



ISSN 2237-1672 V SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA APLICADA

ANAIS DO V SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA APLICADA

Realizado de 28 a 30 de Setembro de 2011

Realização :



PPGMAA

Apoio:



Editorial:

O referido Simpósio vem sendo realizado anualmente desde 2007, abrangendo o público de graduandos e pós-graduandos, e cada vez mais profissionais da área da Microbiologia. A organização fica a cargo dos alunos do PPG Microbiologia Agrícola e do Ambiente.

Em 2010, com o apoio da PROPG (Pró-reitoria de Pós-graduação – UFRGS) foi possível realizar o I Encontro Latino-Americano de Microbiologia Aplicada, que contou com renomados palestrantes da Argentina, Uruguai e Bolívia, proporcionando um intercâmbio científico e cultural. Além de aproximar as linhas de pesquisas entre os países vizinhos.

A edição do V Simpósio Brasileiro de Microbiologia contou com 152 participantes provindos de diversos estados brasileiros. Durante o evento foram apresentados 97 trabalhos na forma de pôster, nas seguintes áreas temáticas: Microbiologia Agrícola, Microbiologia Alimentos, Microbiologia Ambiental, Microbiologia Clínica e Microbiologia Industrial.

A comissão organizadora é citada em ordem alfabética: Ana Bárbara Hahn, Cristiane Barbosa, Cristina Spadari, Francielle Bucker, Ilana Hendira Neumann Boeira, Juciana Cazarolli, Juliana Comerlato, Letícia Tramontini, Letícia Otton, Manuela Bruxel, Natália Canal, Priscila Pauly Ribas, Roberta Fontoura, Simone Pieniz, Themis Collares, Tiane Martin de Moura, sob a coordenação de Fátima Menezes Bento e Sueli Teresinha Van Der Sand.



Coordenadora PPGMAA Sueli T. Van Der Sand

COMISSÃO CIENTÍFICA

Dr. Alexandre Meneghello Fuentefria

Dra. Amanda de Souza da Rotta

Dr. Amauri Brada Simonetti

Dra. Ana Cláudia Franco

Dra. Ana Paula Guedes Frazzon

Dr. Enilson Luiz Saccol de Sá

Dra. Fátima Menezes Bento

Dra. Gertrudes Corção

Dr. José Carlos Germani

Dra. Marilise Brittes Rott

Dra. Marisa da Costa

Dra. Onilda Santos da Silva

Dra. Patrícia Valente da Silva

Dra. Sueli Teresinha Van Der Sand.

ISSN 2237-1672 V SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA APLICADA

RESUMOS EM ORDEM ALFABÉTICA

ALTERNATIVA SUSTENTÁVEL: TÉCNICA DE CLC E POTENCIAL ELICITOR DE BIOFERTILIZANTES

Artuzo, I. P^{1*}; Corrêa, G. S¹; Dias, K.O.T¹; Sesti, L.F.C.²

Este estudo tem como objetivo mostrar o potencial dos biofertilizantes líquidos como agentes elicitores de resistência sistêmica induzida em plantas, substituindo os agrotóxicos de maneira alternativa e sustentável sem causar danos nas mesmas. A resistência induzida envolve a ativação do sistema de autodefesa da planta, mecanismos latentes de resistência, que pode ser obtida pelo tratamento com agentes elicitores bióticos, como microrganismos viáveis ou inativados ou por agentes elicitores abióticos. O entendimento das propriedades antimicrobianas e/ ou elicitoras dos compostos secundários presentes nos biofertilizantes podem contribuir para a adoção de novas práticas de controle de pragas e doenças nas plantas. É importante ressaltar o estudo do CLC (processo de compostagem líquida contínua) e como os biofertilizantes são produzidos a partir de tal técnica, para que haja aperfeiçoamento. Diversos são os materiais utilizados no CLC, como por exemplo: esterco fresco de gado, de caprinos e ovinos (inoculante microbiano), composto orgânico enriquecido com minerais, carboidratos, proteínas, vitaminas e ácidos orgânicos. A ação dos biofertilizantes de proteção na planta é feita através do stress ou inoculação primária, em direção aos tecidos mais distantes, promovem-se reações sistêmicas de defesa. Os biofertilizantes, por serem ricos em diversidade biológica de microrganismos (bactérias, leveduras, fungos filamentosos, actinomicetos e protozoários entre outros) possuem grande atividade bioativa desencadeando tanto os mecanismos de Resistência Sistêmica Induzida (RSI) e como os de Resistência sistêmica Adquirida. Conclusão: Mais pesquisas nessa área devem ser realizados afim de que os biofertilizantes feitos a partir da técnica de CLC sejam seguros e tragam benefícios para o agricultor, para as plantas e para os consumidores de alimentos produzidos com o biofertilizante e que essa alternativa chegue o mais rapidamente para os agricultores, prezando a saúde e sustentabilidade.

PALAVRAS-CHAVE: biofertilizantes, microrganismos, elicitores, benefícios, sustentabilidade.

^{1*} Aluna do Curso de Biomedicina da ULBRA – Cachoeira do Sul, RS iartuzo@yahoo.com.br;

¹ Alunas do Curso de Biomedicina da ULBRA – Cachoeira do Sul, RS;

² Professor Orientador, Biomédico, Professor e Coordenador do Curso de Biomedicina - ULBRA Cachoeira do Sul, Esp. e Mestre em Genética e Biologia Molecular.

^{1*} Aluna do Curso de Biomedicina da ULBRA – Cachoeira do Sul, RS iartuzo@yahoo.com.br;

¹ Alunas do Curso de Biomedicina da ULBRA – Cachoeira do Sul, RS;

² Professor Orientador, Biomédico, Professor e Coordenador do Curso de Biomedicina - ULBRA Cachoeira do Sul, Esp. e Mestre em Genética e Biologia Molecular.

AMOEBICIDAL ACTIVITY AND CHEMICAL COMPOSITION OF ESSENTIAL OIL OF *CROTON PALIDULUS* AND *CROTON ISABELII* (EUPHORBIACEAE)

Vunda, S.L.L¹; Sauter, I.P^{2*}; Apel, M.A¹; Cibulski, S.P³; Roehe, P.M³; Bordignon, S¹; von Poser, G.L¹; Rott, M.B^{2,4}.

RESUMO: *Acanthamoeba* spp. are free-living protozoan widely distributed in the environment, occurring in vegetative trophozoite and resistance cyst stages during their life cycle. *Acanthamoeba* spp. can cause two well-recognized diseases: *Acanthamoeba* keratitis and *Acanthamoeba* granulomatous encephalitis. *Acanthamoeba* keratitis has been recognized as a significant ocular microbial infection, being an acute inflammation of the cornea that can result in blindness when not properly treated in the initial stage. Early diagnosis followed by adequate treatment is indispensable to patients presenting such disease. The infection is difficult to cure because the treatment must be maintained during a long period. Therefore, more effective drugs against *Acanthamoeba* spp. must be developed and medicinal plants can be useful in this search. Plants of the genus *Croton* (Euphorbiaceae) are found in Rio Grande do Sul and have never been studied as amoebicidal against these protozoan. In this work, we investigated the chemical composition of essential oil of *C. palidulus* and *C. isabelii* and assessed its toxic activity. The leaves of the fresh plants were submitted to hydrodistillation and their essential oils were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). For the assessment of the amoebicidal activity concentrations of 10, 5, 2.5, 1 and 0.5 mg/mL were tested. *C. palidulus* at the concentrations of 10, 5 and 2.5 mg/mL was lethal to 100% of *Acanthamoeba polyphaga* trophozoites in 24 h while at the same condition the *C. isabelii* was unable to kill the trophozoites. The essential oils showed cytotoxic activity against mammalian cells by MTT assay. For that reason further studies with the major component of the essential oil has to be carried out.

KEYWORDS: *Acanthamoeba*, Keratitis, *Croton palidulus*, *Croton isabelii*.

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Av. Ipiranga, 2752, 90610-000 Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

² Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Rua Sarmento Leite, 500, 90050-170 Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil * ipsauter@gmail.com

³ Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 9090, 91540-000 Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

⁴ Departamento de Microbiologia, Setor de Parasitologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, UFRGS, Rua Sarmento Leite, 500, 90050-170 Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

ANÁLISE DA FORMAÇÃO DE BIOFILME POR ISOLADOS CLÍNICOS E CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA DO GENE *WspR* de *Acinetobacter* sp.

Bierhals, C.G.¹; Frazzon, J.²; Frazzon, A.P.G.¹

RESUMO: Nas últimas décadas *Acinetobacter* sp. emergiu como um importante patógeno nosocomial oportunista, causando infecções no trato respiratório, trato urinário e em feridas os quais podem progredir para septicemia. Inúmeros surtos de infecções hospitalares envolvendo *Acinetobacter baumannii* multi-resistentes foram relatados em diversas partes do mundo. A habilidade potencial de *A. baumannii* formar biofilme pode explicar sua proeminente resistência a antibióticos e propriedades de sobrevivência no ambiente hospitalar. Analisando o genoma de *A. baumannii* verificou-se a presença da proteína WspR, uma diguanilato ciclase com domínio GGDEF, a qual forma um mensageiro secundário c-di-GMP que está envolvido no processo de formação de biofilme bacteriano e em mecanismos de virulência. No presente trabalho avaliamos a capacidade de duas amostras clínicas de *Acinetobacter* sp. obtidas em hospitais de Porto Alegre, RS, formarem biofilme utilizando o protocolo de detecção de biofilme em microplaca pelo método de cristal violeta descrito por Schmidt (2009) e se essas possuíam o gene *wspR* pela técnica de PCR. Observamos que as amostras foram capazes de formar biofilme em superfície plástica e ambas apresentam o gene *wspR*. Quando inoculados estaticamente em meio LB com crescentes concentrações de glicose por 24 horas a 37°C e 25°C, a maior produção de biofilme (de moderadamente a fortes formadoras) ocorreu na maior suplementação de glicose (LB + 1% glicose) em ambas as temperaturas. Estes resultados demonstram que as amostras clínicas de *Acinetobacter* sp. são capazes de formar biofilme e um possível indício que a mudança da vida planctônica para a vida sésil possa estar relacionada com a proteína WspR.

PALAVRAS-CHAVE: *Acinetobacter* sp., biofilme, glicose, WspR, c-di-GMP.

