

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Faculdade de Farmácia
Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

DIVERSIDADE GENÉTICA DE ACTINOBACTÉRIAS UTILIZANDO
BOX-PCR E REP-PCR

Ana Elisa Silveira Ballarini

Porto Alegre, julho de 2018.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
Faculdade de Farmácia
Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

DIVERSIDADE GENÉTICA DE ACTINOBACTÉRIAS UTILIZANDO
BOX-PCR E REP-PCR

Ana Elisa Silveira Ballarini

Trabalho de Conclusão de Curso no formato de artigo científico a ser submetido à revista *Brazilian Journal of Microbiology* como requisito para obtenção do grau de Farmácia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Orientadora: Profa. Dra. Sueli T. Van Der Sand

Porto Alegre

2018

*Dedico este trabalho à memória de
minha amada mãe Naira, pois tudo o
que sou lhe devo, e tudo que pretendo
ser a ela o faço em homenagem.
Saudades eternas.*

Todo mundo é um gênio. Mas, se você julgar um peixe por sua capacidade de subir em uma árvore, ele vai gastar a sua vida acreditando que é estúpido.

Matthew Kelly

Agradecimentos

À Universidade e seus funcionários ao me dar a oportunidade de aprender e buscar um futuro com mérito e ética presentes.

À FAPERGS pelo contínuo incentivo a pesquisa e educação.

À professora Dra. Sueli Van Der Sand por me permitir fazer parte de seu grupo de pesquisa, promovendo incentivo para buscar meus objetivos acadêmicos, sendo uma grande motivadora da conclusão de meus projetos.

À minha coorientadora Marcela Proença Borba, uma das pessoas que mais serviram como inspiração em todo o período que fiz iniciação científica. Meu agradecimento por toda a dedicação demonstrada e minha admiração pela certeza do seu sucesso.

Aos colegas de laboratório, João Paulo Duarte Witusk, Themis Collares Antunes, Heloísa Giacomelli Ribeiro, que, dia após dia, ajudaram a transformar as dificuldades da pesquisa em uma rotina prazerosa. Colegas da Universidade que levarei para a vida, com um imenso carinho e admiração.

À minha família por me proporcionar um ambiente de aprendizado e pelo apoio constante. Ao meu pai, Rafael, por sempre fazer todo o possível para o conforto e sucesso dos filhos.

Ao meu melhor professor e para sempre amigo, Diego Defferrari, que em todo momento de dificuldade me deu suporte, ora acadêmico, ora gastronômico e que foi essencial à minha decisão de enfrentar a longa jornada para me tornar uma farmacêutica de sucesso.

Ao meu namorado e companheiro, Marcelo Pacheco pelos anos de suporte nos momentos mais delicados e exigentes da graduação. Por sua companhia silenciosa, mas presente durante as noites em claro estudando.

Aos amigos que adquiri ao longo dos anos de faculdade, Carina Lauffer, Naiara Jacques, Eduardo Goldani, Scheron Giubel e Cristiane Manoela, os quais tiveram a oportunidade de me ver evoluir como pessoa e que com certeza tiveram responsabilidade pelo meu progresso.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada.

Apresentação

Optou-se por apresentar este trabalho em forma de artigo científico, conforme possibilitado pela Resolução nº 03/2017. O presente trabalho será submetido à revista *Brazilian Journal of Microbiology* e obedece aos padrões de apresentação exigidos pela mesma, devidamente anexados ao final do artigo.

Autora: Ana Elisa Silveira Ballarini - anaballarini@gmail.com

Título do trabalho: Diversidade genética de actinobactérias utilizando BOX-PCR e REP-PCR

Orientadora: Sueli Teresinha Van Der Sand - svands@ufrgs.br

Coorientadora: Marcela Proença Borba - ceh.proenca@gmail.com

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS). Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia. Laboratório de Microbiologia Aplicada. Rua Samento Leite, 500. CEP: 90050-170. Porto Alegre - RS, Brasil.

Banca examinadora:

Themis Collares Antunes - themis.antunes@gmail.com

Mercedes Passos Geimba - 00116678@ufrgs.br

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS), Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia

Data da apresentação: 05 de julho às 14 horas no Anfiteatro Alfredo Leal da Faculdade de Farmácia (Av. Ipiranga, 2752, térreo - Campus Saúde)

Resumo

Os microrganismos apresentam um importante papel na produção de compostos de interesse para a indústria farmacêutica. Estudos em biologia molecular apontam o potencial de produção de metabólitos secundários por bactérias do gênero *Streptomyces*. São microrganismos Gram positivos distribuídos em diferentes ecossistemas terrestres e aquáticos e de difícil identificação, em vista disso, as técnicas mais modernas de identificação baseiam-se no sequenciamento da região 16S do DNA ribossomal, porém, sem uma discriminação exata entre espécies relacionadas. Técnicas de DNA *fingerprint* vêm sendo aplicadas para resolver questões de identificação dos diferentes microrganismos e a aplicação de *primers* específicos a certas regiões fornece padrões de amplificação que se mostram eficientes à identificação de uma gama de organismos. As técnicas de *fingerprint* BOX-PCR e REP-PCR empregam *primers* com elementos repetitivos, gerando padrões de bandas característicos a cada amostra, utilizado como forma de identificação de cepas bacterianas. O presente trabalho objetivou observar diversidade genética dos isolados de actinobactérias coletados em solo antártico, utilizando a técnica BOX-PCR e REP-PCR. Foram comparados os perfis de amplificação de 49 amostras e 36% destas agruparam-se com similaridade superior a 90% em ambas reações. Também se observou a presença de um fragmento de tamanho comum nos isolados analisados com o *primer* BOX-A1R.

Palavras chave: Identificação, *Streptomyces*, *fingerprint*, PCR, Similaridade.

Introdução

Os microrganismos apresentam um importante papel na produção de compostos de interesse para a indústria farmacêutica. Dentre os mais variados produtos pode-se destacar antibióticos, antitumorais, antivirais, vacinas, inibidores enzimáticos, polímeros e bioherbicidas (Diminic *et al.*, 2013). Um terço de mais de 20 mil dessas moléculas são metabólitos secundários produzidos por um filo de bactérias de organização filamentosa, as actinobactérias. Entre estas, o gênero *Streptomyces* apresenta-se como um dos maiores produtores de metabólitos secundários (Demain, 2014).

Estima-se que apenas uma pequena fração de compostos de interesse tenham sido descobertos e estudos no campo da biologia molecular apontam o grande potencial de produção dessas moléculas, por bactérias do gênero *Streptomyces* (Busti *et al.*, 2006).

O gênero *Streptomyces* destaca-se entre as bactérias do solo por apresentar micélio filamentoso, hifas aéreas e esporos durante seu ciclo de vida (Liu *et al.*, 2018). São microrganismos Gram positivos distribuídos em diferentes ecossistemas terrestres e aquáticos. Apresentam em seu DNA um alto conteúdo de bases guanina (G) e citosina (C) (Cheah *et al.*, 2015). Durante muito tempo realizou-se sua identificação com base nas características morfológicas das colônias, hifas, além de testes bioquímicos. As técnicas mais modernas de identificação baseiam-se no sequenciamento da região 16S do DNA ribossomal, porém, não há uma discriminação exata entre espécies relacionadas. Diferentes técnicas de *fingerprint* DNA vêm sendo aplicadas para elucidar as questões de identificação dos diferentes microrganismos e o uso de *primers* específicos a certas regiões fornece padrões de amplificação que se mostram eficientes à identificação de uma gama de organismos.

