peptonada (1%), a 37°C por 24 horas. Utilizou-se 100 µL da solução bacteriana enriquecida (diluída a 10⁻⁵) e aplicou-se em Ágar Xilose Lisina Desoxicolato para S. enteritidis e Ágar MacConkey para E. coli. Após o crescimento quantificou-se as Unidades Formadoras de Colônias (UFCs). Em todas as placas verificou-se a adesão bacteriana, sendo os resultados analisados conforme o teste ANOVA que mostrou diferença significativa para a adesão de E. coli (F= 13,244; gl= 2; p < 0.01). O teste de Tukey mostrou que a placa de polietileno apresentou maior contaminação quando comparada com as placas de bambu (p= 0,006) e madeira (p= 0,031). Em contrapartida a adesão de S. enteritidis não mostrou diferença significativa nas placas de corte (F= 4,723; gl= 2; p= 0,059). Estes resultados sugerem que as espécies bacterianas possuem a capacidade de adesão nos diferentes materiais constituintes das placas de corte e que a higienização destes, pode ser uma alternativa eficiente para minimizar os riscos de contaminação cruzada nos alimentos.

Palavras-chave: Escherichia coli, Salmonella enteritidis, alimentos, placas de corte.

Projeto financiado: CNPq, FAPERGS e UNISINOS

Perfil microbiológico de Queijos de Porco produzidos no sul do Brasil

<u>Luciana Senter</u>¹, Jéssica Stiebe², Gisele Morgana Kuczmanski², Romilda Tirellii², Alessandra Machado Lunkesi³, Jamil Correia da Silva Júnior³

luciana.senter@ifsc.edu.br

- 1 Instituto Federal de Santa Catarina, Campus Xanxerê, Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Rua Euclides Hack, 1603. Xanxerê/SC. CEP: 89820-000.
- 2 Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Francisco Beltrão/PR.

Resumo

O Queijo de Porco é um produto elaborado e muito apreciado no Oeste de Santa Catarina, introduzido por imigrantes italianos, alemães e poloneses colonizadores da região, sendo grande parte da produção elaborada artesanalmente, como forma de aproveitar os subprodutos comestíveis do suíno. Por ser um produto que é manipulado após o cozimento das matérias-primas, pode apresentar contaminações cruzadas, e isso é prejudicial à saúde do consumidor. O objetivo deste estudo é conhecer a qualidade microbiológica e físico-química do queijo de porco por meio de análises microbiológicas, atividade de água e pH. Foram analisadas amostras de nove empresas do Oeste de Santa Catarina, uma do Noroeste gaúcho e uma do Sudoeste do Paraná. Apesar de serem detectados coliformes e estafilococos coagulase positiva em cerca de 36% das amostras, apenas uma apresentou contagens de coliformes termotolerantes à 45°C acima do limite permitido pela legislação vigente. Os dados obtidos poderão ser utilizados futuramente para auxiliar na proposição de um regulamento técnico que possa estabelecer padrões de identidade e qualidade para a produção do embutido no estado e minimizar a contaminação do produto, tornando a produção do queijo de porco mais segura do ponto de vista microbiológico.

Palavras-chave: queijo de porco, contaminação microbiológica, suíno.

Projeto financiado: Edital nº 14/2014, da Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação do Instituto Federal de Santa Catarina.

Detecção da formação de biofilme por bactérias do gênero *Staphylococcus* isolados de leite cru de búfala refrigerado

Márcia Monks Jantzen¹, <u>Francine Hergemöller¹</u>, Marciéle Bogo², Géssica Aracéli Costa², Amanda de Souza da Motta²

marcia.jantzen@ufrgs.br

- ¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Faculdade de Veterinária, Rua Bento Gonçalves, 9090, Agronomia, Porto Alegre/RS. CEP: 91540-000
- ² Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Laboratório de Microbiologia, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.