¹ PPGMAA, ICBS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

*- chrisbierhals@hotmail.com

² ICTA – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

ANÁLISE DA PERFORMANCE DO PAINEL VANCOMICINA DA PROBAC[®] NA DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (MIC) À VANCOMICINA EM ISOLADOS CLÍNICOS DE MRSA DE PORTO ALEGRE

Rossatto, F.C.P¹; Proença, L.A¹; Silva, M.I.F¹; Caierão, J¹; Becker, A.P²; d'Azevedo, P.A¹

RESUMO: *Staphylococcus aureus* metilina resistente (MRSA) é um dos principais microorganismos responsáveis pelas Infecções Relacionadas à Assistência a Saúde (IRAS). Sua ação multiresistente combinada ao uso indiscriminado de antimicrobianos resulta, atualmente, num grande problema de Saúde Pública, visto que casos de reduzida suscetibilidade à vancomicina – terapêutica de escolha para isolados de MRSA – têm sido reportados nos últimos anos. A avaliação da suscetibilidade é realizada através da determinação da concentração inibitória mínima (MIC), conforme preconiza o CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). O trabalho apresenta como objetivo analisar uma nova metodologia comercial, painel de vancomicina PROBAC[®], comparando-a com o método padrão-ouro diluição em caldo ou microdiluição (MD). Estudo experimental com um total de 50 isolados MRSA avaliados, obtidos no período de 2007 a 2010 na cidade de Porto Alegre. A microdiluição foi determinada segundo as recomendações do CLSI (2010), e o painel de vancomicina PROBAC[®] seguiu as instruções do fabricante. A maioria dos isolados teve MIC na MD de 1 µg/mL (58,0%) e 0,5 µg/mL (38,0%). No painel de vancomicina, MICs mais prevalentes também foram 1 µg/mL (28%) e 0,5 µg/mL (66%). A concordância entre as MIC do painel de vancomicina[®] e MD ocorreu em 46,0% dos casos. Microdiluição teve 46,0% dos resultados da MIC maiores que PROBAC[®] sendo 1 (87,0%) a 2 (13,0%) vezes maiores. Apenas 8% dos resultados da MD foram inferiores ao do painel de vancomicina. A sensibilidade à vancomicina foi detectada em todos os MRSA analisados. O painel de vancomicina da PROBAC[®] apresentou excelente sensibilidade e especificidade quando comparada com a metodologia padrão-ouro microdiluição. Sua utilização em conjunto com esta auxilia na investigação de MRSA com reduzida suscetibilidade à vancomicina, todavia estudos com isolados mais resistentes seriam necessários para confirmar a eficácia da metodologia.

PALAVRAS-CHAVE: *Staphylococcus aureus* metilina resistente, MIC, vancomicina, PROBAC, microdiluição.

¹Laboratório de Cocos Gram-Positivos – UFCSPA, RS.

²Hospital Mãe de Deus – Porto Alegre, RS.

*Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre – UFCSPA.

E-mail: nanda_cpr1@hotmail.com

ANÁLISE DE LEVEDURAS FERMENTADORAS PARA OTIMIZAÇÃO DE SUA REUTILIZAÇÃO NA PRODUÇÃO DE CERVEJAS ESPECIAIS

Vilches, P.^{1*}; Caon, G.²; Medina-Silva, R³

RESUMO: Com a finalidade de redução de custos de produção, a indústria cervejeira necessita otimizar a reutilização das suas leveduras fermentadoras. Atualmente a reutilização é feita a partir de uma análise pessoal empírica, sem levar em conta a qualidade das cepas. Este estudo tem o objetivo de levantar dados quantitativos a respeito da fisiologia e viabilidade de alguns fermentos utilizados na produção de cervejas especiais após reutilizações seqüenciais, com a finalidade de elaborar protocolos para a sua reutilização que visem à diminuição dos custos de produção e garantam a qualidade do produto final. Para tal, são realizadas coletas mensais de amostras de cerveja enriquecidas com um dos três diferentes fermentos (S-33, S-04 e T-48) utilizados por uma empresa de produção de cervejas especiais de Porto Alegre (RS). Para avaliar a viabilidade celular dos fermentos em cada utilização, estes são cultivados em caldo YPD e semeados em ágar-YPD para contagem de colônias e estimativa de UFC/ml. A análise da capacidade fermentativa é realizada através da verificação dos níveis de produção de CO₂ (cultivo em caldo YPD com tubo de Durham) dos fermentos de cada amostra. Por fim, as colônias oriundas do teste de viabilidade celular são coradas com um top-agar contendo cloreto de trifênil tetrazólio (TTC), para a contagem das colônias com células petite (exclusivamente fermentadoras). Nesta etapa inicial do estudo foram analisados os resultados levantados após a primeira utilização dos três fermentos. Todos eles demonstraram alta viabilidade celular e capacidade de produzir grande quantidade de CO₂. O fermento S-33 apresentou alta frequência de colônias petite enquanto os fermentos T-48 e S-04 não apresentam nenhuma colônia petite. Estes resultados indicam que após a primeira utilização os três fermentos parecem manter-se adequados para uma próxima reutilização e que há uma variabilidade entre eles na capacidade de formar células exclusivamente fermentadoras (petites).

PALAVRAS-CHAVE: indústria cervejeira, fermento, reutilização

^{1*} Graduação em Ciências Biológicas, Faculdade de Biociências, Laboratório de Imunologia e Microbiologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS; patricia.vilches@acad.pucrs.br

² Colaborador - Anner Cervejas Especiais - Porto Alegre – Brasil;

³ Faculdade de Biociências, Laboratório de Imunologia e Microbiologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

ANÁLISE ELETROFORÉTICA ENTRE ISOLADOS MONOSPÓRICOS E POLISPÓRICOS DE *Bipolaris sorokiniana*

Mann, B.M.^{1*}, Godoy, A.²; Feltrin, T¹, Frazzon, A.P.G.¹, Van Der Sand, S.T.¹

RESUMO: *Bipolaris sorokiniana* é um fungo fitopatogênico que infecta as culturas de trigo, cevada, triticali e demais gramíneas ocasionando moléstias como a podridão comum da raiz, carvão do nó, ponta preta dos grãos e mancha marrom. No Brasil, este fitopatógeno encontra-se disseminado em todas as regiões tritícolas, ocasionando grandes perdas econômicas na cultura deste cereal. A identificação deste fitopatógeno é dificultada pela grande variabilidade fisiológica e morfológica que o mesmo apresenta. A análise de isoenzimas vem sendo utilizada como uma ferramenta no diagnóstico do fitopatógeno em complemento a análise morfológica. O presente estudo teve por objetivo caracterizar isolados monospóricos e polispóricos do fitopatógeno, provenientes de diferentes regiões do Brasil e coleções Internacionais, utilizando seis sistemas enzimáticos (álcool desidrogenase, glicose desidrogenase, glutamato desidrogenase, glicerol 3 fosfato, superóxido dismutase e peroxidase). Para tanto, 25 isolados polispóricos e 50 monospóricos foram crescidos em caldo batata dextrose (BD) e mantidos em estufa a 28^o C por 7 dias. Após o micélio foi filtrado e macerado com nitrogênio líquido, e a ele acrescido 1ml de tampão de extração Tris- HCl 0,6173 M pH 6,8 e mantido sob refrigeração durante 12 horas. Os extratos foram aplicados em gel de poli(acrilamida em sistemas descontínuos (10% e 4,5%) submetidos a eletroforese durante 4 horas e posteriormente os sistemas isoenzimáticos foram revelados. Dentre os isolados estudados, quando submetidos aos sistemas isoenzimáticos superóxido dismutase, peroxidase, glicose desidrogenase e álcool desidrogenase exibiram perfis monomórficos. A enzima glutamato desidrogenase apresentou perfil monomórfico com menor intensidade para os isolados do Brasil quando comparados com isolados internacionais e para a isoenzima Glicerol 3 fosfato não houve presença de bandas. Os resultados não apontam diferenças no perfil entre isolados polispóricos e monospóricos oriundos da mesma cepa, apenas menor intensidade de bandas entre isolados do Brasil e de coleções internacionais.

Palavras-chave: *Bipolaris sorokiniana*, isoenzimas, monospóricos, polispóricos

¹Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde(ICBS), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). michelemann@hotmail.com.br

² Pontifícia Universidade do Rio Grande do Sul (PUCRS)

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO LEITE COMERCIALIZADO EM FEIRAS LIVRES NA CIDADE DE CATALÃO, GO

Rocha, A. O. T.^{*(1)}; Pereira, M. C. C.⁽¹⁾; Leão, L.⁽¹⁾; Santos, A. L.⁽¹⁾; Silva, J. A.⁽²⁾; Barros, J. J. C.⁽¹⁾

RESUMO: No leite fluido encontram-se dissolvidos carboidratos, lipídeos, proteínas, sais minerais e vitaminas, fato que o torna um ambiente propício à proliferação de micro-organismos patogênicos. Dessa forma, é imprescindível o tratamento térmico desse produto antes da sua ingestão. Todavia, em algumas cidades do interior de Goiás, ainda é comum a comercialização do leite *in natura* em feiras livres e mercearias. O objetivo desse estudo foi avaliar amostras de leite *in natura* comercializadas em feiras livres na cidade de Catalão - GO. Foram coletadas 5 amostras de leite *in natura* de 4 produtores ("A", "B", "C" e "D"), perfazendo um total de 20 amostras. Essas foram acondicionadas em caixas isotérmicas e transportadas ao Laboratório de Ensino e Pesquisa em Biotecnologia da Universidade Federal de Goiás, Campus Catalão, onde foram avaliadas quanto aos coliformes termotolerantes, bactérias heterotróficas, psicotrófilos, proteolíticos e *Staphylococcus* coagulase positiva, sendo os resultados expressos em Unidades Formadoras de Colônias por mililitro da amostra (UFC.mL⁻¹). Após análise, foi possível observar que a amostra do produtor "C" apresentou maior escore médio para bactérias heterotróficas, psicotrófilos e proteolíticas com 1,05x10⁵ UFC.mL⁻¹, 3,00x10⁴ UFC.mL⁻¹ e 5,01x10⁴ UFC.mL⁻¹, respectivamente. As amostras dos produtores "B" e "A" apresentaram maior valor médio para coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positiva, com 6,26x10⁴ UFC.mL⁻¹ e 3,47x10³ UFC.mL⁻¹, nessa ordem. Face aos resultados apresentados, é notória a necessidade de fiscalização por parte dos órgãos competentes quanto as Boas Práticas de Higiene na obtenção dessa matéria-prima incluindo aspectos como saúde humana do manipulador, sanidade animal, adequada refrigeração do produto ordenhado, e também a implementação de programas regionais de auxílio aos produtores leiteiros.

PALAVRAS-CHAVE: leite *in natura*, qualidade sanitária, segurança alimentar.

⁽¹⁾ Universidade Federal de Goiás - Campus Catalão.

*Universidade Federal de Goiás - Campus Catalão. E-mail: adriana_terra31@yahoo.com.br

⁽²⁾ Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP - São José do Rio Preto - SP.

ANÁLOGOS DE GENES DE RESISTÊNCIA (RGAs) EM DIFERENTES PERÍODOS DE INOCULAÇÃO DE *Colletotrichum gloeosporioides* EM CULTIVARES GALA (SUSCETIVEL) E FUJI (RESISTENTE).

Silva, S.W.¹; Dantas, A.C.M.²; Junkes, C.F.O.^{2*}; Boneti, J.I.³.