Dentre os utilizados, REP (*repetitive extragenic palindromic sequence*) (Stern *et al.*, 1984) e BOX (sequência repetitiva presente em *Streptococcus*) (Martin *et al.*, 1992) são técnicas de PCR *fingerprint* desenvolvidas para a análise de padrões genéticos em procariotos e ambas podem ser denominadas Rep-PCR (Michelim *et al.*, 2008). Esta análise utiliza *primers* com elementos repetitivos, gerando padrões de bandas característicos a

cada amostra, utilizado como forma de identificação de cepas bacterianas (Korvin *et al.*, 2014).

Martin *et al.* (1992) descreveram a existência de sequências altamente conservadas de DNA ao longo do genoma de *Streptococcus pneumoniae*. Intituladas de elemento BOX, essas sequências divergem de sequências anteriormente descritas. O elemento BOX é composto por sequências repetitivas de 154 pb, organizado em três subunidades, as quais: boxA (59 pb), boxB (45 pb), boxC (50 pb). A função do elemento BOX pode estar relacionada com a regulação da transcrição de genes e ainda, alguns elementos BOX foram encontrados perto de genes de virulência. A técnica de BOX-PCR tem sido utilizada para estudar a complexa nomenclatura dentro do gênero *Streptomyces*. Em diferentes estudos, os padrões de amplificação obtidos foram suficientes para a análise de similaridade entre isolados (Lanoot, 2004; Borba, 2016).

A sequência REP consiste de unidades palindrômicas de 38 pb (Stern *et al.*, 1984). Em contraste ao elemento BOX, estes elementos encontram-se conservados em todas as bactérias entéricas Gram negativas, como *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*.

Uma análise detalhada dos padrões de bandas obtidos pelas duas técnicas abordadas pode tornar-se uma boa ferramenta para aprimorar as técnicas atuais de caracterização de bactérias.

A Antártica é um continente pouco explorado devido às dificuldades de coleta, contudo, apresenta-se bastante promissor na oferta de novos produtos naturais. Seu solo é caracterizado por baixas temperaturas, e uma grande diversidade geológica, proporcionando um ambiente rigoroso, cujas condições selecionam microrganismos capazes de se adequar às condições de estresse (Morgan, 2018).

Objetivo

Através da análise de DNA *fingerprint*, observar diversidade genética dos isolados de actinobactérias coletados em solo antártico, utilizando a técnica REP-PCR com os *primers* BOX-A1R, REP 1R e REP 2R.

Metodologia

Isolados de actinobactérias

Foram analisados 49 isolados de actinobactérias pertencentes à bacterioteca do laboratório de Microbiologia Aplicada da UFRGS. As amostras são oriundas do solo antártico que foram coletadas e fornecidas pelo Dr. Paris Lavin do Instituto Antártico Chileno. Seu material genético foi extraído em trabalhos anteriores e o produto resultante utilizado como ponto de partida para as reações deste estudo.

Ensaio de Biologia Molecular

Amplificação do DNA utilizando BOX-PCR

Com o objetivo de se caracterizar os isolados de actinobactérias, foi aplicada a técnica PCR para o qual se utilizou o *primer* BOX-A1R (Exxtend), de sequência 5' CTA CGG CAA GGC GAC GCT TGA CG 3'. Para um volume de 25 µL de reação, adicionou-se 2,5 µL de tampão de reação 10X, 3,5 mM de MgCl₂, 2,5 UI de Taq polimerase, 2,5 mM de cada dNTP, 2,5 pmol do *primer*, 150 ηg de BSA e 100 ηg de DNA. As condições de amplificação compreenderam uma etapa inicial de desnaturação a 94 °C por 7 min, seguido de 30 ciclos que envolveram uma etapa de desnaturação a 94 °C por 1 min 15 s, uma etapa de anelamento a 44 °C por 1 min 15 s e uma etapa de extensão a 65 °C por 8 min 30 s, finalizando-se em uma etapa de extensão a 72 °C por 5 min.

Os produtos de PCR resultantes foram analisados em gel de agarose a 1,5%, em uma corrida a 100 V, 80 mA e 80 W, utilizando GelRed (QuatroG) como corante fluorescente de DNA e fotografados no sistema de fotodocumentação Major Science modelo UVCI-1200. Os fragmentos gerados foram comparados com o marcador de peso molecular de 100 pb

(Ludwig Biotec) e organizados de modo que fragmentos de tamanho inferior a 20 pb foram considerados iguais.

Amplificação do DNA utilizando REP-PCR

Foram utilizados os *primers* REP (IDT) de sequências 1R 5' III ICG ICG ICA TCI GGC 3' e 2R 5' ICG ICT TAT CIG GCC TAC 3', para complementar a caracterização dos isolados. Em um volume de 25 µL de reação, adicionou-se 2,5 µL de tampão de reação 10X, 4 mM MgCl₂, 1,2 pmol de cada primer, 0,8 mM de cada dNTP, 2 U de Taq polimerase e 100 ng de DNA. As condições de amplificação incluíram uma etapa inicial de desnaturação a 94 °C por 5 min, seguido de 35 ciclos que incluíram uma etapa de desnaturação a 94 °C por 1 min, uma etapa de anelamento a 40 °C por 1 min e uma etapa de extensão a 71°C por 1 min 30 s, finalizando com uma etapa de extensão de 5 min a 72 °C.

Os produtos de PCR resultantes foram analisados em gel de agarose a 1,5%, em uma corrida a 100 V, 80 mA e 80 W, utilizando GelRed (QuatroG) como corante fluorescente de DNA e fotografados no sistema de fotodocumentação Major Science modelo UVCI-1200. Os fragmentos gerados foram comparados com o marcador de peso molecular de 100 pb (Ludwig Biotec) e organizados de modo que fragmentos de tamanho inferior a 20 pb foram considerados iguais.

Análise dos padrões de amplificação

A análise de cada fragmento foi realizada manualmente em cada uma das amostras, com auxílio do *software* especializado CLIQS 1D Pro (Totallab). Após assinalar cada banda individualmente, determinou-se seus pesos moleculares comparando-se ao padrão de 100 pb, aplicado junto às amostras. Por fim, efetuou-se o agrupamento das amostras analisadas com base no padrão dos fragmentos gerados nas duas técnicas de PCR realizadas, utilizando o coeficiente de correlação de Pearson como análise estatística na medida de similaridade e UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) como método de agrupamento.

Resultados e Discussão

Ensaio de Biologia Molecular

Na figura 1 podemos observar alguns dos isolados amplificados com a técnica REP-PCR. A técnica de REP-PCR apresentou padrões de amplificação em todas as reações com os *primers* utilizados. Todos os 49 isolados analisados com BOX-A1R apresentaram nítidos fragmentos de amplificação, diferente dos padrões obtidos utilizando os primers REP 1R e 2R, que apresentaram menor resolução nos fragmentos de menor peso molecular como pode ser observado na figura 1. Apenas nove amostras amplificadas pelos *primers* REP 1R e REP 2R apresentaram menos que três fragmentos de amplificação em mais de uma repetição da reação.