Biofilmes representam um impacto negativo para indústria de laticínios, por possibilitarem recontaminações de produtos em diferentes etapas. O presente estudo objetivou avaliar a capacidade de formação de biofilme por 44 isolados do gênero Staphylococcus oriundos de leite de conjunto cru de búfala refrigerado. Utilizou-se a metodologia de cultivo em Agar Vermelho Congo (AVC), onde a formação de biofilme era observada quando havia o desenvolvimento de colônias de cor preta com consistência seca e cristalina e negativas como colônias de cor rosa. Também utilizouse a metodologia de formação de biofilmes em microplacas de 96 poços, inoculandose uma suspensão de cada um dos isolados (1,5 x 108UFC/mL) em 180µL de caldo Triptona de Soja (TSB). Cada pocinho foi incubado a 37°C/24 horas e então lavado com solução salina. As células aderidas foram fixadas com metanol, coradas com cristal violeta, lavadas em água corrente e re-solubilizadas em álcool etílico. A leitura da densidade ótica efetuou-se em espectrofotômetro (λ= 450 nm). Os biofilmes foram classificados como fraco, moderado, forte ou negativo. O controle negativo foi caldo TSB estéril e para ambos os testes Staphylococcus epidermidis ATCC 35984 foi o controle positivo. A produção de exopolissacarídeo em AVC foi evidenciada por 19 (43,1%) isolados dos 44 testados. Na interpretação do teste de formação de biofilme em microplacas, 4 (9,09%) isolados foram moderados, 23 (52,27%) fracos formadores de biofilme e 17 (38,63%) não formaram biofilme. Não verificou-se isolado forte formador de biofilme. Comparando-se os testes, 8 dos isolados positivos em AVC foram negativos nas microplacas; dos 14 isolados que foram negativos em AVC, 11 foram fracos e 3 foram moderados formadores de biofilme em microplaca. Não houve equidade de resultados quando comparadas ambas metodologias e Staphylococcus spp. Isolados de leite cru de búfala apresentam potencial para formar biofilmes dentro da indústria, podendo comprometer a qualidade de lácteos.

Palavras-chave: Biofilme; *Staphylococcus*; Leite de Búfala; microplaca; Agar vermelho Congo.

Projeto financiado: CNPq; PROPESQ-UFRGS

Formação de biofilme em superfícies de aço inoxidável e polipropileno por bactérias psicrotróficas isoladas de leite cru de búfala refrigerado

Marciéle Bogo¹; Ana Paula Guedes Frazzon¹; Amanda de Souza da Motta¹

marci_bg@hotmail.com

1 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Laboratório de Microbiologia, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.

Resumo

Biofilmes formados por bactérias psicrotróficas representam uma fonte de contaminação constante, pois estes microrganismos além de formarem biofilme crescem em temperaturas baixas. Esta pesquisa propôs avaliar a formação de biofilme por dois isolados bacterianos psicrotróficos de leite cru de búfala: Pseudomonas aeruginosa PL5.4 e Pseudomonas fluorescens PL7.1. Estes foram cultivados em 10 mL de caldo TSB (Tryptone Soy Broth) por 24h a 30°C e ajustados a densidade ótica de 600 nm em espectrofotômetro, equivalente a 8 Log₁₀ UFC/mL. Corpos de prova de aço inoxidável e polipropileno foram esterilizados e imersos no caldo de cultivo dos isolados. Para cada cultivo foram adicionados três corpos de prova de cada superfície separadamente. Os cultivos foram incubados a 7°C, 23°C e 30°C por 24, 48 e 72 horas. A cada 24 horas um corpo de prova foi removido, lavado, imersos em 10mL de solução salina 0,85% e sonicados por 20 minutos a 40 kHz. Diluições seriadas foram preparadas para a contagem. Ainda, foi realizada a contagem das células planctônicas a cada 24 horas. A adesão dos isolados foi maior no corpo de prova de polipropileno em temperatura de 7°C, com contagens de 7,07, 7,25 e 7,23 Log₁₀ UFC/cm², respectivamente para 24, 48 e 72 horas para Pseudomonas aeruginosa PL5.4 e contagens de 7,01, 7,14 e 7,23 Log₁₀ UFC/cm², respectivamente para 24, 48 e 72 horas para Pseudomonas fluorescens PL7.1. A menor contagem de células recuperadas de corpos de prova foi 5,65 Log₁₀ UFC/cm² em aço inoxidável em 7°C para o isolado Pseudomonas aeruginosa PL5.4. A contagem das células planctônicas permaneceu acima de 8 Log₁₀ UFC/mL para ambos os isolados. Este estudo mostrou que as bactérias psicrotróficas isoladas de leite cru de búfala refrigerado apresentam capacidade de aderirem-se as superfícies que são encontradas na indústria de lacticínios, representando um risco de contaminação aos produtos fabricados.