RESUMO: O *Colletotrichum gloeosporioides*, causador da “Mancha Foliar da Gala” (MGF), é um dos mais importantes patógenos da malicultura no Sul do Brasil, afetando as cultivares do grupo “*Golden Delicious*”. Os danos são oriundos da queda precoce das folhas e deformações nos frutos, podendo levar a perda de toda produção do ano e redução no ano seguinte. O uso de biotecnologia permite um avanço significativo no desenvolvimento de novas variedades resistentes a essa doença. Os RGAs contêm segmentos bem conservados que codificam aminoácidos inseridos em domínios de proteínas de resistência. As classes de RGAs estão relacionadas aos diferentes domínios que as caracterizam, podendo estar arranjados da seguinte forma: NBS-LRR (*nucleotidebinding site-leucine rich repeat*), LRR-TM-PK, sendo o TM representante do domínio transmembrana, e o PK correspondente a proteínas quinase - serina/treonina. O objetivo do trabalho foi amplificar RGAs expressas ou não, utilizando iniciadores degenerados por RT-PCR. 12 iniciadores degenerados foram desenhados a partir dos produtos obtidos de bibliotecas genômicas de maçeira dos motivos P-loop, GLPL e RNBS-D do domínio NBS-LRR. RNA total das cv. Gala (S) e Fuji (R) inoculadas em diferentes períodos de tempo (3, 6, 12, 24 e 48 h, sendo 0 h testemunha) com o isolado SJ197 do fungo *C. gloeosporioides* foi extraído pelo método *Trizol* conforme indicação do fabricante. Para cada amostra foi realizada uma reação de RT-PCR. Três iniciadores degenerados amplificaram RGAs de regiões dos motivos Kinase, GLPL - C-terminal, P-loop-GKTT, GLPL - non TIR em *Arabidopsis*. No mesmo grupo foram mapeados marcadores RGAs para resistência a MFG. Esses dados revelam que os genes de resistência são altamente conservados entre espécies de plantas. A exploração da variabilidade genética em cv. Gala e Fuji visando à resistência a doenças permitiu uma maior compreensão sobre os RGAs podendo esses ser utilizados para o melhoramento das cultivares do grupo “*Golden Delicious*”.

PALAVRAS-CHAVE: *Colletotrichum gloeosporioides*, RGAs, Biotecnologia.

¹Engenheiro de Bioprocessos e Biotecnologia, Porto Alegre, RS.

²Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, UERGS, Bento Gonçalves, RS. e-mail: camila-junkes@uergs.edu.br

⁴Laboratório de Fitopatologia, Estação Experimental da EPAGRI, São Joaquim, SC.

APLICAÇÃO DO LICOR PIROLENHOSO EM DEJETOS DE SUÍNOS

Chiamenti, L.¹; Fratta, L. X. S.²; Kreutz, O. C.³; Suyenaga, E. S.³; Moura, A. B. D.³; Picoli, S. U.³

RESUMO: Um dos maiores problemas da suinocultura é a grande quantidade de dejetos produzidos diariamente numa área reduzida, sendo considerada atividade de grande potencial poluidor. Visando este problema, a aplicação do licor pirolenhoso, um líquido obtido através da condensação da fumaça na produção do carvão vegetal, em fezes suínas busca a diminuição do impacto ambiental gerado por este tipo de dejetos. Determinar a concentração inibitória mínima (CIM) de licor pirolenhoso frente a cepas bacterianas isoladas de fezes suínas (*E. coli* e *Proteus* sp.); aplicar o licor pirolenhoso em fezes suínas segundo a CIM determinada previamente; traçar uma curva de crescimento das bactérias (*E. coli* e bactérias mesófilas totais) nas fezes misturadas ao licor. Realizou-se estudo experimental. Fezes de suínos foram semeadas em Agar SS e Agar McConkey para isolamento e identificação das bactérias presentes. Posteriormente, as bactérias foram testadas através da técnica de CIM por macrodiluição em caldo Mueller Hinton. Num terceiro momento, aplicou-se a concentração de licor pirolenhoso determinada previamente em 1 kg de fezes em condições ambientais seguida de coletas às 0h, 4h, 8h, 11h e 24h da aplicação do licor. Nas fezes foram identificadas 21 bactérias, sendo 19 (90.48%) *Escherichia coli* e 2 (9.52%) *Proteus* sp. A CIM frente estas bactérias foi equivalente a 3.125% de pirolenhoso. Ao aplicar 3% do licor nas fezes em condições ambientais, *E. coli* apresentou uma redução no número de unidades formadoras de colônias (UFC) enquanto as bactérias mesófilas totais tiveram seus índices aumentados. Constatou-se a ação bacteriostática com uso de 3% do licor pirolenhoso (equivalente à CIM), sendo importante, ainda, determinar a concentração bactericida mínima (CBM). O futuro emprego do licor como adjuvante no controle da carga bacteriana em fezes de suínos se dará de forma eficaz e não agressiva ao meio ambiente.

PALAVRAS-CHAVE: Suinocultura; licor pirolenhoso; *Escherichia coli*; concentração inibitória mínima.

¹ Acadêmica do Curso de Biomedicina - Universidade Feevale - Novo Hamburgo - Brasil

² Graduada do Curso de Biomedicina - Universidade Feevale - Novo Hamburgo - Brasil

³ Pesquisador(a) da Universidade Feevale - Novo Hamburgo - Brasil

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO DE COPAÍBA NANOPREPARADO CONTRA ISOLADOS DERMATÓFITOS

Cunha, S.L.^{2*}; Svetlichny, G.¹; Silva, F.É.K.¹; Kulkamp, I.⁴; Guterres, S.S.⁶; Fuentefria, A.M.⁵

RESUMO: Os gêneros *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton*, também conhecidos de dermatófitos, são os mais comuns agentes etiológicos que causam dermatomicoses cutâneas nos tecidos queratinizados. Entretanto, nas últimas décadas, a acelerada aquisição de resistência dos dermatófitos vem impulsionando pesquisas que visam à busca de novos antifúngicos eficazes e seletivos. Nesse contexto, destaca-se a nanotecnologia, que usufrui da apresentação farmacêutica em nanopartículas, potencializando a penetração da droga no sítio fúngico eliminando-o com maior efetividade. O objetivo deste estudo foi testar a propriedade antifúngica do óleo de copaíba (OC) puro, seu nanopreparado, e a mistura de ambos, contra cinco diferentes cepas do *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton rubrum* e *Trichophyton mentagrophytes* e *Scitalidium dimiatum*, mantidas no Laboratório de Pesquisa em Micologia Aplicada da UFRGS. Os testes de susceptibilidade foram realizados de acordo com o recomendado nos documentos aprovados pelo *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI, 2008), com algumas alterações. Após o teste de triagem para rastreamento da atividade antagonista, utilizando as drogas à concentração de 500µg/mL, apenas o *Scitalidium dimiatum* não foi suscetível a preparação com OC. Posteriormente foi realizado o teste para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) com as drogas na faixa de 500µg/mL a 3,9µg/mL em caldo RPMI-MOPS. O OC nanopreparado e a mistura, demonstraram ter maior eficácia antifúngica quando comparados ao óleo puro. Comparativamente aos antifúngicos comercialmente disponíveis, o nanopreparado demonstrou concentração ativa comparativa as mais modernas e eficazes drogas, inclusive com atividade inferior a 10µg/mL. Diante dos resultados encontrados, conclui-se que o óleo essencial de copaíba nanopreparado mostrou uma forte atividade inibitória contra os dermatófitos e, conseqüentemente, pode ser considerado como um potencial produto com propriedades antifúngicas, especialmente para o tratamento das dermatofitoses.

PALAVRAS-CHAVE: Agente etiológico, nano preparado, atividade antifúngica, óleo.

ATIVIDADE ANTIMICÓTICA SELETIVA DE SAPONINAS OBTIDAS DE *Chenopodium quinoa*

Lana, A. D.*; Verza S. G.; Fuentefria, A. M.³; Ortega, G. G.³

RESUMO: As sementes de *Chenopodium quinoa* são uma fonte rica em proteínas e bem conhecidas pelo seu alto teor de saponina. Para saponinas de quinoa foram descritas propriedades antifúngicas contra *Candida albicans* e *Botrytis cinerea*. O presente trabalho tem como finalidade avaliar a atividade antifúngica contra algumas leveduras e fungos filamentosos com duas frações enriquecidas de saponinas de quinoa: FQ70 e FQ90. Estas frações foram obtidas a partir de um extrato previamente liofilizado hidroetanólico. A atividade antifúngica das saponinas de quinoa e medicamentos de referência foi avaliada através do teste de susceptibilidade, para posterior determinação da concentração inibitória mínima (MIC). O teste de susceptibilidade foi realizado de acordo com as recomendações dos documentos aprovados pelo Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI, 2008). As concentrações das saponinas nas frações de quinoa testadas variou de 0,9 a 500µg/mL. Terbinafina, anfotericina B, miconazol e anidulafungina foram utilizados como controle positivo de inibição, variando de 0,25-32 µg / mL. Os ensaios foram realizados em duplicada e as microplacas foram incubadas a 32°C por 48 horas para fungos leveduriformes e sete dias para fungos filamentosos. Ambas as frações foram inativas contra as leveduras testadas, entretanto, inibiram o crescimento de todos os dermatófitos avaliados. FQ70 inibiu os microrganismos com MIC de 125 µg / mL, enquanto FQ90 inibiu dermatófitos com MIC entre 62 e 250 µg / mL. FQ 90 mostrou maior atividade contra o *M. gypseum* e menor contra *T. mentagrophytes*. A diferença entre a atividade antifúngica FQ70 e FQ90 parece estar relacionada com características específicas das composições químicas. FQ90 inclui triterpenos adicionais do ácido oleanólico e hederagenina, que podem ser correlacionados com a maior suscetibilidade de *M. gypseum* a esta fração saponina.

PALAVRAS-CHAVE: MIC, Atividade Antifúngica, *Chenopodium quinoa*, Frações.

¹Faculdade de Farmácia, Departamento de Análises, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS; Aline_lana1@hotmail.com

² PPG em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS;

³ PPG em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO DE *SCHINUS MOLLE. L*

Lopes, L. Q. S.^{*1}; Alves, C. F.¹; Schneider, T.¹; Radaelli, G.²; Cassão, G.²; Giongo, J.²; Vaucher, R.¹; Santos, R. C. V.¹;

RESUMO:Um dos principais problemas de saúde pública é a resistência que os microrganismos estão adquirindo contra os fármacos disponíveis no mercado, por esse motivo pesquisas envolvendo a pesquisa de novas substâncias são extremamente importantes. O presente trabalho objetivou a pesquisa de atividade antimicrobiana do óleo de *Schinus molle. L*, popularmente conhecida como Aroeira. Representa uma espécie vegetal amplamente distribuída no Rio Grande do Sul e usada principalmente na arborização de ruas e na medicina popular é frequentemente utilizada como antifúngica, antiespasmódica, antipirética, anti-inflamatória e cicatrizante. Para determinação da atividade antimicrobiana foi utilizada a técnica de disco difusão como teste inicial de triagem contra 30 cepas bacterianas e fúngicas. Os discos de papel filtro foram impregnados com 10µl do óleo puro e colocados sobre ágar Mueller Hinton inoculado com os microrganismos. Após 24h de incubação a 35°C observou-se a formação de halos de inibição nos seguintes microrganismos: *Bacillus cereus*, *Candida albicans*, *Listeria monocytogenes* e *Paenibacillus pabuli*. Este é um trabalho inicial, onde verificamos a atividade antimicrobiana para posterior determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM). A partir destas determinações, será possível no futuro, o fracionamento do óleo e verificação das frações que são responsáveis pela atividade antimicrobiana do óleo de *S. molle L*.

PALAVRAS-CHAVE: *Schinus molle*, óleo, *Candida*, antimicrobiano

¹Laboratório de Microbiologia, Centro Universitário Franciscano (UNIFRA) Santa maria,RS

²Laboratório de Farmacotécnica, Universidade da Região da Campanha (URCAMP) Bagé, RS

E-mail: leuo_lopes@hotmail.com

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Tillandsia recurvata*

Alves, C.F.S.¹; Cunha, J.²; Bianchin, N.²; Zago, A. C. R.²; Lopes, L.Q.S.¹; Schneider, T.¹; Paz, M.B.¹; Christ, R.V.S.¹.