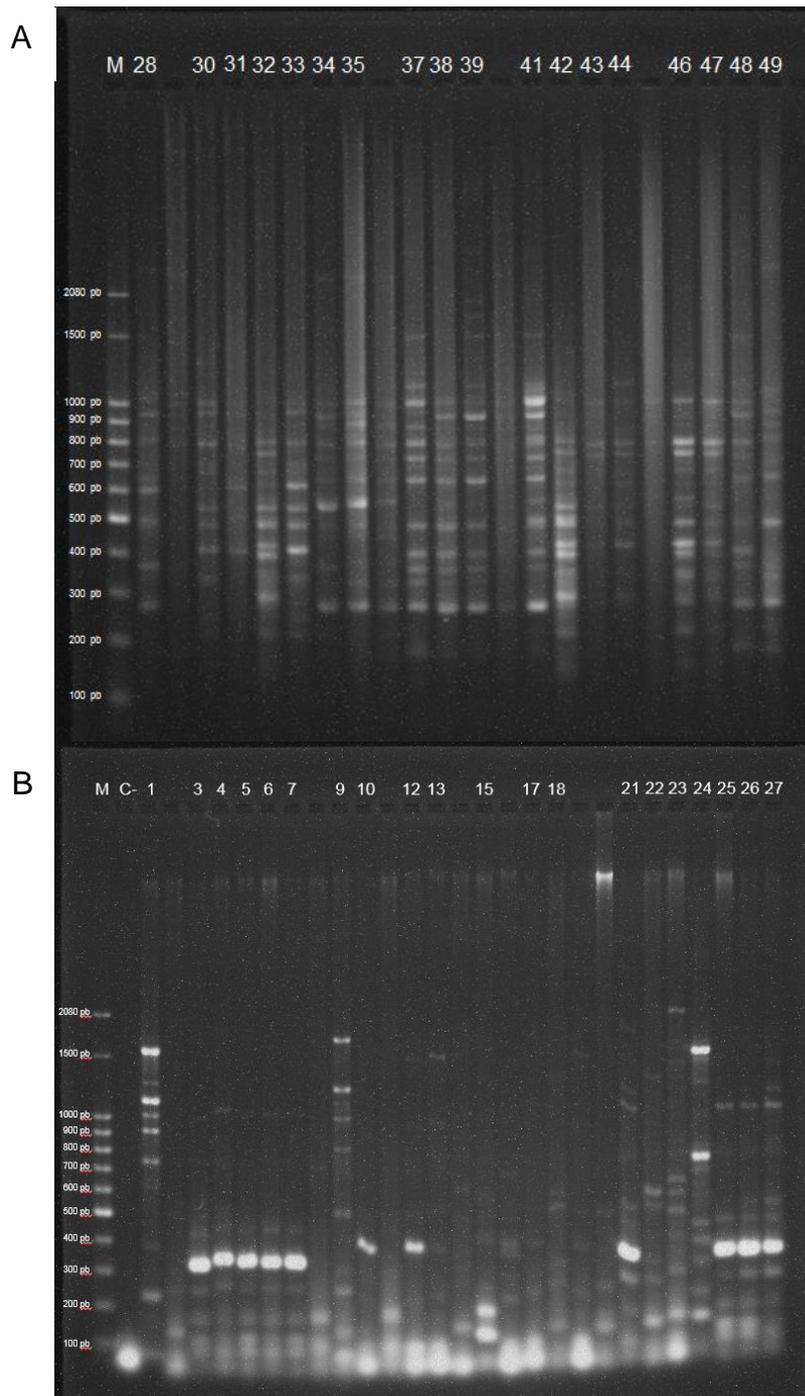


Figura 1: Gel de agarose 1,5% onde se observam os diferentes padrões de amplificação produzidos em algumas das amostras analisadas, utilizando os *primers* BOX-A1R (A), REP 1R e REP 2R (B). M: marcador molecular; C-: controle negativo de amostra.

Após estabelecer os pesos moleculares, as amostras foram agrupadas observando-se o perfil de similaridade entre os fragmentos gerados em cada reação, obtendo-se os dendrogramas (Figuras 2 e 3).

Amplificação do DNA utilizando BOX-PCR

No presente estudo, ao utilizar o *primer* BOX-A1R observou-se a formação de 451 fragmentos (Tabela 1), com uma mediana de nove fragmentos por amostra. A amostra 2 apresentou a menor quantidade de fragmentos, sendo visualizadas apenas 4 bandas e a amostra 46 apresentou 15 fragmentos, sendo a que mais gerou produtos de amplificação. O menor fragmento gerado apresentou 170 pb e o maior apresentou 2630 pb e todas as amostras apresentaram pelo menos um fragmento com tamanho em torno de 400 pb. A presença de fragmentos nesta faixa específica, em todas as amostras, pode ser uma importante ferramenta para ajudar na caracterização de microrganismos do gênero. Com os fragmentos obtidos foi possível construir um dendrograma e agrupar as 49 amostras em dois grandes grupos com perfil de similaridade de 60%. Em cada grupo, dois subgrupos com perfis de similaridade de 74% e 85% (Figura 2) foram formados. Não foram observados grupos com 100% de similaridade, o que mostra a diversidade dos isolados.

Estudos têm demonstrado a aplicabilidade da metodologia *fingerprint*, baseada na amplificação de sequências palindrômicas, comuns no DNA de diferentes microrganismos (Chapaval *et al.*, 2006). Apesar de se apresentar como promissora, existem limitações na técnica que dificultam a elaboração um perfil de análise e agrupamento comum a todos microrganismos.

Korvin *et al.* (2014), ao estudar diferentes reações para um mesmo *primer* concluíram que modificações no tempo de polimerização levavam a produção de perfis de bandas diferentes. Um aumento no tempo de extensão levou a produção de fragmentos com maiores pesos moleculares. Isto pode ser explicado, pois esta modificação permite que a enzima polimerize produtos mais completos.

Yang and Yen (2012) demonstraram que quando aplicadas diferentes temperaturas de hibridização, pode-se observar uma diferença na resolução das bandas produzidas, além da presença de fragmentos com pesos moleculares diferentes. Em geral, os autores observaram que o aumento da temperatura de anelamento leva à amplificação de fragmentos com menores pesos moleculares, e a diminuição da temperatura de anelamento leva a

produção de fragmentos com maiores pesos moleculares. Contudo, no mesmo estudo foi observada uma boa reprodutibilidade da técnica, pois os resultados obtidos com diferentes temperaturas de anelamento apresentaram alguns padrões de amplificação específicos e algumas variáveis em diferentes cepas analisadas. Isso mostra que é importante se padronizar uma execução da técnica, mas que alterações nas condições de reação são aceitáveis se houver uma base de dados confiável para comparação de resultados.

Borba (2016) ao aplicar a técnica BOX-PCR para caracterização de isolados de actinobactérias obteve um total de 974 fragmentos para 85 amostras analisadas. Este número de fragmentos manteve certa proporção neste estudo, onde foram encontrados 451 fragmentos (82% de proporção). A partir dos padrões de amplificação obtidos foi gerado um dendrograma no qual 12 agrupamentos distintos foram formados

Lanoot (2004), buscando elucidar questões de sinonímias do gênero *Streptomyces*, realizaram um estudo em 473 estreptomicetos e observaram que 350 cepas apresentaram um padrão de fragmentos, mais uma vez, demonstrando a aplicabilidade da técnica para diferenciação de microrganismos.