Palavras-chave: Biofilme; Bactérias Psicrotróficas; Adesão; Aço inoxidável; Polipropileno.

Projeto financiado: CNPq.

PRODUÇÃO DO COGUMELO COMESTÍVEL SHIMEJI (*Pleurotus ostreatus*) EM RESÍDUO DE BAGAÇO DE CERVEJA COMO ALTERNATIVA LIMPA DE REUTILIZAÇÃO.

Maria Elisa Paillie J¹, Filipe de Paula Araujo².

mariae.pailliej@hotmail.com

- 1. Microbiologista Industrial. Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.
- 2. Bitecnólogo e Biólogo. Diretor executivo na empresa Zapata- Cervejaria Rural e Diretor executivo na empresa Sitio Del Bosque Cogumelos cultivados. 9,4 Km. Estrada da Capororoca, 2346, Viamão, Rio Grande do Sul.

Resumo.

Nos últimos anos houve um crescimento significativo de cervejarias artesanais e estima-se que existam atualmente 300 microcervejarias no Brasil, 80 delas no Rio Grande do Sul e o crescimento médio por ano é de 20%. Como resíduo sólido deste mercado, o bagaço de malte comumente destinado para ração de animais, corresponde ao 85% do subproduto total o qual é mais nutritivo, contendo celulose, hemicelulose, carboidratos, lipídeos e proteínas, além de se obter com maior facilidade frente a iniciativas para constituir alternativas biotecnológicas para seu reuso. Frente a essa realidade, a Zapata Cervejaria Rural junto à produção de cogumelos Del Bosque propõe e desenvolve uma alternativa eficaz e acessível criando um substrato capaz de produzir Shimeji (Pleurotus ostreatus), um dos cogumelos com elevado valor nutricional, potencial medicinal, preço justo para a população e uma das espécies comumente cultivadas e comercializadas no Brasil. Através da mistura do bagaço com serragem, farelo de arroz, trigo e soja, se desenvolve um substrato com 60% de umidade final em sacolas de polipropileno e pasteurizadas a 80°C durante 8 horas, nas quais são colocados cuidadosamente pedaços de Agar Batata dextrose 42g/L que contem crescimento vegetativo do fungo em questão. Após a colonização total que tarda aproximadamente 15-30 dias se inoculam colunas de 3kilos colocando 3 a 5% desse pre-inoculo. No desenvolvimento e colonização completa das colunas se tem condições de obscuridade, concentrações baixas de oxigênio e temperatura na faixa de 18 a 22°C. As colunas são repassadas numa estufa com temperatura de 25°C, 90% de umidade, o que induz a frutificação do cogumelo para colheita, limpeza, embalagem, venda in natura e/o prover colunas para cultivo pessoal. Conclui-se que com o uso de resíduos sólidos de cervejaria e agroindustriais é possível a produção de Shimeji, Plerotus ostreatus com valor agregado o que também auxilia na decomposição e neutralização de resíduos cervejeiros evitando a geração do impacto ambiental.

Palavras chave: Cervejaria, *Pleurotus osteraus*, bagaço de malte.

SEARCHING FOR OLEAGINOUS YEASTS IN RIO GRANDE DO SUL: FLUORESCENCE AS HIGH THROUGHPUT SCREENING METHOD

Mauricio Ramírez-Castrillón^(1,2), Victoria P. Jaramillo-Garcia^(1,3), João A. P. Henriques⁽³⁾, Caroline

Flores⁽²⁾, Rafaela Hepp⁽²⁾, Patricia Valente⁽²⁾

¹Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular, Centro de Biotecnologia,

Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre - RS, Brazil; ²Departamento de

Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre,

RS, Brazil; ³Departamento de Biofísica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre –

RS, Brazil.

E-mail: mauriciogeteg@gmail.com

Abstract:

Second-generation biodiesel production utilizing oleaginous microorganisms is a very promising

alternative to overcome the critical bottlenecks of 1st generation biodiesel production. Yeasts are a

promising source of microbial oil, since some strains can accumulate up to 70% of their dry weight in

lipids. It is important to assess and select oleaginous yeast strains to establish their suitability for

biodiesel production. Therefore, there is a need for a rapid, robust and highly efficient method for

quantifying lipid contents in microbial biomasses. Consequently, we proposed a high throughput

screening (HTS) for comprehensive evaluation of the lipid-accumulating ability of yeast strains,

isolated of bromeliads in Itapuã Park and decomposed plants of "Lagoa dos Patos" marshland.