RESUMO: O uso abusivo de fármacos antimicrobianos é um dos maiores problemas de saúde pública, pois favorece o desenvolvimento de microrganismos resistentes, diminuindo assim as opções terapêuticas. A indústria farmacêutica também vem desenvolvendo um número cada vez menor de novos agentes, aumentando então, a importância clínica de microrganismos multirresistentes. Em função destes fatores, torna-se importante a pesquisa de novos agentes antimicrobianos e a busca por produtos de origem natural pode ser uma alternativa interessante. A *Tillandsia recurvata*, popularmente conhecida como barba-de-velho, pertence a família *Bromeliaceae*, sendo utilizada na medicina popular como anti-reumática, para úlcera, hemorroidas e para o tratamento de infecções de pele. O objetivo deste trabalho foi determinar a atividade antimicrobiana do extrato bruto de *T. recurvata*. As folhas da planta foram coletadas e secas em estufa com circulação e renovação de ar à temperatura controlada (40°C), sendo em seguida moída em moinho de facas. Após foi submetida à extração a frio (maceração) com etanol, e em seguida concentrada no evaporador rotatório, obtendo-se o extrato bruto. Este extrato foi submetido a um teste de *screening* de atividade antimicrobiana (técnica de disco difusão), onde foram utilizados 12mg/ml por disco de papel filtro. Foram utilizadas 23 cepas de microrganismos (Gram negativos, Gram positivos e fungos). Após 24h de incubação a 36,5°C, o extrato bruto de *T. recurvata* inibiu o crescimento de *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella choleraesuis*, *Candida albicans*, *Proteus sp*, *Paenibacillus alginolyticus*, *Paenibacillus azotofixans* e *Paenibacillus validus*. Com os resultados apresentados é necessário a continuação dos estudos, para determinar a concentração inibitória mínima através do método de microdiluição. Posteriormente o fracionamento e a caracterização do extrato também deverão ser realizados, para uma melhor compreensão da atividade antimicrobiana desta planta.

PALAVRA-CHAVE: antimicrobianos e *Tillandsia recurvata*.

¹ Laboratório de Microbiologia, Centro Universitário Franciscano (UNIFRA), Santa Maria, RS, Brasil. camillinhafilippism@hotmail.com

² Laboratório de Farmacognosia, Centro Universitário Franciscano (UNIFRA)

ATIVIDADE FUNGITÓXICA DE *IN VITRO* SEIS ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES SOBRE *Aspergillus niger* ISOLADO DE *Allium cepa*

Santiago, M. F.^{1*}; Ueno, B.²

RESUMO: O mofo preto causado pelo fungo *Aspergillus niger* tem causado sérios prejuízos no armazenamento de bulbos de cebola (*Allium cepa*) na região sul do RS. O objetivo do presente trabalho foi avaliar *in vitro* os efeitos da fase de contato de óleos essenciais sobre o fungo *A. niger* cultivado em meio de cultura BDA. O ensaio foi realizado em placa de ELISA e as diferentes concentrações de óleos essenciais foram diluídas em meio de cultura batata-dextrose (BD) líquido. Foram utilizados seis tipos de óleos essenciais extraídos de diferentes espécies vegetais sendo testados: canela (cássia e folha), cravo folha, capim limão, tomilho branco e eucalipto stageriana sobre o fungo *A. niger* cultivado em meio de cultura BDA. A partir de uma pré-mistura de 100 µL de óleo essencial com 100µL de espalhante adesivo Agral (em um primeiro microtubo), tomou-se uma alíquota de 4µL e misturou-se em 996µL de meio BD em um segundo microtubo. A seguir retirou-se 100µL do segundo microtubo que foi adicionada ao primeiro poço da placa, depois fez-se diluições seqüenciais começando com 2000 ppm no primeiro vaso e 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,2; 15,6; 7,8; 3,9; 2; 0,98ppm respectivamente totalizando 12 diluições em série. Após foram colocados 80µL de solução de esporos $2,5 \times 10^6$ /mL e utilizando-se como revelador o corante Alamar Blue[®], deixando-se encubar em agitador velocidade seis, temperatura de $\pm 25^\circ\text{C}$ e tempo de 24h. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com duas repetições. A fungitoxicidade foi avaliada em 24hs experimentais, pela coloração dos poços da placa de ELISA. A permanência da cor azul nos poços indicou a ausência de crescimento e o desenvolvimento da cor rósea indicou a presença de crescimento fúngico. Os óleos essenciais que apresentaram inibição foram: canela cássia, canela folha e tomilho branco até as respectivas concentrações 62,5ppm, 500ppm, e 2000ppm. Os outros óleos essenciais cravo folha, capim limão e eucalipto stageriana não apresentaram inibição do crescimento micelial em nenhuma das concentrações testadas.

PALAVRAS-CHAVE: Controle alternativo; *Aspergillus niger*; *Allium cepa*.

¹Mestranda em Fitossanidade /UFPEl; Email: miccafs@hotmail.com

²Embrapa Clima Temperado, C.P. 403, 96001-970, Pelotas-RS. Email: berueno@cpact.embrapa.br

ATIVIDADE FUNGITÓXICA DE CINCO DIFERENTES ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS EM ESCAMAS DESTACADAS SOBRE *Aspergillus niger* ISOLADO DE *Allium cepa*

Ueno, B.¹; Santiago, M. F.²

RESUMO: O mofo preto causado pelo fungo *Aspergillus niger* tem causado sérios prejuízos no armazenamento de bulbos de cebola (*Allium cepa*) na região sul do RS. O uso de produtos voláteis é interessante para situações em que há o acondicionamento de produtos em ambiente fechado, explorando a fungitoxicidade de sua fase volátil. O objetivo do presente trabalho foi avaliar *in vitro* os efeitos da fase volátil de diferentes óleos essenciais sobre o fungo *A. niger* cultivado em meio de cultura BDA. O ensaio foi realizado em escamas destacadas onde foram avaliados os efeitos da fase volátil de cinco tipos distintos de óleos essenciais sobre o fungo *A. niger* cultivado em meio de cultura BDA. Os óleos essenciais extraídos de diferentes espécies vegetais testados foram obtidos de canela cássia, canela folha, cravo folha, capim limão, tomilho branco. O bioensaio foi feito em escamas de cebola que foram imersas por cinco minutos na suspensão de $2,5 \times 10^6$ /mL esporos de *A. niger* e secas ao natural. A seguir as escamas foram depositadas acima de duas folhas de papel mata-borrão autoclavado dentro de gerbox secos. Os óleos essenciais foram aplicados ao centro do papel mata-borrão na concentração de 100ppm = 36 μ L, conforme o volume do gerbox. A tampa foi umedecida com água destilada autoclavada e os recipientes foram fechados para que os óleos volatilizassem dentro do recipiente. Os gerbox foram incubados em temperatura de $\pm 25^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12hs. A fungitoxicidade foi avaliada aos cinco dias experimentais, visualmente pela incidência e severidade da doença. Os óleos essenciais canela folha, capim-limão e tomilho branco apresentaram um bom potencial de inibição na concentração testada. Aqueles que apresentaram resultados mais promissores serão testados posteriormente em galpões de armazenamento cuja aplicação em larga escala feita em palpeis mata-borrão, os quais serão distribuídos equidistantes dentro dos galpões.

PALAVRAS-CHAVE: Controle alternativo; *Aspergillus niger*; *Allium cepa*.

¹ Embrapa Clima Temperado, C.P. 403, 96001-970, Pelotas-RS. Email: berueno@cpact.embrapa.br

² Mestranda em Fitossanidade /UFPEL; Email: miccafs@hotmail.com

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE ANFOTERICINA B, CETOCONAZOL, ITRACONAZOL, TERBINAFINA E VORICONAZOL FRENTE A *Fonsecaea pedrosoi*

Daboit, T.C.^{1,2*}; Magagnin, C.M.^{1,2}; Antochévis, L. C.¹; Vigolo, S.¹; Meirelles, L.C.¹; Scroferneker, M. L.^{1,2}

RESUMO: A cromoblastomicose é uma infecção fúngica crônica que acomete os tecidos cutâneo e subcutâneo. É causada pela implantação transcutânea de várias espécies de fungos dematiáceos, sendo *Fonsecaea pedrosoi* o agente etiológico mais freqüente. Estudos *in vitro* para avaliar a ação de antifúngicos são raros, especialmente em fungos filamentosos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil de suscetibilidade *in vitro* de 27 isolados de *Fonsecaea pedrosoi* aos antifúngicos anfotericina B, cetoconazol, itraconazol, terbinafina e voriconazol. A metodologia utilizada para determinar as Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) foi o protocolo M38 A2 do *Clinical and Laboratory Standards Institute*. As CIMs obtidas para a anfotericina foram entre 0,5 e 8µg/ml, para o cetoconazol, foram entre 0,125 e 1µg/ml e para o itraconazol, foram entre 0,0625 e 1µg/ml. Para a terbinafina, as CIM foram entre 0,0313 e 0,25µg/ml, sendo que 63% dos isolados obtiveram CIM de 0,125µg/ml, 18,5% obtiveram CIM de 0,0625µg/ml e 14,8% obtiveram CIM de 0,25µg/ml. Para o voriconazol, as CIM foram entre 0,5 e 16 µg/ml, sendo que 37% dos isolados obtiveram CIM de 2µg/ml, 26% obtiveram CIM de 4µg/ml e 14,8% obtiveram CIM de 8µg/ml. Analisando os valores de CIM obtidos, os isolados avaliados apresentaram reduzida suscetibilidade ao voriconazol e elevada sensibilidade frente à terbinafina. Os resultados demonstram que análise *in vitro* do perfil de sensibilidade a antifúngicos é de suma importância para orientar e oferecer alternativas no tratamento clínico.

PALAVRAS-CHAVE: *Fonsecaea pedrosoi*, cromoblastomicose, atividade antifúngica, NCCLS

¹ PPG em Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS;
* tatidaboit@gmail.com

² Laboratório de Fungos Patogênicos, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE CLOREXIDINA E CLOREXIDINA NANOESTRUTURADA

Schneider, T.^{1*}; Lopes, L.Q.S¹; Alves, C.F.S¹; Vitalis, G.S.²; Raffin, R.P²., Santos, R.C.V.¹

RESUMO: Dentro do contexto da microbiologia bucal, buscam-se alternativas para o uso de substâncias antimicrobianas que proporcionem um controle sobre o crescimento de microrganismos. A clorexidina apresenta importante eficácia no controle de microrganismos em meio bucal, tendo ação contra microrganismos Gram-positivos, Gram-negativos e leveduras. O mecanismo de ação bactericida da clorexidina se dá pela coagulação do citoplasma bacteriano, seguido do rompimento da membrana celular. Ela é utilizada há vários anos devido a sua comprovada atividade antimicrobiana e por possuir baixa citotoxicidade. O *Enterococcus faecalis* é um microrganismo comumente detectado em pacientes com infecções endodônticas persistentes. A *Candida albicans* é um microrganismo causador de infecções oportunistas, e tem sido frequentemente estudado pela sua importante capacidade de formação de biofilmes dentários. O presente trabalho teve como objetivo determinar a concentração inibitória mínima (CIM) de clorexidina e clorexidina nanoestruturada através do teste de microdiluição. Os microrganismos utilizados para os ensaios foram *C. albicans*(ATCC 90028) e *E. faecalis* (ATCC 29212). A clorexidina apresentou CIM de 0,9µg/ml para *C. albicans* e 0,22µg/ml para *E. faecalis*. A clorexidinana noestruturada apresentou CIM de 1,45 µg/ml para a *C. albicans* e 0,36 µg/ml para *E. faecalis*. Tendo em vista estes resultados, é importante que mais estudos sejam realizados com estas substâncias, para comprovar em que situações elas são realmente eficazes e qual a duração de suas propriedades antimicrobianas.