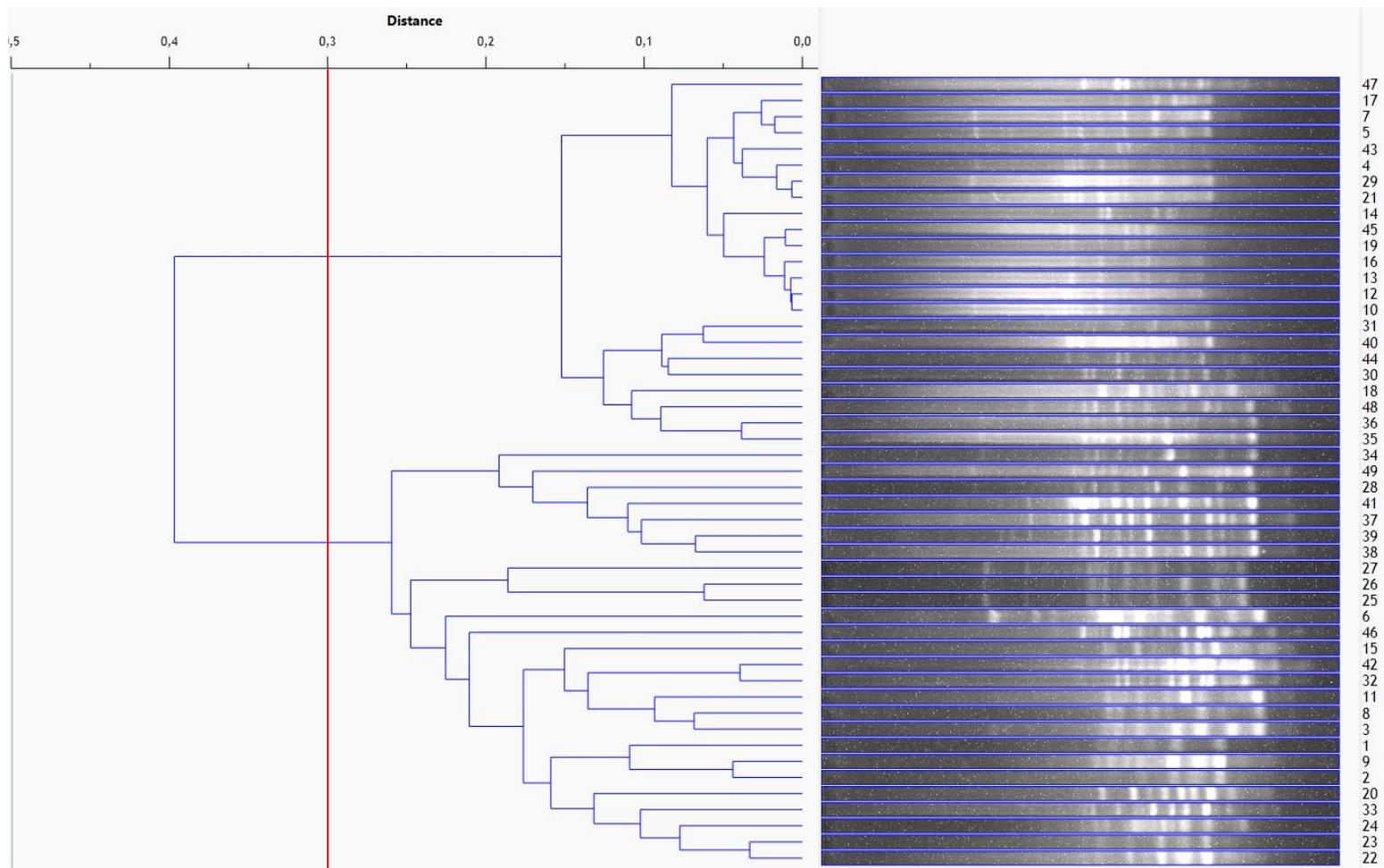


Figura 2: Dendrograma obtido na análise de fragmentos de 49 amostras com o *primer* BOX-A1R (UPGMA – Correlação de Pearson).

Amplificação do DNA utilizando REP-PCR

A técnica REP apresenta padrões menos distintos, com menos fragmentos geradas e estas, com menor resolução e pesos moleculares do que os presentes na reação BOX. Isto pode ser justificado pelo fato dos *primers* REP 1R e REP 2R serem mais curtos e apresentarem uma grande proporção de deoxinosinas (Martin *et al.*, 1985).

Deoxinosinas são nucleosídeos formados pela ligação da hipoxantina a uma desoxirribose e apresentam-se úteis na área da biologia molecular para o desenho de *primers* uma vez que podem se emparelhar de forma não específica com as bases adenina (A), timina (T) ou citosina (C). Sequências de DNA repetitivas extragênicas palindrômicas (REP) foram encontradas amplamente distribuídas entre bactérias de grupos filogeneticamente diferentes (Sadowsky and Hur, 1998). Em 1995, Lipman *et al.* relataram que a análise utilizando os *primers* REP eram menos confiáveis que aquelas utilizando *primers* de sequências consenso repetitivas intergênicas (ERIC) na diferenciação de cepas de *E. coli*, porém sua análise envolveu uma baixa quantidade de amostras (30) com um número limitado de fragmentos.

No presente estudo, foram contabilizados 310 fragmentos (Tabela 2) na análise REP, 33,5% a menos que na utilização do *primer* BOX-A1R, com uma mediana de cinco fragmentos por amostra. O maior fragmento encontrado apresentou 2160 pb e o menor 50 pb. Do total de amostras analisadas, quatro (10, 11, 14 e 43) apresentaram apenas um fragmento de amplificação e a amostra 40 apresentou 19 fragmentos diferindo das demais analisadas. Estudos de caracterização adicionais podem ajudar a elucidar esta diferença observada. Diferente do observado com o BOX-PCR, no REP-PCR observou-se a maior concentração de fragmentos entre 100pb a 399pb. Das amostras analisadas, 39 apresentaram pelo menos um fragmento entre 100-199pb, 34 amostras apresentaram a presença de pelo menos um fragmento na faixa dos 200-299pb e 37 amostras entre 300-399pb.

O dendrograma gerado com os fragmentos mostrou cinco grupos considerando 70% de similaridade. Pode se destacar que 28 amostras (57%)

apresentaram um perfil com 80% de similaridade em dois dos cinco grupos formados.

Além disso, ao analisar individualmente cada amostra observou-se que 14 amostras (28,6%) se agruparam de forma equivalente em ambos dendrogramas. As amostras 10, 12, 13, 14, 16, 17, 19, 43, 45 e 47 formaram um grupo com 90% de similaridade nos dendrogramas BOX e REP. As amostras 4, 5, 7 e 21 apresentaram-se agrupadas com similaridade superior a 95% nos dendrogramas BOX e REP.

Estes agrupamentos similares nas diferentes reações podem auxiliar no processo de caracterização dos isolados. Estudos posteriores somados aos resultados obtidos podem fornecer melhores dados que auxiliem e facilitem a identificação dos microrganismos do gênero.

Baseado nestes resultados, podemos concluir que a identificação de um isolado pode ser feita em comparação com padrões de fragmentos moleculares obtidos em outros grupos de microrganismos com próximos coeficientes de similaridade. Uma análise detalhada e mais aprofundada de fragmentos pode resultar no estabelecimento de um marcador para o gênero *Streptomyces*. Por fim, esta ferramenta de caracterização pode se tornar útil na identificação de características pontuais de um microrganismo, como a produção de metabólitos secundários específicos ou a presença de genes de resistência a antibióticos.