A yeast culture collection of "Mycology Lab at ICBS/UFRGS" was assessed comprising approximately

200 yeasts isolates of Rio Grande do Sul. We established two-steps screening in order to select one

promising oleaginous yeast: (1) exponential growth at 72 hours (max), and (2) content lipids higher

than our positive control (QU21). Therefore, we measured fluorescence intensity with Red Nile

(technical and biological triplicate of 10⁷ cells/mL) of 13 isolates of bromeliads, five isolates of

decomposed marshland plants, strains QU21 (Yarrowia lipolytica as positive control) and y-024

(Saccharomyces cerevisiae as negative control). We used fluorescence microscopy with the same

dye to visualize lipid drops. Eight isolates showed higher average fluorescence intensity (AFI) than

QU21, and four isolates lower AFI than y-024, so we discarded these isolates as oleaginous yeasts,

and selected the isolate BI281 (Cryptococcus flavescens) as candidate of oleaginous yeast because

their fluorescence intensity was two times higher than QU21 with lower standard deviation. This

species has not been reported before as oleaginous yeast.

Keywords: oleaginous yeast, screening, high content lipid, fluorescence intensity

Funding: FAPERGS, CNPq, COLCIENCIAS

Identificação de bactérias aeróbias mesófilas e atividade enzimática de bactérias e de leveduras psicrotróficas isoladas em várias fases da produção do queijo colonial.

Priscilla Vieira de Souza¹, Marisa da Costa¹, Cristina Grecelle Bergman Zaffari²

E-mail: pri.vdesouza@gmail.com

1 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Laboratório de Bacteriologia 222D, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS.

2- Doutorando PPGMAA, Universidade Luterana do Brasil.

RESUMO

Queijo é o nome genérico para um produto alimentar que é resultado da fermentação lática do leite. Sendo assim, durante o processo de maturação do queijo, é necessária a presença de diversos microrganismos como bactérias e fungos que contribuem de forma positiva ou negativa, através da liberação das suas enzimas. O objetivo do trabalho é identificar bactérias e leveduras presentes em diferentes fases de produção de queijo colonial e a capacidade de produção de enzimas líticas destes microrganismos isolados do mesmo produto. Foram analisadas amostras de bactérias e leveduras já coletadas em trabalho anterior, isoladas e mantidas congeladas. A recuperação das bactérias foi feita por meio de cultivo inicial em caldo BHI a 30°C e re-isolamento de todos os isolados em ágar padrão para contagem. As leveduras isoladas foram recuperadas em caldo GYP (glicose 2%, peptona 1% e extrato de levedura 0,5%) e re-isolamento em ágar batata dextrose. Após o isolamento, todos os isolados serão testados quanto à capacidade de crescimento a + 8º C, para identificação de cepas psicrotróficas. Das 68 amostras recuperadas de bactérias aeróbias mesófilas, 28 são cocobacilos Gram-positivos, 19 cocos Gram-positivos, 6 bacilos Gram-negativos e 4 bacilos Gram-positivos. Do total de 70 amostras congeladas de leveduras, 24 foram isoladas e identificadas até o momento. Com os dados obtidos até o momento pode-se observar uma predominância da microbiota Gram-positiva.

Avaliação da estabilidade química e microbiológica de biodiesel com e sem aditivo antioxidante

<u>Sabrina Anderson Beker¹</u>, Eduardo Homem Siqueira Cavalcanti², Fatima Menezes Bento¹

sabrinabeker@gmail.com

- 1 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Laboratório de Biodeterioração de Combustíveis e Biocombustíveis (LAB-BIO), Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS. CEP: 90050-170.
- 2 Insituto Nacional de Tecnologia (INT), Laboratório de Proteção e Corrosão (LACOR), Rio de Janeiro/RJ.