PALAVRAS-CHAVE: Clorexidina; Nanocápsulas; Antimicrobiano.

¹Laboratório de Microbiologia, Centro Universitário Franciscano (UNIFRA), Santa Maria, RS, Brasil.

²Laboratório de Nanotecnologia, Centro Universitário Franciscano (UNIFRA), Santa Maria, RS, Brasil
E-mail: taiaschneider@hotmail.com

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE UMA CELULASE PRODUZIDA POR *Bacillus* sp.

¹De Marco, E.G.*; ¹Da Silva, K.H.; ²Van Der Sand, S.T.

RESUMO: A frequência de processos envolvendo o uso de enzimas tem gerado o aumento do interesse do mercado pela produção destas, entre elas a celulase tem apresentado um amplo emprego na indústria, desde têxtil a alimentícia. Além disso, por serem produzidas por muitos grupos de microrganismos, estudos tem direcionado para busca de potenciais enzimáticos que abrangem tanto o emprego da própria bactéria produtora como da enzima purificada. O objetivo deste trabalho é a produção de celulase por um isolado do gênero *Bacillus* sp. oriundo de uma composteira, utilizando meio mineral suplementado com 0,5% de carboximetilcelulose a uma temperatura de 50°C. A partir do extrato bruto produzido avaliou-se a atividade enzimática empregando diferentes pHs (4,0 a 10,0) e temperaturas (30° a 70°C). A determinação da atividade enzimática foi realizada pelo dosamento de açúcares redutores conforme o método de Somogy e Nelson (Nelson, 1944; Somogy, 1952). Também foi analisada a estabilidade do extrato frente às variáveis testadas. Os testes foram realizados em duplicata. Em relação ao pH os ensaios enzimáticos resultaram numa maior e menor atividade enzimática para pH 9,0 ($6,0 \times 10^{-3}$ UAE) e 8,0 ($8,0 \times 10^{-4}$ UAE), respectivamente. Considerando as temperaturas, 70°C apresentou uma atividade dez vezes maior que as outras temperaturas avaliadas ($7,0 \times 10^{-3}$ UAE). A enzima se manteve estável para as diferentes temperaturas, porém não teve o mesmo comportamento para os pHs, pois quando submetida por 30 minutos as diferentes soluções de pH (4,0 a 10,0) sua atividade enzimática decresceu. Os resultados parciais revelam o grande potencial de aplicação desta enzima em processos que envolvam temperaturas mais elevadas, porém os mesmos testes ainda serão realizados com a enzima purificada para comparação dos resultados.

PALAVRAS-CHAVE: celulase, carboximetilcelulose, *Bacillus* sp.

¹PPG Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre- RS; evagiordana@gmail.com

² Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre- RS.

AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA A COMPOSTOS DE QUATERNÁRIO DE AMÔNIO DE ISOLADOS DE *Escherichia coli* COM INTEGRON DE CLASSE 1

Meneghetti, K.L.^{1*}; Canal, N.²; Terra, A.P.³; Otton, L.M.²; Corção, G.²

RESUMO: Integrons são estruturas que contribuem para a aquisição de genes de resistência aos antimicrobianos em bactérias Gram-negativas. Os integrons de classe 1 apresentam dois segmentos conservados (5'CS e 3'CS) separados por uma região variável na qual podem estar os genes de resistência a antimicrobianos e desinfetantes e também outros genes ainda com funções desconhecidas. No segmento 3 'CS normalmente estão presentes os genes *qacEΔ1* e *sul1* responsáveis pela resistência a compostos de quaternário de amônio e sulfonamida, respectivamente. Genes de resistência a antimicrobianos e *qacEΔ1*, geralmente são carregados juntos nesta estrutura, o que leva a preocupação de que exposição a desinfetantes pode co-selecionar a resistência a antimicrobianos em cepas portadoras de integron classe 1. O presente trabalho teve como objetivo determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) a compostos de quaternário de amônio de isolados *E.coli* com integron classe 1 obtidos de amostras de água da Lagoa dos Patos. A determinação da CIM a compostos de quaternário de amônio foi realizada através do método de microdiluição em caldo Mueller Hinton. A CIM foi definida como a menor concentração do antimicrobiano capaz de inibir o crescimento microbiano. As concentrações de quaternário de amônio testadas variaram de 0,094% até 0,0014%. Os isolados foram considerados resistentes ao quaternário de amônio quanto apresentaram a CIM $\geq 0,0059\%$. Foram analisados 62 isolados de *E.coli* resistentes a antimicrobianos com integrons de classe 1. Aproximadamente 67% dos isolados apresentaram CIM de 0,0059% (42 isolados), 8% (5 isolados) CIM 0,0118% e 25% (16 isolados) apresentaram CIM 0,00294%. Através dos resultados obtidos pode se concluir que integrons de classe 1 podem estar colaborando para o fenótipo de resistência a compostos de quaternário de amônio observada na maioria dos isolados *E.coli*.

PALAVRAS-CHAVE: resistência, antimicrobianos, compostos de quaternário de amônio.

^{1*} Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS; karine_meneghetti@hotmail.com

² PPG em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS

³ Instituto Federal do Rio Grande do Sul, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

AVALIAÇÃO DA DETECÇÃO FENOTÍPICA DE METALO-B-LACTAMASES EM ISOLADOS DE *ACINETOBACTER BAUMANNII* RESISTENTES A CARBAPENÊMICOS.

Teixeira, AB^{1,3}; Pereira, DC¹; Martins, AF¹.; Barth, AL^{1,2,3}.

RESUMO: *Acinetobacter* spp. é um patógeno oportunista freqüentemente envolvido em surtos de infecção, ocorrendo principalmente em unidades de terapia intensiva. A tendência crescente de resistência aos carbapenêmicos em *Acinetobacter* spp atualmente é preocupante, uma vez que isto limita drasticamente as alternativas terapêuticas para o tratamento de infecções causadas por este microrganismo. O objetivo desse trabalho é investigar os testes fenotípicos de detecção de metalo- β -lactamases (MBL) em *Acinetobacter* spp em comparação a detecção genotípica (bla_{IMP-1} e bla_{SPM-1}). Inicialmente foram avaliados 18 isolados de *Acinetobacter* spp resistentes a ceftazidima (CAZ) imipenem (IMP) e meropenem (MEM) pela técnica de disco-difusão, de acordo com as normas do CLSI, provenientes da UTI e Internação Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. O teste fenotípico avaliado foi o método de disco aproximação utilizando os quelantes de zinco EDTA e 2-MPA. A técnica de PCR foi realizada para detecção dos genes bla_{IMP-1} , bla_{SPM-1} e bla_{OXA-51} . As 18 amostras foram positivas o gene bla_{OXA-51} confirmando a identificação de *A. baumannii*. No teste de aproximação de discos obteve-se 6 (33,3%) e 4 (22,2%) isolados positivos com EDTA e 2-MPA, respectivamente. No entanto, em nenhuma das amostras foi possível detectar os genes bla_{IMP-1} e bla_{SPM-1} . Estes resultados preliminares indicam duas possibilidades: os testes fenotípicos apresentaram resultados falso-positivos ou as amostras com teste fenotípico positivo podem conter outros genes de MBL. É, portanto, necessário avaliar outros genes de MBL descritos na literatura bem como outros mecanismos de resistência que interfiram nos testes fenotípicos de detecção de MBL em *A. baumannii*.

PALAVRAS-CHAVE: *Acinetobacter* sp., metalo-beta-lactamases, carbapenemases.

¹ Laboratório de Doenças infecciosas e auto-imunes, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

² Serviço de Patologia Clínica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

³ Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

AVALIAÇÃO DA PATOGENICIDADE DE DIFERENTES ISOLADOS DE *Bipolaris sorokiniana* EM PLÂNTULAS DE TRIGO.

Feltrin, T.^{*1}; Minotto, E.²; Mann, M.²; Spadari, C.³; Milagre, L.⁴; Van Der Sand, S.T.⁵

O trigo é um cereal amplamente consumido em todo o mundo, sendo afetado por fitopatógenos como *Bipolaris sorokiniana*. Este fungo é responsável por causar moléstias como helmintosporiose ou mancha marrom, ponta preta dos grãos, podridão comum da raiz e carvão do nó. *B. sorokiniana* ocasiona perdas significativas na produção de trigo, uma vez que seu controle é dificultado por apresentar uma grande variabilidade fisiológica e morfológica. O objetivo deste trabalho foi avaliar a virulência de isolados de *B. sorokiniana* de diferentes regiões do Brasil, bem como de outros países. O ensaio constituiu-se de 19 isolados de *B. sorokiniana* e um grupo controle. Para cada isolado foram utilizadas 100 sementes de trigo da cultivar BRS Buriti, moderadamente resistente a infecções pelo fungo, que foram submetidas primeiramente à desinfestação e adicionadas em tubos contendo uma suspensão de esporos de *B. sorokiniana*, previamente ajustada (10^{-6} esporos/ml), por 24 horas. As sementes foram então, submetidas aos testes de germinação e sanidade ("Botter test") com 4 repetições de 25 sementes cada, e mantidas em incubação a 25°C com fotoperíodo de 12 horas. Ao completar dez dias após a infestação avaliou-se o número de sementes germinadas, a podridão da semente e a presença de lesões nas folhas e no colmo. Todos os isolados foram capazes de causar algum tipo de sintoma. A diferença de um isolado para outro foi a intensidade e o local da lesão. O isolado 98042 ocasionou mais lesões no colmo, enquanto que os isolados 98004 e 98041 foram mais agressivos à folha e à germinação, respectivamente. Somente para o controle não houve podridão de sementes, uma vez que todos os isolados demonstraram a capacidade de ocasionar esse sintoma. De modo geral, observou-se que os isolados brasileiros do patógeno apresentaram maior capacidade de causar doença quando comparados a isolados oriundos de outros países.

PALAVRAS-CHAVE: Trigo, *Bipolaris sorokiniana*, virulência

¹Estagiária Laboratório Micologia Ambiental do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia do ICBS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS. E-mail : thaifeltrin@gmail.com

²Doutorandas do PPG de Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS ³Mestrando PPG de Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS.

⁴Mestranda do PPG de Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS.

⁵Aluna de Graduação em Biomedicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul- UFRGS.

⁶Pro. Assistente III, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Coordenadora do Grupo de Pesquisa, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS.

AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DOS GENES DE RESISTÊNCIA *erm(B)*, *tet(M)* E *tet(L)* ENTRE ISOLADOS ALIMENTARES E CLÍNICOS DE *Enterococcus* sp.