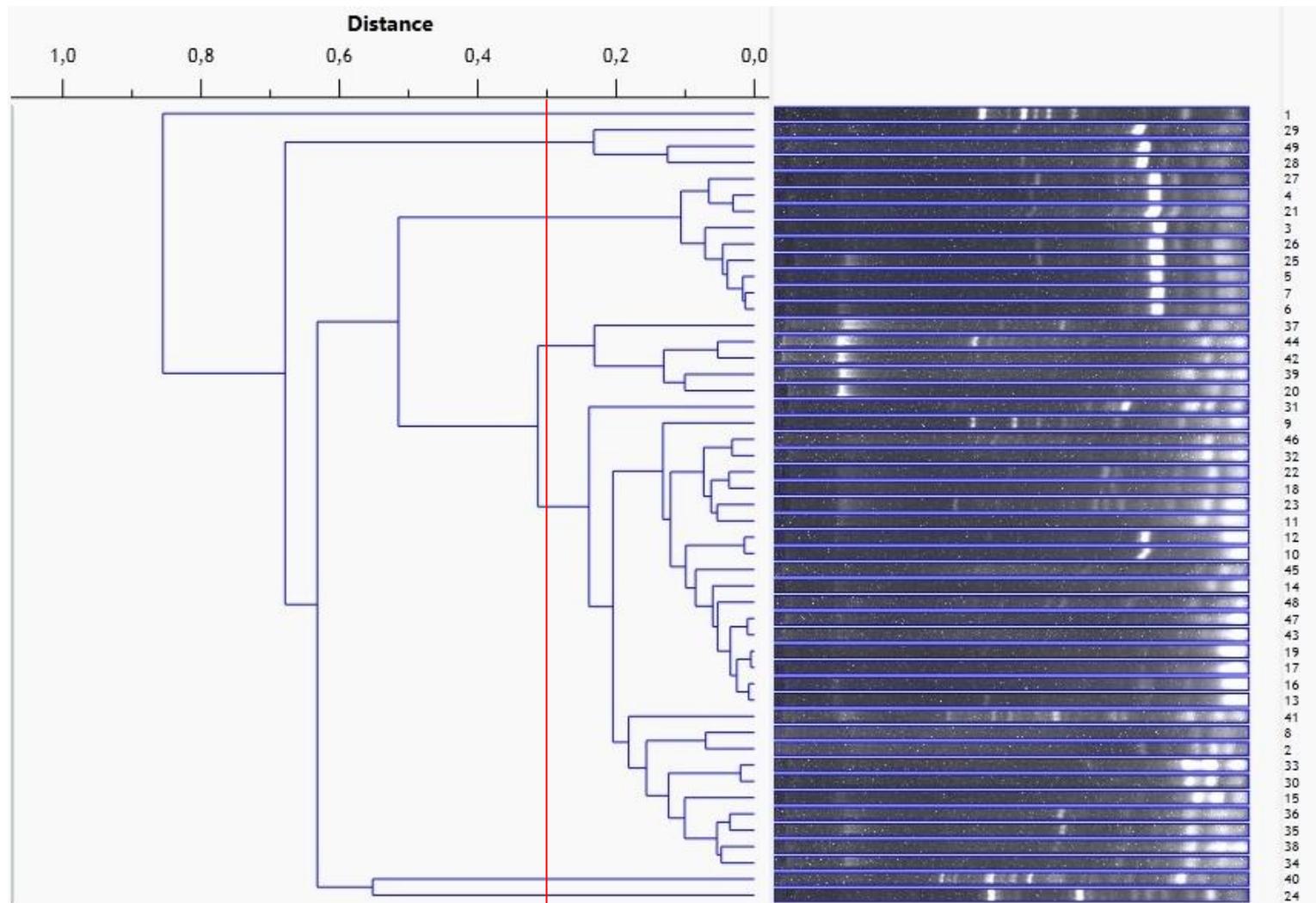


Figura 3: Dendrograma obtido pela análise de fragmentos de 49 amostras utilizando os *primers* REP 1R e REP 2R (UPGMA – Correlação de Pearson).

Tabela 1: Pesos moleculares obtidos pela análise computacional das reações de amplificação utilizando o *primer* BOX-A1R.

M	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
2080	1085	800	2470	2253	2284	2451	2314	1013	1104	2294	1030	2334	951	747	1053	1013	671	1067	938	1057	2345	1226	1232	1674
1500	987	619	1062	991	1606	1818	1616	941	1009	996	970	1092	741	693	829	934	592	950	754	854	1083	1090	1076	1232
1000	892	509	950	921	987	1516	996	808	912	929	912	747	544	623	732	737	439	858	592	757	1000	875	883	1114
900	742	412	808	876	876	1062	880	717	804	880	812	594	492	449	663	490	360	750	536	667	938	765	693	1039
800	613		609	744	754	950	754	654	631	741	660	490	402	389	563	402	330	686	485	581	876	683	575	854
700	414		492	597	606	804	597	489	497	594	572	275	367	365	503	273	247	578		523	734	572	467	676
600			365	459	451	644	451	405	412	451	486		276	313	429			517		444	646	467	393	625
500			273	334	330	489	338	273			393			259	351			449		374	594	379		569
400				250	254	372	300				331				256			365			446	300		462
300						267	252				281				235						326			326
200							205														240			
100							164																	
25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49
2603	2631	2593	2440	2324	1008	1004	803	1004	2340	2340	1000	1508	1500	1972	978	1551	810	1012	2390	1018	1020	1012	1525	2470
1968	1978	1958	1045	880	953	934	744	949	1102	1004	885	1102	1020	1761	876	1098	753	786	1133	960	930	934	1115	1064
1702	1702	1181	949	754	797	797	673	800	1000	930	790	1004	919	1508	741	1020	670	737	1020	744	893	800	1012	965
1150	1160	1090	810	671	712	614	619	700	919	893	734	885	790	1102	674	934	633	544	810	586	814	750	934	896
1044	1048	1026	653	592	670	410	539	670	896	797	639	800	722	1012	608	810	552	495	741	546	753	685	800	828
912	887	900	603	444	539		484	619	790	722	562	728	633	930	523	728	488	421	682	485	682	625	753	757
721	816	724	488	324	486		419	534	734	644	465	642	477	800	461	647	425		628	269	630	544	656	712
553	732	556	368	240	413		394	475	647	557	329	479	396	728	395	565	396		544		578	488	484	656
429	569	412	274		341		345	410	544	479	268	400	357	633	365	491	357		488		491	431	408	488
328	429	328					290	339	361	329		359	267	479	244	402	295		427		429	348	370	374
	324						219	251	271	274		325		404		364	223		293		400	303	336	345
												274		361		273					348	231	282	285
												179		271							295		197	
																					223			

Tabela 2: Pesos moleculares obtidos pela análise das reações de amplificação utilizando os *primers* REP 1R e 2R.

M	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
2080	1556	362	992	1045	438	1019	440	255	1694	382	186	1473	1493	600	562	673	390	1282	1528	502	1887	1293	2162	1571
1500	1243	276	422	446	330	436	327	178	1188		166	487	966	358	408	394	241	575	382	251	1179	589	1454	1467
1000	1108	184	319	340	255	328	248	129	1092			380	370	307	189	358		518	235	176	1061	523	652	1272
900	1011	133	240	260	169	250	169	102	1038				229	266	126	214		319		145	530	336	589	769
800	915	91	164	169	114	164	112	83	985					142				260			466	272	514	706
700	739		109	116	75	112	75		803									141			360	156	428	629
600	617		75	78		72			496												278		370	573
500	378			44					302												191		302	462
400	227								240												111		237	406
300	77								130												61		181	332
200																								240
100																								176
25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49
1080	1076	1201	969	1013	168	1785	521	521	376	644	658	1087	675	147	1846	1715	1250	101	1289	1272	1219	333	1319	900
476	550	1080	417	432	119	538	302	428	258	341	346	644	394	73	1667	1370	94		1133	1142	1081	108	1060	363
374	480	552	317	319		446	181	376	149	251	151	138	353		1584	1123	51		1030	495	896	59	720	272
295	380	485	241	244		410	114	168	69	147	100	95	146		1202	987			961	283	753		637	201
206	295	382	165	87		365	71	138		106	72	72	96		1136	904			810	50	608		330	126
155	209	295	121			228		105		73			67		1057	775			678		480		136	86
120	159	216	85			168									969	666			503		267		58	54
75	130	139				147									830	540			281		229			
	86	86				113									694	472			242		191			
															666	380			211		121			
															636	341			100		94			
															519	249								
															472	170								
															390	140								
															328	71								
															279									
															191									
															164									
															108									

Referências

Borba, MP (2016) Caracterização de isolados de actinobactérias utilizando BOX-PCR e URP-PCR e purificação de composto bioativo produzido por um isolado de *Streptomyces* sp. Porto Alegre, Brasil, 57p (M.Sc. Dissertation. Instituto de Ciências Básicas da Saúde. UFRGS)

Busti E, Monciardini P, Cavaletti L, Bamonte R, Lazzarini A, Sosio M, Donadio S (2006) Antibiotic-producing ability by representatives of a newly discovered lineage of actinomycetes. *Microbiol* 152(3):675-683.