RESUMO

Devido a sua natureza predominantemente composta por ésteres de ácidos graxos, o biodiesel apresenta alta suscetibilidade à degradação química (oxidação) e à contaminação microbiana durante a estocagem. Antioxidantes são adicionados ao biodiesel para manter sua estabilidade oxidativa, porém, são escassos os estudos sobre a influência destes aditivos na microbiota nativa do biodiesel. O objetivo deste trabalho foi avaliar a formação de biomassa na interface água/óleo e monitorar o índice de acidez, estabilidade à oxidação, teor de água e massa específica de biodiesel de soja comercial (com adição de antioxidante) e biodiesel de soja na sua forma pura (sem adição de antioxidante). Para tanto, foram montados microcosmos (frascos de vidro) com capacidade para 150 mL, onde adicionou-se 130 mL de biodiesel comercial e puro e 13 mL de meio mineral mínimo Bushnell Haas com dois diferentes valores de pH inicial, 5,0 e 7,0. Os microcosmos foram incubados por 60 dias a temperatura de 30 °C. Em ambos biodieseis não foi detectada contaminação microbiana no tempo inicial. Ao final do experimento, foram observados valores maiores de biomassa (mg) desenvolvidos nos microcosmos contendo biodiesel comercial do que em biodiesel puro. Foram observados, na condição com biodiesel comercial de fase aquosa de pH 5,0 e 7,0 os valores de 65,8 mg e 68,1 mg, respectivamente. Na condição com biodiesel puro de fase aquosa de pH 5,0 e 7,0, os valores observados foram 47,8 mg e 35,9 mg, respectivamente. O monitoramento dos parâmetros químicos realizado permitiu verificar que a estabilidade à oxidação do biodiesel comercial e puro ficou abaixo do limite mínimo recomendado (6 h), no entanto, o controle estéril do biodiesel comercial manteve-se acima deste período. Os valores de índice de acidez e teor de água de todas as amostras ultrapassaram os valores máximos estabelecidos pela legislação. Os valores de massa específica ficaram dentro do limite permitido. O estudo mostrou que após 60 dias nas condições estabelecidas de estocagem simulada, o biodiesel puro e o comercial não mantiveramse em condições para comercialização.

Palavras-chave: biodiesel; biomassa; antioxidante;

Projeto financiado: Edital 40/CNPq; recursos LAB-BIO/UFRGS

Estudo da Capacidade Proteolítica de Bactérias Psicrotróficas Presentes em Presunto Cozido Fatiado, Obtido do Mercado Público de Porto Alegre, Brasil.

Stéfano Caon¹, Amanda de Souza da Motta¹

E-mail: s caon@hotmail.com

1 - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Laboratório de Bacteriologia 165, Rua Sarmento Leite, 500. Porto Alegre/RS.

Resumo

O presunto cozido é um produto obtido do pernil suíno, submetido a um processo de cozimento que reduz o número de micro-organismos que podem ser veiculados nesse alimento. As fiambrerias dos supermercados seccionam e redistribuem peças inteiras do produto, sendo um ponto crítico para evitar a contaminação do mesmo. O trabalho objetiva o estudo quantitativo de microorganismos mesófilos e psicrotróficos e avaliação da capacidade proteolítica de psicrotróficos presentes no presunto cozido fatiado. Foram analisadas oito amostras desse alimento, vendidas no mercado público de Porto Alegre, Brasil. A contagem bacteriana foi realizada segundo a metodologia descrita pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Retirou-se assepticamente 25g acrescentaram-se 225mL de água peptonada tamponada estéril para realização das de diluições seriadas e posterior plaqueamento em meio Plate Count Agar (PCA) por 37°C durante 48 horas (mesófilos) e em refrigeração durante 7-10 dias (psicrotróficos), sendo os resultados expressos em unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/ml). Foram isoladas 137 colônias psicrotróficas, que foram submetidas ao teste de avaliação da atividade proteolítica, sendo semeadas em ágar leite (TSA + 10% de leite UHT) e incubadas em temperatura ambiente por 48 horas, sendo considerados positivos aqueles micro-organismos que formaram um halo translúcido envolvendo a colônia. A contagem de mesófilos variou entre 9,00x10² e 1,17x10⁶ UFC/mL e a de psicrotróficos de 2,4x10³ a 1,57x10⁶ UFC/mL. Os valores de contagem padrão total, tanto para mesófilos em geral quanto para psicrotróficos, não apresentam limites máximos normatizados. 71 micro-organismos apresentaram atividade proteolítica, fato esse que reflete na vida de prateleira do produto, visto que grande parte dos isolados tem capacidade em degradar proteína da carne. Conforme os dados obtidos na contagem, sugere-se que há um déficit na legislação, o que não só pode reduzir a vida de prateleira do presunto, como ainda representar um risco à saúde pública.