Medeiros, A.W.*; d'Azevedo, P.²; Pereira, R.I.³; Oliveira, D.V.¹; Sand, S.V.³; Frazzon, J.²; Frazzon, A.P.G³

RESUMO: O gênero *Enterococcus* compreende bactérias Gram positivas, que normalmente habitam o trato gastrointestinal. Podem estar presentes no solo, água e alimentos. São importantes agentes produtores de alimentos fermentados e algumas espécies são usadas como probióticos. A presença deste microrganismo nos alimentos, por outro lado pode ser considerada uma contaminação, estando envolvidos em processos de deterioração de alimentos. *Enterococcus* sp. são particularmente relevantes devido a sua associação a infecções hospitalares e facilidade em adquirir mecanismos de resistência através de plasmídios ou transposons, e até mesmo por mutações cromossômicas espontâneas. Os genes *tet(L)* e *tet(M)* são reconhecidos por conferirem resistência à tetraciclina em isolados de *Enterococcus* sp., enquanto o gene *erm(B)* é reportado por ser o gene mais comum de resistência à macrolídeos. Nesse estudo foi avaliada a presença dos genes de resistência *tet(L)*, *tet(M)* e *erm(B)* de um total de 136 isolados de *Enterococcus* sp. provenientes de amostras clínicas e alimentares. Todos os isolados foram previamente identificados em gênero e espécie utilizando ferramentas bioquímicas e moleculares. O DNA dos isolados foi extraído segundo Fredricks e Relman (1998), e submetido a PCR dos genes *tet(L)*, *tet(M)* e *erm(B)*. O gene *tet(M)* foi encontrado em 24,24% e 43,28% dos isolados de alimentos e clínicos, respectivamente. O gene *tet(L)* foi estabelecido em 12,85% e 4,47%. Ambos os genes foram estabelecidos em 23,3% dos isolados. O gene *erm(B)* foi detectado em 45,98% de todos os isolados. Os resultados encontrados reiteram o questionamento sobre a segurança desses microrganismos em alimentos e sustenta a preocupação sobre o potencial patogênico desse gênero no âmbito clínico.

PALAVRAS-CHAVE: *Enterococcus*, resistência, tetraciclina, macrolídeos.

1. Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. Universidade Federal do Rio Grande do Sulalinelwm@gmail.com

2. Departamento de Ciências da Saúde, Departamento de Microbiologia, Universidade de Ciências da Saúde de Porto Alegre, RS, Brasil. 3. Departamento de Microbiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. 4. Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DOS GENES DOS FATORES DE VIRULÊNCIA E CAPACIDADE DE FORMAÇÃO DE BIOFILME *IN VITRO* ENTRE ISOLADOS ALIMENTARES E CLÍNICOS DE *Enterococcus* sp.

Medeiros, A.W.*; d'Azevedo, P.²; Pereira, R.I.³; Oliveira, D.V.¹; Sand, S.V.³; Frazzon, J.²; Frazzon, A.P.G³

RESUMO: O papel dualístico exercido por *Enterococcus* na natureza estimula a pesquisa dos fatores que determinam sua virulência. Entre fatores que contribuem para a virulência em *Enterococcus* destacam-se os genes *gelE*, *esp*, *agg*, *ace* e *cylA*, que codificam proteínas associadas à invasão, adesão e colonização do hospedeiro. O objetivo desse estudo foi investigar a distribuição dos determinantes de virulência (*gelE*, *esp*, *agg*, *ace*, *cylA*) e sua relação com a formação de biofilme entre *Enterococcus* isolados de alimentos e amostras clínicas. Foram analisados 66 isolados clínicos e 70 alimentares quanto a presença dos genes *gelE*, *esp*, *agg*, *ace* e *cylA* por PCR e atividade de gelatinase, citolisina e formação de biofilme. Todos os isolados foram previamente identificados em gênero e espécie utilizando ferramentas bioquímicas e moleculares. O DNA dos isolados foi extraído segundo Fredricks e Relman (1998), e submetido a PCR dos genes *gelE*, *esp*, *agg*, *ace*, *cylA*. A capacidade de formação de biofilme foi realizada seguindo o método Cristal Violeta. A atividade das enzimas gelatinase e citolisina foi avaliada através de métodos bioquímicos. Isolados clínicos apresentaram maior incidência de fatores de virulência quando comparados com alimentares, exceto para os genes *gelE* e *ace*. Em ambas amostragens houve a ocorrência de isolados positivos para os genes *gelE* e *cylA*, porém sem atividade enzimática, indicando a presença de genes silenciosos. A maioria dos isolados apresentou capacidade de formação de biofilme, entretanto não houve correlação entre os genes analisados e o fenótipo de formação de biofilme, porém é possível que os genes *ace* e *gelE* atuem como potencializadores na formação de biofilmes em *Enterococcus*. A constatação de alta incidência de genes de virulência associada a capacidade de formação de biofilme é preocupante já que a formação de biofilme contribui para a sobrevivência, persistência e disseminação de genes de virulência e resistência em diversos ambientes.

PALAVRAS-CHAVE: *Enterococcus*, virulência, biofilme.

1. Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. alinewm@gmail.com 2. Departamento de Ciências da Saúde, Departamento de Microbiologia, Universidade de Ciências da Saúde de Porto Alegre, RS, Brasil. 3. Departamento de Microbiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. 4. Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

AVALIAÇÃO DA REMOÇÃO DE FÓSFORO PELO CULTIVO DE *Pichia pastoris* X-33 EM EFLUENTES DE ARROZ PARBOILIZADO

Santos, D. G.^{1,2}; Gaboardi, G.^{4*}; Fernandes, L.⁴; Conceição, F. R.³

RESUMO: O efluente da parboilização de arroz contém aproximadamente 100 mg L⁻¹ de fósforo. O cultivo da *Pichia pastoris* X-33 neste efluente adicionado de glicerol residual de biodiesel tem demonstrado resultados promissores na remoção de fósforo do efluente reduzindo seu impacto ambiental. Avaliou-se em biorreator o impacto do cultivo de *P. pastoris* X-33 na remoção de fósforo em efluentes do processo de parboilização de arroz acrescido de 15 g L⁻¹ de glicerol residual de biodiesel. Os pré-inóculos e o inóculo da levedura *P. pastoris* X-33 (Invitrogen, USA) foram produzidos em meio YM (Yeast Medium, Difco, USA) em agitador orbital a 150 rpm, 28°C por 12 horas usando-se balões aletados partindo-se de 5 colônias isoladas. Efetuaram-se duas fermentações em fermentador New Brunswick 110 utilizando-se 7 L de efluente de arroz parboilizado adicionado de 15 g L⁻¹ de glicerol subproduto da indústria de biodiesel e 10% em volume de inóculo. O pH foi ajustado a 5,5 com NaOH 1 M e o cultivo ocorreu a 250 rpm, 1 vvm e 28°C por 96 horas. As amostras foram centrifugadas a 1800 g por 10 min. Nos sobrenadantes determinou-se fósforo (P-PO₄⁻³) utilizando o método do ácido ascórbico com digestão prévia com ácido sulfúrico-ácido nítrico, segundo *Standard Methods* (APHA et al., 1998). A absorção de fósforo atingiu o valor médio de 63% às 16 horas de cultivo. Às 48 horas atingiu-se o máximo de remoção (90%), valor semelhante ao obtido no mesmo tipo de efluente por precipitação química, processo de remoção de alto custo e geração de resíduos. No cultivo de *Pichia pastoris* em efluentes de arroz parboilizado acrescido de 15 g L⁻¹ de glicerol de biodiesel obteve-se aproximadamente 75% de remoção de fósforo em 24 horas de cultivo alcançando-se o índice estabelecido pela FEPAM (Fundação Estadual de Proteção Ambiental, RS) à indústria que originou o efluente.

PALAVRAS-CHAVE: fósforo, *Pichia pastoris*, efluente, glicerol

¹ Professor de Curso Técnico em Química do IFSul-riograndense; ²Doutorando em Biotecnologia e-mail: giana_gaboardi@hotmail.com

³ Professor do Centro de Desenvolvimento Tecnológico da UFPel

⁴ Estudantes de Graduação do curso de Biotecnologia da UFPel

AVALIAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DE COLIFAGOS COMO INDICADORES VIRAIS EM ESTAÇÕES DE TRATAMENTO DE ESGOTOS

Silva, M. C. A.*; Miranda, L. A. S.¹; Monteggia, L. O.²; Thewes, M. R.³

RESUMO: Uma grande quantidade de microrganismos, patogênicos ou não, são encontrados nos esgotos domésticos e, mesmo após passagem por tratamento em Estações de Tratamento de Esgotos (ETE), são descarregados em corpos hídricos. A contaminação da água, pela presença de bactérias e vírus patogênicos, traz conseqüências indesejáveis, principalmente relacionados à saúde pública. Mesmo assim, nenhuma portaria ou legislação foi ainda elaborada no país preconizando a pesquisa de vírus como indicadores em amostras de água. Foi proposto, no presente trabalho, o estudo do comportamento de colifagos em relação aos parâmetros microbiológicos já analisados nas ETEs e previstos em lei: coliformes fecais e totais, buscando correlações, já que se acredita que esses contribuam para uma maior retenção e manutenção de vírus em esgotos. Amostras de esgoto bruto e esgoto tratado pelo processo de lodo ativado foram coletadas semanalmente, durante jun/2006 e jun/2007. Análises de quantificação de colifagos, bactérias coliformes totais e fecais foram realizadas segundo APHA (2005). Os resultados obtidos mostram maior estabilidade e resistência de vírus no ambiente, apresentando elevada quantidade destas partículas no efluente final da ETE, mesmo após o tratamento, e liberadas em corpos hídricos receptores. Desta maneira, destaca-se a importância da realização do monitoramento permanente dos diferentes microrganismos analisados. Não foram encontradas correlações entre colifagos e bactérias nas amostras analisadas, cada qual apresentando comportamento distinto no período estudado. Assim, conclui-se que os indicadores bacteriológicos atualmente utilizados como indicadores de qualidade microbiológica não predizem a total desinfecção do efluente. Este fato ressalta a importância de inclusão de monitoramento de indicador viral no efluente final de ETEs.

PALAVRAS-CHAVE: Colifagos, bactérias coliformes, parâmetros de qualidade microbiológicos, estações de tratamento de esgotos.

* Doutoranda IPH/UFRGS (mariacristinaas@yahoo.com.br)

¹ PPG em Engenharia Civil/UNISINOS (lalcides@unisinis.br)

² IPH/UFRGS (montegia@iph.ufrgs.br)

³ DVP/DMAE (marciart@dmae.prefpoa.com.br)

AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES DA BACTERIOCINA PEDIOCINA ENCAPSULADA EM NANOVESÍCULAS DE FOSFATIDILCOLINA DE SOJA

MELLO, M.B.^{1*}; MALHEIROS, P.S.²; BRANDELLI, A.²; JANTZEN, M. M.³; MOTTA, A.S.⁴.