Chapaval L, Moon, D, Gomes, J, Duarte, F, Tsai, S (2006). Aplicação da técnica de REP - PCR no rastreamento de *Staphylococcus aureus* em sala de ordenha, para o monitoramento da qualidade do leite. *Brazilian J Vet Res and Animal Science* 43(3), 309-320.

Cheah YK, Lee LH, Chieng CYC, Wong VL (2015) Isolation, identification and screening of Actinobacteria in volcanic soil of Deception Island (the Antarctic) for antimicrobial metabolites. *Pol Polar Res* 36(1):67-78.

Demain, AL (2013) Importance of microbial natural products and the need to revitalize their discovery. *J Ind Microbiol Biotechnol* 41(2):185-201.

Diminic J, Starcevic A, Lisfi M, Baranasic D, Gacesa R, Hranueli D, Long PF, Cullum J, Zucko J (2013) Evolutionary concepts in natural products discovery: what actinomycetes have taught us. *J Ind Microbiol Biotechnol* 41(2):211-217

Korvin D, Graydon C, McNeil L, Mroczek M (2014) Banding profile of Rep-PCR experiments differs with varying extension times and annealing temperatures. *JEMI* 18:146–149.

Lipman LJA, A. de Nijs, Lam TJGM, Gaastra W (1995) Identification of *Escherichia coli* strains from cows with clinical mastitis by serotyping and DNA polymorphism patterns with REP and ERIC primers. *Vet Microbiol* 43:13–19.

Martin B, Humbert O, Camara M, Guenzi E, Walker J, Mitchell T, Andrew P, Prudhomme M, Alloing G, Hakenbeck R, Morrison DA, Boulnois GJ, Claverys JP (1992) A highly conserved repeated DNA element located in the chromosome of *Streptococcus pneumoniae*. *Nucl Ac Res.* 20(13):3479-3843.

Martin FH, Castro MM, Aboul-ela F, Tinoco I (1985) Base pairing involving deoxyinosine: implications for probe design. *Nucl Ac Res.* 13(24):8927-8938.

Michelim L, Muller G, Zacaria J, Delamare APL, da Costa SOP, Echeverrigaray S (2008) Comparison of PCR-Based Molecular Markers for the Characterization of *Proteus mirabilis* Clinical Isolates. *Braz J Inf Dis.* 12(5):423-29.

Morgan F. Antarctic Soils. (2018) Disponível em: <http://www.landcareresearch.co.nz/science/soils-and-landscapes/antarctic-soils> Acesso em 07 de junho de 2018.

Liu R, Deng Z, Liu T (2018) *Streptomyces* species: Ideal chassis for natural product discovery and overproduction. *Metabolic Engineering.* 10.1016/j.ymben.2018.05.015.

Sadowsky, MJ, HUR, H (1998) Use of Endogenous Repeated Sequences to Fingerprint Bacterial Genomic DNA. *Bacterial Genomes* 399-413

Stern MJ, Ames GF-L, Smith NH, Robinson EC, Higgins CF (1984) Repetitive Extragenic Palindromic Sequences: A Major Component of the Bacterial Genome. *Cell.* 34:1015-26.

Yang A, Yen C (2012) PCR optimization of BOX-A1R PCR for microbial source tracking of *Escherichia coli* in waterways. *J. Exp. Immunol.* 16:85-89.

Anexos

Anexo 1: Instruções para publicação



ISSN 1517-8382 *versão impressa*
ISSN 1678-4405 *versão online*

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

- [Escopo da revista](#)
- [Submissão de um artigo](#)
- [Publicação do artigo](#)
- [Preparo do artigo](#)

Escopo da revista

A partir do dia 01/01/2015 o Brazilian Journal of Microbiology (BJM) aceitará manuscritos que versem sobre genoma de microrganismo sequenciado recentemente. Eles serão publicados na seção "Genome Announcement". O objetivo desta seção é permitir que autores do sequenciamento informem aos leitores do BJM sobre um genoma que está disponível e qual seria o interesse para a comunidade científica. O publicação não impedirá a futura publicação de um artigo científico completo no BJM ou em outra revista.

Escopo da seção "Genome Announcement" no BJM:

- Os autores da publicação deverão ser os mesmos ou na sua maioria dos conteúdos no depósito da sequência do genoma;
- A sequência do genoma deve estar disponível para o público no DDBJ / EMBL / NCBI dados GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>), no momento do envio do manuscrito para o BJM. O número de acesso válido no GenBank para o genoma, deve ser claramente indicado no manuscrito;
- As sequências completas de plasmídeos circulares serão aceitas sem lacunas;
- As sequências de nucleotídeos que se refere o "announcement", deve cobrir pelo menos 95% do tamanho do genoma esperado para o organismo;
- Serão considerados para publicação depósitos completos feitos no GenBank e gapped cromossomos (scaffolded) do genoma. Para tais depósitos é preferível ter uma anotação funcional.
- O manuscrito enviado para a seção "Genome Announcement" deve conter no máximo 500 palavras no corpo do texto e um resumo de 150 palavras;
- Os autores devem indicar claramente a origem da

- cepa microbiana, a importância de ter sequenciado o genoma e os benefícios que o campo da microbiologia.
- O texto deve conter a metodologia utilizada no sequenciamento, incluindo o número e tamanho das leituras geradas, métodos de montagem utilizado, as medidas tomadas para gerar os scaffolds e para fechar o genoma, quando aplicável. Além disso, informar quais métodos serão utilizados para anotação e curadoria se for o caso.

A revista *Brazilian Journal of Microbiology*, editada pela Sociedade Brasileira de Microbiologia, publica artigos originais, e trabalhos de revisão que cobrem todos os aspectos da Microbiologia. Não são cobradas taxas para publicação de artigos.

As seguintes categorias de artigos são aceitas para publicação no *Brazilian Journal of Microbiology*:

- **Artigos Originais:** reportam resultados científicos originais que ainda não tenham sido publicados em outro periódico;
- **Artigos de Revisão:** abordam temas ligados à microbiologia em geral e de amplo interesse da área.

Seu manuscrito deve ser escrito em inglês **claro e compreensível**.

Se você tiver dúvidas sobre o nível de inglês do seu texto, você pode optar por ter o seu manuscrito editado profissionalmente por um nativo da língua inglesa ou por um serviço de editoração científica **antes da submissão** do seu manuscrito. Todos os serviços devem ser organizados e pagos pelo autor, e o uso de um desses serviços não garante a aceitação ou preferência para publicação do manuscrito. No caso de o autor ser um nativo da língua inglesa, por favor, substituir o certificado de Inglês por uma carta de justificativa.

É um prazer aceitar o seu trabalho para ser publicado na Revista Brasileira de Microbiologia. No entanto, só será publicada uma vez revisada a versão final do texto em Inglês. Por favor, envie o texto revisado e o certificado emitido pelo " American Journal Experts ".

- American Journal Experts: <http://www.JournalExperts.com?rcode=BSM1>

SEÇÕES

Microbiologia Industrial:

Fermentação Bacteriana

- Biossíntese e bioconversão de produtos naturais, como: antibióticos; xenobióticos e macromoléculas produzidas por bactérias.
- Aspectos moleculares de biotecnologia bacteriana.

Fermentação Fúngica

- Biossíntese e bioconversão de produtos naturais, como: antibióticos; xenobióticos e macromoléculas produzidas por fungos.
- Aspectos moleculares de biotecnologia fúngica.

Microbiologia de Alimentos: Tecnologia de Alimentos

- Aplicações de microrganismos (bactérias e fungos) na produção de alimentos.

Segurança e Qualidade dos alimentos

- Doenças de origem alimentar.
- Deterioração de alimentos.
- Ecologia microbiana em alimentos.

Microbiologia Médica: Patogênese Bacteriana

- Bases genéticas, bioquímicas e estruturais da patogênese bacteriana.

Patogenicidade de Fungos

- Bases genéticas, bioquímicas e estruturais da patogênese fúngica.