Palavras-chave: mesófilo; psicrotrófico; atividade proteolítica; presunto.

Modelagem preditiva da multiplicação de Salmonella spp. na alface

<u>Susana de Oliveira Elias</u>¹, Olivier Veys², Ana Carolina Fosch Batista¹, Eduardo César Tondo¹

susanaelias@gmail.com

- 1 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Avenida Bento Gonçalves, 9500. Campus do Vale Prédio 43212 Porto Alegre/RS. CEP: 91501-970.
- 2 Laboratory of Food Microbiology and Biotechnology, Department of Industrial Biological Sciences, Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University Campus Kortrijk, Graaf Karel de Goedelaan 5, Kortrijk B-8500, Belgium

Resumo

A alface (*Lactuca sativa*) é um dos vegetais folhosos mais consumidos no Brasil e no mundo. Além disso, a ingestão de alimentos crus está frequentemente relacionada à ocorrência de surtos alimentares, visto que há a possibilidade de etapas antes do consumo não serem capazes de garantir a redução de micro-organismos patogênicos até um nível satisfatório. Esses surtos, muitas vezes, são causados por *Salmonella* que causa a doença de origem alimentar com maior ocorrência em nível mundial. Assim objetivando-se melhor compreender o comportamento desse patógeno na alface será realizada a modelagem preditiva da sua multiplicação nesse alimento.

Os experimentos foram realizados com as seguintes cepas: *Salmonella* Enteritidis SE86, *Salmonella* Typhimurium L12031, *Salmonella* Typhimurium 1T2, *Salmonella* Anatum, *Salmonella* Newport e *Salmonella* Saint Paul. As alfaces foram adquiridas em supermercados na cidade de Porto Alegre. O *pool* de *Salmonella* foi inoculado na alface, a fim de se obter uma concentração final de células de cerca de 2 log UFC/g. Porções inoculadas (10 g) de alface foram armazenadas a 5, 10, 25, e 37°C durante diferentes períodos até atingir a fase estacionária de multiplicação. As análises foram realizadas em diferentes tempos, dependendo da temperatura de armazenamento. Em cada ponto, foi realizada a quantificação de *Salmonella*. As curvas de multiplicação de *Salmonella* spp atingiram uma concentração final de 8 log UFC/g, depois de 10 h a 37°C. Para as outras temperaturas, 6 log UFC/g foi atingido após 10, 100 e 300 h a 25, 10 e 5°C, respectivamente. Modelos preditivos primários de Baranyi foram utilizados para calcular os parâmetros cinéticos de multiplicação. Os valores da taxa de multiplicação (log UFC/h) e do tempo de fase lag (h) foram 0,02 e 63,2 a 5°C; 0,05 e 24,6 a 10°C; 0,63 e 1,85 a 25°C; 0,82 e 0,85 a 37°C, respectivamente, todos os modelos apresentaram um R²>0,92.

Palavras-chave: patógeno microbiano; modelagem preditiva; segurança dos alimentos; folhosos; temperatura.

Projeto financiado: CAPES.

DETECÇÃO DE BACTÉRIAS MESÓFILAS EM QUEIJO TOFU

Thaís Teresa Brandão Cavalheiro Ribeiro¹, Marisa da Costa¹

thaisteresa90@hotmail.com

1 – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas e da Saúde, Laboratório de Bacteriologia, Rua Sarmento Leite, 500, sala 222. Porto Alegre/RS. CEP:90050-170.