Universidade Federal de Pelotas

michelebraunerdemello@hotmail.com

As bacteriocinas são peptídeos ou proteínas produzidas por bactérias, e apresentam ação bactericida ou bacteriostática sobre microrganismos patogênicos e/ou deteriorantes de alimentos. Porém a ação destas substâncias pode ser afetada por diversos fatores, como processamento, estocagem, composição química e fatores físicos do alimento. Diante do exposto, pesquisadores vêm buscando técnicas que possam promover a manutenção das propriedades das bacteriocinas. O presente trabalho propôs a encapsulação da pediocina em nanovesículas de fosfatidilcolina de soja pelo Método de Hidratação do Filme Lipídico. Após este procedimento foi feita a avaliação da manutenção das propriedades da pediocina através da eficiência da encapsulação, potencial zeta e espalhamento dinâmico de luz; sendo a atividade antimicrobiana verificada, utilizando-se uma cultura indicadora de *Listeria monocytogenes* ATCC 7644. A eficiência da encapsulação foi feita por ultrafiltração e o resultado foi de 80% para a pediocina encapsulada. Para avaliar a polidispersidade foi utilizado o Espalhamento Dinâmico de Luz. Tal análise fornece informações sobre o tamanho e a polidispersidade da substância encapsulada. A pediocina encapsulada apresentou o mesmo tamanho durante o período de avaliação com uma média de 190 nm. Os valores de polidispersidade não sofreram alteração, mantendo uma média de 0.201. O potencial zeta variou de -46,66 mV ($\pm 3,90$) a -42,16 mV ($\pm 5,31$), e manteve-se constante por 13 dias. Durante os dias de avaliação também foi observada a manutenção da atividade antimicrobiana, e a cultura indicadora manteve-se sensível em todo o período. Estes resultados demonstram a produção de nanopartículas estáveis. A manutenção das propriedades de substâncias encapsuladas é fundamental para que se possa prospectar a aplicação em diferentes matrizes alimentares.

PALAVRAS-CHAVE: bacteriocinas, pediocina, encapsulação, nanovesículas.

^{1*} Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

² Laboratório de Microbiologia e Bioquímica Aplicada, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

³ Inspeção e Tecnologia de Leite e Derivados, Ovos e Mel. Departamento de Veterinária Preventiva, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

⁴ Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

AVALIAÇÃO DE HEMOCULTURAS DE CAMUNDONGOS EM MODELO DE FUNGEMIA POR *Saccharomyces cerevisiae*

Davies, S.*; Viçosa J.A.S.; Vianna, R.C.S.

RESUMO: As leveduras do gênero *Saccharomyces cerevisiae* são consideradas de uso industrial, como fermento ou suplemento alimentar. Assim até a década passada era considerado de uso seguro, mas hoje já se sabe que o *S. cerevisiae* pode colonizar sítios estéreis e especialmente em pacientes imunodeprimidos pode evoluir a infecção sistêmica. Um grande número de fatores de virulência associado com isolados clínicos desta levedura foi identificado e parcialmente caracterizado (McCUSKER et al., 1994) assim, hoje esta levedura está sendo considerada um patógeno emergente. Assim este trabalho tem por objetivo a avaliação do resultado de hemoculturas de camundongos em modelo de fungemia por *S. cerevisiae* ATCC 2601. Foram utilizados 60 camundongos fêmeas CF-1, com peso entre 20 e 30 g. Os animais foram distribuídos em 3 grupos ($n=20$). No grupo controle foi administrado somente solução salina 0,9% estéril via intravenosa caudal (IV). Em outro grupo foi administrado fosfato dissódico de dexametasona (Decadron[®], Ache) por via Intraperitoneal durante sete dias anteriores a indução de fungemia. Em um terceiro grupo foram administrados somente o *S. cerevisiae*. Foram utilizadas as concentrações de 1×10^7 e 1×10^8 de blastoconídeos de *S. cerevisiae* por animal (em 100 μ L de suspensão). Após o procedimento, num período de 24h, 48h e 96h foram coletadas amostras de sangue total de 10 animais, sendo realizadas hemoculturas, e foram mantidos 10 animais de cada grupo por 12 dias. Pode-se confirmar a presença do *S. cerevisiae* nas amostras de 24h e 48h e após 96 horas o resultado da hemocultura foi negativo. Os animais mantidos por 12 dias não apresentaram piora no seu estado clínico. A cepa utilizada em nosso estudo não induziu a morte dos animais em todas as concentrações testadas. Sendo assim, se faz necessário uma busca mais aprofundada de mecanismo de patogenicidade principalmente de isolados clínicos causadores de patologias em humanos.

PALAVRAS-CHAVES: *Saccharomyces cerevisiae*, Fungemia, Hemocultura.

AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO A CAMPO E LABORATORIAIS VISANDO O CONTROLE DA TUBERCULOSE BOVINA NO NORTE DO BRASIL

Tavares, L.A.^{1*}; Ramos D.F.¹; Silva, P.E.A.²; Dellagostin, O.A.¹

Resumo: A tuberculose bovina (TB) é um problema econômico mundial com consequências zoonóticas potenciais, isso porque o *Mycobacterium bovis* possui potencialidades patogênicas frente a um amplo espectro de hospedeiros, incluindo o homem. Dessa forma, faz-se importante o desenvolvimento de métodos diagnósticos mais precisos visando uma melhor eficácia na detecção dessa doença. Objetivando contribuir no desenvolvimento destes métodos, foi avaliado a acurácia dos testes de diagnóstico da TB, pela utilização de técnicas bacteriológicas e moleculares. Amostras de linfonodos retrofaríngeos, sublingual, escapular e/ou pulmonar foram coletadas de 99 animais de diferentes procedências da região Norte do Brasil. Foi feita a análise macroscópica e microscópica dos tecidos a fim de se detectar e analisar lesões. A análise microscópica foi feita a através da interpretação baciloscópica realizada nas amostras, após coloração de Ziehl-Nielsen. As amostras dos linfonodos foram maceradas e descontaminadas pelo método de Petroff, semeadas em meio de cultivo seletivo e incubadas a 37°C por até 16 semanas. Amostras que apresentaram crescimento foram submetidas à extração de DNA para amplificação da região RD7 através de PCR *Multiplex*. Das 99 amostras analisadas, apenas uma apresentou lesão macroscópica característica de infecção por *M. bovis*. Ocorreu crescimento do cultivo em 33 amostras. A reação de PCR revelou amplificação de 10 destas 33 amostras, confirmando a identidade destas como sendo *M. bovis*. Portanto, a ausência de lesões indicativas não assegura ausência de infecção por *M. bovis*. O cultivo é um método sensível para detectar amostras de animais infectados com *M. bovis*, porém o método molecular de identificação é de fundamental importância, pois outras espécies bacterianas apresentam crescimento no meio seletivo utilizado.

PALAVRAS-CHAVE: Tuberculose bovina, Diagnóstico bacteriológico, Diagnóstico molecular.

¹ Laboratório de Vacinologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS;

² Laboratório de Micobactérias, Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, RS

lucastavares.biotec@gmail.com

AVALIAÇÃO DE MÉTODOS PARA PRECIPITAÇÃO E CONCENTRAÇÃO DA PROTEÍNA EMA-1 DE *Theileria equi* EXPRESSA EM *Pichia pastoris*

Valiati, F. E.^{1*}; Araujo, I.L.²; Piraine, R.E.A.³; Oliveira, P.D.⁴; Junior, A.G.S.⁵; Rosa, M. C.⁶; Leite, F.P.L.⁷

RESUMO: No Brasil, a equinocultura tem grande importância econômica, e mesmo com as melhorias de sanidade algumas enfermidades ainda causam significantes prejuízos a esta atividade. Dentre elas, destaca-se a Theileriose equina, que é considerada a principal doença hemoparasitária dos equinos. O protozoário *Theileria equi*, é o agente responsável, sendo transmitido por carrapatos, principalmente, do gênero *Rhipicephalus microplus*. Esse protozoário possui em sua membrana externa proteínas de superfície denominadas EMAs (**e**qui **m**erozoite **a**ntigen), onde a EMA-1 apresenta-se como uma potencial candidata como antígeno vacinal no controle da theileriose equina. O sistema eucariótico de expressão utilizado para a produção dessa proteína foi a levedura metilotrófica *Pichia pastoris*, organismo capaz de crescer em meio de cultura contendo metanol como única fonte de carbono. Após a expressão da proteína rEMA-1 em *P. pastoris*, o objetivo desse estudo foi analisar diferentes métodos de precipitação e concentração para a recuperação da proteína. Foram avaliados os métodos de precipitação por acetona, álcool etílico e sulfato de amônio a 35% e 55% de concentração (v/v). Para precipitação foram utilizados 19,5mL de sobrenadante do cultivo para os três métodos em concentração 35% e 13,5mL de sobrenadante em concentração 55%. Os resultados foram avaliados por *Dot Blotting*. Observou-se a precipitação da proteína nos três métodos. Com a acetona e álcool observou-se uma maior intensidade do Dot na concentração de 35%, enquanto com o sulfato de amônio foi a 55%. Estes resultados sugerem que se faz necessária a determinação da concentração do agente precipitante para otimizar a obtenção da proteína recombinante.

PALAVRAS-CHAVE: métodos de precipitação, ema-1, theileriose equina.

^{1,3}Graduanda em Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, f.e.valiati@gmail.com

^{4,5}PPG em Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS;

²Graduando em Bacharelado em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS;

⁶Graduado em Ciências Biológicas, Universidade Católica de Pelotas, Pelotas, RS;

⁷Departamento de Bacteriologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

AVALIAÇÃO DE MICRORGANISMOS EM AMOSTRAS DE SECREÇÕES VAGINAIS

Viçosa, J.A.S.^{1*}; Davies, S.¹; Vizzotto, B.S.¹; Welter, M.²; Fischer, J.²; Tamiozzo, L.R.D.²; Pulcinelli, R.S.R.²; Aquino, A.R.C.²; Santos, R.C.V.¹.

RESUMO: Atualmente os corrimentos vaginais são um dos acometimentos mais importantes clinicamente em consultas ginecológicas. Existem fatores críticos para a determinação e direcionamento da identificação e tratamento de pacientes, como odor, prurido, volume e cor. Sabe-se também que alteração no sítio de infecção pode ser em função do desequilíbrio da microbiota vaginal. Com isso informações clínicas das pacientes e a identificação dos microrganismos são importantes para um diagnóstico confiável. Assim, este estudo teve por objetivo avaliar a presença de microrganismos em amostras de secreções vaginais, e apresentar a incidência em diferentes faixas etárias. Para a realização deste estudo foram utilizadas 99 amostras de secreções vaginais, sendo realizadas as respectivas colorações das lâminas pelo método de Gram. Após as análises, houve a detecção de 47 (47,5%) de amostras positivas e 52 amostras negativas (52,5%). As amostras apresentaram oito tipos diferentes de microrganismos, entre os mais representativos foram *Garnerella Vaginallis*, presentes em 17 amostras, resultando em 36,2% e *Candida sp*, estando presente em 15 amostras (31,9%). Com a relação da população mais acometida, ficou evidenciado que as faixas etárias de 16 a 30 anos totalizaram 26 incidências, resultando 55,3% e a de 31 a 45 anos com 12 incidências, totalizaram 25,6% dos pacientes. Assim, pode-se concluir que microrganismos associados a corrimentos vaginais são extremamente frequentes, especialmente associados a *G. vaginalis* e *Candida sp*. A avaliação das amostras e das manifestações clínicas das pacientes, bem como a identificação correta do agente etiológico são fatores fundamentais para adotar medidas que possa minimizar os riscos da população da faixa etária mais acometida por esses microrganismos, auxiliando assim em um tratamento adequado e representando uma melhor qualidade de vida das pacientes.

PALAVRAS CHAVES: Secreções Vaginais, Vaginose, Infecção.