Microbiologia Clínica: Bacteriologia

- Estudos sobre bactérias de importância médica.

Micologia

- Estudos sobre fungos de importância médica.

Virulogia

- Estudos sobre vírus de importância médica.

Microbiologia Ambiental: Ecologia Microbiana

- Ecologia de grupos microbianos naturais; diversidade microbiana de ambientes naturais, como água, solo, sedimentos e organismos superiores.
- Interações microbianas.

Biotecnologia

- Aspectos ambientais de saúde pública.
- Biodegradação.
- Biorremediação.
- Considerações ambientais para microrganismos geneticamente modificados.

Fisiologia de Fungos

- Bioquímica de fungos, biofísica, metabolismo, estrutura celular, respostas a fatores de estresse, crescimento, diferenciação e outros processos relacionados.

Fisiologia de Bactérias

- Bioquímica de bactérias, biofísica, metabolismo, estrutura celular, respostas a fatores de estresse, crescimento, diferenciação e outros processos relacionados.

Genética e Biologia Molecular de Fungos

- Genética de fungos, biologia molecular, regulação gênica, replicação e reparo de DNA, proteomas e transcriptomas

Genética e Biologia Molecular de Bactérias

- Genética de bactérias, biologia molecular, regulação gênica, replicação e reparo de DNA, proteomas e transcriptomas

Genética e Biologia Molecular de Vírus

- Genética de vírus, biologia molecular, regulação gênica, replicação e reparo de DNA, proteomas e

transcriptomas

Microbiologia Veterinária

- Doenças de animais
- Controle e/ou tratamento de animais
- Diagnóstico de patógenos de animais
- Patógenos veterinários ou zoonóticos

Ensino de Microbiologia

- Estratégias de ensino em microbiologia
- Novas ferramentas de ensino em microbiologia

Submissão de um artigo

Um artigo para ser submetido ao *Brazilian Journal of Microbiology* não deve ter sido previamente publicado (exceto na forma de resumo) nem ter sido submetido em qualquer outro periódico.

As instruções para submissão *online* estão disponíveis neste site.

Todos os autores serão informados por mensagem eletrônica a respeito da submissão eletrônica. A mensagem também questionará se todos os autores concordam com a submissão. Ausência de resposta será considerada como concordância à submissão.

A responsabilidade pela exatidão do conteúdo do manuscrito é de inteira responsabilidade dos autores.

Publicação do artigo

Os artigos são aceitos para publicação após terem sido revisados de forma crítica por pelo menos dois revisores, indicados pelos editores.

As sugestões e recomendações dos revisores e editores serão encaminhadas eletronicamente ao autor para correspondência, o qual deverá retornar o artigo revisado aos editores na data estipulada, pelo sistema *online*. O autor para correspondência deverá explicar ou comentar as alterações introduzidas no texto.

O autor para correspondência receberá uma mensagem

eletrônica sempre que houver alteração do *status* do artigo.

Não é necessário ser associado da Sociedade Brasileira de Microbiologia para submeter artigo para publicação.

Todos os cientistas, brasileiros ou estrangeiros, são convidados a submeterem artigos para publicação.

ÉTICA

O(s) autor(es) devem informar, no texto do artigo, se o projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa de sua Instituição, em consoante à Declaração de Helsinki (<http://www.ufrgs.br/HCPA/gppg/helsin5.htm>). Nos trabalhos experimentais que envolvem animais, as normas estabelecidas no "*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*" (*Institute of Laboratory Animal Resources, National Academy of Sciences, Washington, D. C. 1996*), e os "*Princípios Éticos na Experimentação Animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal*" (COBEA - <http://www.cobea.org.br/index.php?pg=Principios%20eticos>) devem ser respeitados.

Preparo do artigo

O Artigo deverá ser submetido como **um único arquivo em WORD**. Este arquivo deve conter texto, figuras, tabelas, etc. Serão aceitas apenas submissões de artigos redigidos em inglês.

Para **artigos originais**, o arquivo em **WORD** deve conter:

- Título
- Autores e Afiliações
- Resumo (200 a 250 palavras)
- 3 a 5 palavras-chave
- Introdução
- Material e Métodos
- Resultados
- Discussões
- Agradecimentos (opcional)
- Referências

Para **artigos de revisão**, o arquivo em **WORD** deve conter:

- Título
- Título resumido
- Resumo (200 palavras)
- 3 a 5 palavras-chave

- Texto
- Agradecimentos (opcional)
- Referências

Os artigos devem ser digitados com espaço duplo, margens de 3 cm e numerados seqüencialmente. As linhas das páginas do artigo devem ser numeradas. Os editores recomendam que antes da submissão o artigo seja lido de forma crítica por alguém fluente em língua inglesa. Os artigos escritos com inglês de baixa qualidade não serão aceitos.

Artigos Originais e Artigos de revisão deverão conter até, no máximo, 20 páginas, incluindo referências tabelas e figuras.

Abreviaturas e símbolos devem seguir as recomendações da IUPAC-IUB *Comission (Comission on Biochemical Nomenclature, Amendments and Corrections)*. As unidades de medida devem seguir o Sistema Internacional de Unidades.

SUGESTÕES DE REVISORES

Os autores poderão enviar sugestões de revisores para avaliação dos artigos. Deverão constar as seguintes informações: nome; e.mail e Instituição de Origem.

USO DE EXTRATOS DE PLANTAS EM EXPERIMENTOS MICROBIOLÓGICOS

Artigos que apresentarem estudos com extratos de plantas, ou extratos de outras substâncias complexas, serão aceitos apenas após identificação dos compostos.

Os autores podem precisar, ou desejar, fazer uso de serviços de edição de línguas para melhorar a qualidade do inglês e, portanto, a qualidade final do texto. Este tipo de assistência é recomendada antes mesmo da submissão dos artigos ou, no caso de solicitação pelos revisores, antes do artigo ser definitivamente aceito para publicação. Autores que não são nativos de língua inglesa que desejem assistência na escrita em inglês podem considerar as seguintes sugestões:

- American Journal Experts: <http://www.JournalExperts.com?rcode=BSM1>
- Joanne Roberts: joroberts@uol.com.br
- ATO Traduções: www.atotraining.com.br
- Prof. Julian D. Gross, University of Oxford, Oxford Biomedical Editors: julian.gross@pharm.ox.ac.uk
- BioMed Proofreading LLC: <http://www.biomedproofreading.com>

ORGANIZAÇÃO

O **Título** deve ser conciso, não conter abreviações e indicar claramente o tema do artigo.

Expressões como "Effects of", "Influence of", "Study on", etc, devem ser evitadas. Os cuidados na escolha das palavras do título são importantes, pois são usadas em sistemas eletrônicos de busca.

O **Resumo** deve resumir o conteúdo básico do artigo. Ele deve ser representativo do texto. Não deve conter referências, tabelas nem abreviações pouco usuais. São de grande importância, pois serão lidos por muitas pessoas que não têm acesso ao artigo completo.

A **Introdução** deve oferecer informações que possibilitem ao leitor avaliar adequadamente os resultados apresentados no artigo sem que obrigatoriamente tenha que recorrer à literatura corrente. No entanto, a introdução não deve ser uma extensa revisão de literatura. Deve informar claramente as justificativas e os objetivos do artigo.

Os **Materiais e Métodos** devem proporcionar informações suficientes para que outros pesquisadores possam reproduzir o trabalho. A repetição de detalhes de procedimentos que já tenham sido publicados em outros artigos deve ser evitada. Se um método publicado for modificado, tais modificações devem estar claras no artigo. Fontes de reagentes, meios de cultura e equipamentos (empresa, cidade, estado e País) devem ser mencionadas no texto. Nomes que são marcas registradas devem ser claramente indicados. Subtítulos podem deixar este tópico mais fácil de ler e entender.