RESUMO

O tofu é um queijo derivado da soja e vem ganhando espaço no mercado por apresentar um baixo custo de produção. As principais preocupações do consumidor é saber se o alimento que ele está consumindo é seguro. Diante disso a limpeza e a sanitização das indústrias de alimentos são operações primordiais no controle higiênico sanitário. Durante o processo final por exemplo ou no momento da produção dos queijos pode ocorrer contaminação por diversos microrganismos como bactérias deteriorantes ou até mesmo patógênicas. As análises microbiológicas são muito importantes na área de alimentos devido às diversas formas de contaminação, dentre elas manipulação inadequada, baixa qualidade de matéria prima, falta de higienização dos equipamentos de processamento e falha em algum processo como a falta de controle do tempo e temperatura na hora da fabrição e até mesmo durante o armazenamento. O objetivo desse trabalho foi detectar presença e realizar a contagem de bactérias mesófilas em queijo tofu.

Neste estudo foram feitas análises para bactérias mesófilas 1 vez por mês em 5 amostras do mesmo lote, totalizando 60 amostras do queijo tofu. As coletas eram realizadas e imediatamente armazenadas em caixas com gelo e levadas para análise no laboratório de microbiologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. A metodologia utilizada foi conforme a IN 62 do Ministério da Agricultura e do Abastecimento – MAPA. As análise apresentaram como resultado presença de bactérias mesófilas em diluições até 10⁶.

Com base nos resultados apresentados podemos concluir que que estas bactérias encontradas podem causar deterioração nos queijos e assim diminuir a qualidade e vida de prateleira dos queijos analisados. As mesmas podem ter se aderido durante o processo de manipulação ou produção. Fatores como tempo e temperatura na produção também são muito importantes para o controle. Assim se mostra necessário as boas práticas de fabricação.

Palavras-chave: Contaminação microbiológica, tofu, bactérias mesófilas, soja, manipulação.

Projeto financiado: CNPQ.

Aplicação do planejamento fatorial 2³ na produção de l-asparaginase de actinobactérias da caatinga.

<u>Wellma de Oliveira Silva</u>¹, Iasmim Lucas da Silva¹, Wellen Laís de Gomes¹, Vinícius Eduardo Souza de Oliveira¹, Erick Jonne Vieira de Melo¹, Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho², Leonor Alves de Oliveira da Silva¹

wellmadeoliveira@gmail.com

- 1 Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Antibióticos, Centro de Ciências Biológicas da, Arthur de Sá, S/N, Cidade Universitária, Recife-PE, 50670-901.
- 2 Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, Avenida Moraes Rego, S/ N, Cidade Universitária, Recife-PE, 50670-420.

Resumo

Enzimas produzidas por micro-organismos apresentam vantagens quanto aos catalisadores químicos. L- asparaginase (L-asparaginase amidohidrolase, EC 3.5.1.1) é exemplo de enzima que está sendo amplamente utilizada tanto no tratamento do câncer quanto na indústria alimentar. O trabalho visa contribuir com o estudo de uma actinobactéria, provinda da rizosfera da caatinga, com capacidade de produção de Lasparaginase. Para otimizar a produção do complexo de L-asparaginase excretado pela bactéria isolada da rizosfera da C. pyramidalis foi realizado um planejamento fatorial completo (23) com duplicata para estimativa do erro experimental. O planejamento teve como variáveis pH (4,2 e 7,8), temperatura (33°C, 44°C) e concentração da L-asparagina (0,5% e 1,5%). Nessa etapa a Actinobactéria sp. foi semeada em meio liquido ISP-2 a 37°C por 48horas e posteriormente um alíquota, correspondendo a 10% foi inoculada no meio M-9, meio padrão para indução da produção da L-asparaginase, nas diferentes condições já citadas. Posateriormente foram dosadas as atividades enzimáticas e protéicas dos complexos enzimáticos. O melhor resultado obtido na dosagem enzimática foi no ensaio com concentração de 1,5%, pH 4,2 a 44°C. Em relação à dosagem proteica foi detectado 0,432 µg/mL, nas condições com concentração de 1,5%, pH 7,8 a 33°C. A análise estatística das variáveis e a análise da variância (ANOVA) dos resultados obtidos foram avaliadas através do programa Statistica, versão 7.0 (StatSoft Co., USA). Os resultados obtidos no planejamento mostraram que todos os fatores testados no presente estudo são significantes e que existe uma relevante interação entre o pH e concentração de Lasparagina. A análise deste planejamento sugere a realização de novos ensaios para que haja uma eficiente otimização enzimática.

Palavras-chave: Actinobactérias, enzimas, biotecnologia; L- asparaginase; planejamento fatorial.