Os **Resultados** devem, por meio de texto, tabela e/ou figuras dar os resultados dos experimentos. Se o item **Discussão** for incluído, evite interpretações extensas dos resultados, pois isto deverá ser feito na discussão. Se os **Resultados e Discussões** forem redigidos concomitantemente, então os resultados devem ser discutidos no local mais apropriado do texto. Tabelas e figuras devem ser numeradas em algarismos arábicos. Todas as tabelas e figuras devem ser mencionadas no texto.

O local aproximado das tabelas e figuras no texto deve ser indicado.

O item **Discussão** deve discutir os resultados em função da literatura citada.

As **Referências** devem ser redigidas em ordem alfabética e começar pelo último nome do primeiro autor. Todos os autores devem ser citados. As citações no texto devem ser escritas pelo último nome do primeiro autor, seguido pelo ano de publicação. Como exemplo, tem-se: "... while *Silva and Pereira (1987) observed that resistance depended on soil density*" ou "*It was observed that resistance depended on soil density (Silva and Pereira, 1987).*" Para a citação de dois ou mais artigos do mesmo autor, liste em ordem cronológica sendo que os anos devem ser separados por vírgula (exemplo: Freire-Maia et al., 1966a, 1966b, 2000; Hene 2010; Padonou et al., 2012). Os nomes dos periódicos devem ser abreviados de acordo com o *BIOSIS*. Todas as referências incluídas na lista final devem ter sido citadas no texto e todas as referências mencionadas no texto devem aparecer na lista final.

Exemplos:

- a. **Artigos de Periódicos**
Brito DVD, Oliveira EJ, Darini ALC, Abdalla VOS, Gontijo-Filho PP (2006) Outbreaks associated to bloodstream infections with *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococcus* spp in premature neonates in a university hospital from Brazil. *Braz J Microbiol*37:101-107.
- b. **Artigos ou Capítulos de Livro**
Franco BDGM, Landgraf M, Destro MT, Gelli DS, (2003) Foodborne diseases in Southern South America. *In: Miliotis, M.D., Bier, J.W.(eds). International Handbook of Foodborne Pathogens. Marcel Dekker, New York, USA, 733-743.*
- c. **Livros**
Montville TJ, Matthews KR (2005) Food Microbiology - an introduction. ASM Press, Washington, D.C.
- d. **Patentes**
Hussong RV, Marth EH, Vakaleris DG. January 1964. Manufacture of cottage cheese. U.S. Pat. 3, 117, 870.
- e. **Teses e Dissertações**
Santos MVB (2005) O papel dos anticorpos contra os componentes da parede celular de *Paracoccidioides brasiliensis* na evolução da doença experimental. São Paulo, Brasil, 110p. (M.Sc. Dissertation. Instituto de Ciências Biomédicas. USP).
- f. **Comunicações em Eventos (Simpósios, Conferências, etc)**
Silveira TS, Martins JL, Abreu FA, Rosado AS, Lins UGC (2005) Ecology of magnetotactic multicellular organisms in microcosms. XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia, Santos, SP, p. 272.
- g. **Publicações na Web**
Abdullah MAF, Valaitis AP, Dean DH (2006) Identification of a *Bacillus thuringiensis* Cry11 Ba toxin-binding aminopeptidase from the mosquito *Anopheles quadrimaculatus*. *BMC Biochemistry*. <http://www.biomedcentral.com/1471-2091/7/16>
- h. **Webpage**
U.S. Food and Drug Administration. 2006. Enjoying Homemade Ice Cream without the Risk of *Salmonella* Infection. Available at: <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/fs-eggs5.html>. Accessed 26 May 2006.

As citações do tipo "personal communication" ou "unpublished data" devem ser evitadas, embora se reconheçam que, eventualmente, elas possam ser usadas. Nestes casos, elas devem ser citadas no texto e não na lista final de referências. As referências que consistem de artigos que foram "aceitos para publicação" ou "no prelo" são aceitáveis. No entanto, as referências dos artigos que são "submetidos" ou "em preparação" não são aceitas.

AGRADECIMENTOS: Esta seção é opcional. Ela reconhece a assistência financeira e pessoal recebida para execução do trabalho.

TABELAS: devem ser inseridas no texto de acordo com que são citadas e numeradas seqüencialmente por algarismos arábicos. O título deve ser colocado acima da tabela e deve ser curto, porém representativo, com descrição completa da informação contida na tabela. Cabeçalhos e rodapés devem ser concisos, com colunas e linhas cuidadosamente centralizadas. Devem ter qualidade suficiente para garantir boa reprodução. Por favor, abra o link abaixo para ver os requisitos necessários para se obter a resolução adequada.

(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/about/image_quality_table.html)

FIGURAS: devem ser inseridas no texto de acordo com que são citadas e numeradas seqüencialmente por algarismos arábicos. Os dados que foram apresentados em tabelas não devem ser repetidos na forma de figuras. As legendas devem ser colocadas abaixo das figuras. Devem ter qualidade suficiente para garantir boa reprodução. Por favor, abra o link abaixo para ver os requisitos necessários para se obter a resolução adequada.

(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/about/image_quality_table.html)

FOTOGRAFIAS: Devem ter qualidade suficiente para garantir boa reprodução. Por favor, abra o link abaixo para ver os requisitos necessários para se obter a resolução adequada.

(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/about/image_quality_table.html)

Conflitos de Interesses

É política do periódico *Brazilian Journal of Microbiology* que qualquer pessoa envolvida no processo de publicação (autores, revisores, membros do corpo editorial e assistentes) deve estar isenta de conflitos de interesses que possam influenciar negativamente o parecer, a objetividade e a lealdade a seus autores. O BJM reconhece que qualquer conflito de interesse detectado deve ser prontamente comunicado e rapidamente resolvido. Conflitos de interesses em publicações podem ser definidos como condições nas quais um indivíduo possui conflito ou competição de interesses que podem resultar em decisões editoriais tendenciosas. Os conflitos de interesses podem ser potenciais, percebidos ou factuais. Considerações pessoais, políticas, financeiras, acadêmicas ou religiosas podem afetar a objetividade de diferentes formas.

DIREITOS AUTORAIS

Os autores dos manuscritos aprovados deverão encaminhar para *BJM* (Fax: 55 11-3037-7095; bjm@sbmicrobiologia.org.br), previamente à publicação, a declaração de transferência de direitos autorais, assinada por todos os co-autores (ver formulário abaixo) ou por pelo menos um dos autores que concorda em informar os outros autores.

Transferência de "Direitos Autorais"

"O(s) autor(es) abaixo assinado(s) afirmam que o artigo é original, que não infringe os direitos autorais ou qualquer outro direito de propriedade de terceiros, que não foi enviado para publicação em nenhuma outra revista e que não foi publicado anteriormente. O(s) autor(es) confirma(m) que a versão final do manuscrito foi revisada e aprovada por ele(s). Todos os manuscritos publicados tornam-se propriedade permanente do *Brazilian Journal of Microbiology* e não podem ser publicados sem o consentimento por escrito de seus Editores."

Artigo nº. _____

Título do Artigo:

"

"

Nome(s) do(s) Autor(es)

Assinatura(s)

Data: ____/____/____

[\[Home\]](#) [\[Sobre esta revista\]](#) [\[Corpo editorial\]](#) [\[Assinaturas\]](#)



Todo o conteúdo do periódico, exceto onde está identificado, está licenciado sob uma [Licença Creative Commons](#)

SBM
USP- ICB III - Dep. de Microbiologia
Sociedade Brasileira de Microbiologia
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415
Cidade Universitária
05508-900 São Paulo SP - Brasil
Ramal USP 7979
Tel. / Fax: (55 11) 3813-9647 ou 3037-7095



bjm@sbmicrobiologia.org.br