AVALIAÇÃO DE RESISTÊNCIA DE FRUTOS DE PÊSSEGO À PODRIDÃO PARDA CAUSADA POR *Monilinia fructicola*

Santiago, M. F.^{1*}; Ueno, B.²

RESUMO: A podridão parda causada pelo fungo *Monilinia fructicola* tem causado sérios prejuízos na cultura do pêssego na região sul do RS, é considerada a principal doença pós-colheita da cultura. O uso de cultivar resistente seria a melhor alternativa para minimizar as perdas causadas pela podridão parda. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a resistência de quatro cultivares de pêssego Variedade Precocinho, Variedade Cons1228, Variedade Cons1229 e Variedade Cons1211, cultivadas pelo agricultor na região. Devido à variabilidade que existe ainda nos enxertos e porta enxertos usados pelo produtor, foram coletados vinte frutos de cada planta. Mesmo nos casos de genótipos mais uniformes foi adotado o mesmo procedimento. Os frutos de pêssego foram inoculados por microinjeção de 2 µL (1×10^5 conídios) de suspensão de esporos por ponto de inoculação (um por fruto), incubados a $\pm 25^\circ\text{C}$ em ambiente úmido e as avaliações feitas após três dias, medindo-se em eixos ortogonais. O ensaio foi inteiramente casualizado com vinte repetições e a parcela representada por cada fruto inoculado. O teste de Scott-Knott a 5% separou as variedades em dois grupos. As variedades que apresentaram melhor nível de resistência foram a Variedade Precocinho e a Variedade Cons1229 com 11,14 e 16,49 % de inibição respectivamente. As variedades mais suscetíveis foram a Variedade Cons1228 e a Variedade Cons1211 com 0 e 4,74 % de inibição respectivamente. Apesar da diferença estatística ser pequena os resultados demonstram que ao utilizar as variedades Precocinho e a Cons1229 pode-se ter uma diminuição na incidência da podridão parda em frutos de pessegueiro.

PALAVRAS-CHAVE: Resistência, podridão parda, *Monilinia fructicola*.

¹Mestranda em Fitossanidade /UFPel; Email: miccafs@hotmail.com

²Embrapa Clima Temperado, C.P. 403, 96001-970, Pelotas-RS. Email: berueno@cpact.embrapa.br

AVALIAÇÃO DO ACÚMULO DE LIPÍDEO EM LEVEDURAS OLEAGINOSAS ISOLADAS DE QUEIJO COLONIAL ARTESANAL INCUBADAS NOS TEMPOS DE 24 h, 48h e 72h

* Rosa, P.D. ^{1,2}, Poli, J.S. ^{1,2}, Carboni, D. S. ¹, Kanan, J.H.C. ¹, Vainstein, M.H. ², Valente, P. ^{1,2}.

RESUMO: Algumas espécies de leveduras conseguem acumular até aproximadamente 70% do peso seco em lipídeos. O alto teor de lipídeos produzidos, aliado à grande produtividade em biomassa, torna as leveduras excelentes candidatas para produção de óleo microbiano para diversas finalidades. Este trabalho teve por objetivo verificar o acúmulo de lipídeos em 24 linhagens de leveduras isoladas de queijo. Para tanto, as amostras foram coradas com Vermelho de Nilo e observadas em microscópio de fluorescência (450-500nm) por meio de gotas amarelo ouro no interior das células de leveduras durante as 72h de experimento. Todas as linhagens avaliadas apresentaram gotas lipídicas, no entanto, este acúmulo ocorreu em proporções diferentes em cada linhagem observada. Das 24 amostras, 12,5% apresentaram gotículas muito pequenas, 62,5% preencheram entre 30 e 50% do volume celular com gotas lipídicas e 25% das linhagens aparentaram preencher mais de 60% da célula nas primeiras 24h. Em 48h, 8,3% apresentaram gotículas pequenas, 8,3% preencheram entre 50 e 80% do volume celular com gotas lipídicas e 83,3% das linhagens apresentaram uma única gota lipídica indicando preencher mais de 80% da célula, enquanto que nas 72h 91,67% das linhagens apresentaram uma única grande gota lipídica preenchendo mais de 80% da célula, possíveis grandes produtoras de óleo microbiano. Posteriormente, estas linhagens serão identificadas e submetidas a outras avaliações para verificar suas possíveis aplicações biotecnológicas.

PALAVRAS-CHAVE: Leveduras oleaginosas, acúmulo de lipídeo, queijo colonial

¹Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia² Centro de Biotecnologia, Laboratório de Fungos de Importância Médica e Biotecnológica. Av. Bento Gonçalves 9500, Prédio 43421, Agronomia, Porto Alegre, RS. CEP: 91500-970. *pri_dr_rosa@hotmail.com¹
Instituto de ciência básica da saúde (ICBS), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Rio Grande do Sul (RS), Brasil.

AVALIAÇÃO DO MÉTODO DE CRIOPRESERVAÇÃO PARA MANUTENÇÃO DE *Xanthomonas sp*

Costa, L.F.X.^{1,2}; Damasceno, A.P.K.^{1,2}; Machado, M.^{1,2}; Remlinger, M.^{1,2}; Boeira, J.M¹; Oliveira, A.M.R.^{1,3}.

RESUMO: Diferentes métodos estão disponíveis para a preservação de bactérias por longos períodos de tempo. A preservação tem por finalidade a formação de coleção de culturas, para fins de pesquisa ou ainda como controle positivo para uso em análises de rotina em laboratórios de diagnóstico de amostras clínicas, ambientais ou fitossanitárias. Entre estes métodos está a criopreservação, que consiste em armazenar as células em temperaturas entre -20 °C a -80 °C, em freezer, ou em temperaturas ultra-baixas (-150 °C) em nitrogênio líquido. Entretanto, a capacidade da célula permanecer viável utilizando estas metodologias, pode variar entre espécies bacterianas. Desta forma, o objetivo deste trabalho é determinar a viabilidade da utilização do método de criopreservação para a manutenção de isolados de *Xanthomonas sp*. Para isso, dois isolados de *Xanthomonas sp*, obtidos de sementes de arroz, e um isolado de *Xanthomonas carotae*, obtido de cenoura, estão sendo analisados quanto a capacidade de se manterem viáveis em glicerol 80% contendo meio LB e glicerol 15%, ambos a -20°C, e glicerol 80% contendo meio LB, armazenados em nitrogênio líquido (-196°C). As análises estão sendo feitas em 7, 14, 21 dias, e após mensalmente, até concluir o período de um ano. Decorrido até o momento de 90 dias de avaliação, os isolados continuam viáveis e sem alteração das características morfológicas, microscópicas e macroscópicas, o que faz os métodos úteis até o momento.

PALAVRAS-CHAVE: *Xanthomonas sp*; métodos de preservação; viabilidade celular.

AVALIAÇÃO *IN VIVO* DO POTENCIAL PATOGÊNICO DE DIFERENTES ISOLADOS DE *Acanthamoeba* sp.

¹VERISSIMO, C.M.; ¹MASCHIO, V.J*.; ²ROTT, M.B.

RESUMO: Dentre as amebas de vida livre, o gênero *Acanthamoeba* é o mais isolado na natureza. São organismos que eventualmente podem parasitar humanos e animais, causando ceratite e encefalite. Isolados de *Acanthamoeba* spp. são caracterizados por diversos métodos, porém infecção em modelo animal é considerada padrão ouro para determinação do potencial patogênico. O objetivo deste estudo foi verificar o potencial patogênico de isolados ambientais e ATCC de *Acanthamoeba* spp.. A solução estimulante (SE) foi preparada a partir de cultivos em meio PYG, contendo 1×10^6 trofozoítos/mL, cujo pellet após centrifugação foi ressuspensionado em 300 μ L de PBS. Após aprovação do Comitê de Ética de Animais da UFRGS utilizaram-se ratos *Wistar*, os quais tiveram os olhos previamente examinados e tratados com colírio cloranfenicol. Após anestesia geral e local com cloridrato, ambas as córneas foram riscadas com uma agulha estéril. Aplicou-se SE no olho direito e PBS estéril no olho esquerdo, sendo as córneas monitoradas nos dias 1, 3, 7, 13 e 21, pela visualização em lupa, exame microscópico e cultura do raspado da córnea, buscando cistos ou trofozoítos. Avaliaram-se seis isolados, um de ambiente hospitalar (AH1), um de estojo de lentes de contato (LC30) e quatro ATCC (Neff e AP4 ambientais; T4 e AP2 - clínicas). Todos os experimentos foram realizados em duplicata. Somente o rato infectado pela ATCC AP4 apresentou infecção pelo protozoário, sendo este, re-isolado nos dias 1, 3, 7 e 13. Entretanto, não se observou nenhuma alteração na córnea. Esse resultado sugere que quando a infecção ocorre, ela é autolimitada no modelo estudado ou este pode não ser o mais adequado para a verificação do potencial patogênico dos isolados, já que os ratos infectados com cepas ATCC sabidamente patogênicas não apresentaram infecção. Novos estudos são necessários para determinar um melhor modelo de infecção, que permitirá distinguir isolados patogênicos de não-patogênicos de *Acanthamoeba* sp.

PALAVRAS-CHAVE: *Acanthamoeba*; *In vivo*; Patogenicidade

¹Mestrando Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente – UFRGS; vinimaschio@yahoo.com.br

²Professor Orientador Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente – UFRGS.

BIOCONTROLE POR RIZOBACTÉRIAS APÓS INOCULAÇÃO DE PLANTAS COM *Rhizoctonia solani*: IMPACTO POSITIVO SOBRE A QUALIDADE FITOSSANITÁRIA DE SEMENTES

Santos, A.G.^{1,2*}; Freitas, D.A.C.^{1,3}; Schafer, J.T.^{1,4}; Moura, A.B.^{1,5}

RESUMO: O arroz é uma cultura de importância econômica que está sujeita à incidência de várias doenças, como a queima das bainhas incitada por *Rhizoctonia solani*. Seu aumento está relacionado ao uso de adubação nitrogenada e cultivares de ciclo precoce. O controle da doença é difícil, pois, o fungo tem alta capacidade de sobrevivência devido à produção de escleródios. O controle químico é utilizado, porém, contamina o ambiente e é prejudicial a quem aplica o produto. Cultivares resistentes também são usadas como medida de controle, mas são limitadas devido às adaptações sofridas por parte dos patógenos. Assim, o controle biológico, surge como alternativa viável de baixo custo econômico e ambiental. O trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade sanitária de sementes de arroz produzidas por plantas geradas por sementes tratadas com as rizobactérias DFs185 (*Pseudomonas synxantha*), DFs223 (*P. fluorescens*), DFs306 (não identificado), DFs416 e DFs418 (*Bacillus* sp.) e as combinações DFs185/306, DFs185/416 e DFs185/306/416. Como testemunhas sementes foram tratadas com solução salina (T) e salina mais fungicida (T+F). Plantas em casa de vegetação (plantio 2009/2010) foram inoculadas com *R. solani* no estágio V6 e conduzidas até a colheita das sementes. Estas sementes foram submetidas ao teste de sanidade (papel filtro). Após, foram avaliadas quanto à incidência de fungos pela observação em microscópio estereoscópico. Verificou-se que em nenhum dos tratamentos houve presença de *R. solani*. Foi observada a presença de alguns gêneros de fungos manchadores como *Alternaria*, *Bipolaris*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Nigrospora*, *Phoma* e *Gerlachia*, além de outros gêneros fitopatogênicos e aqueles associados ao armazenamento. A rizobactéria DFs418 foi a que resultou em menor porcentagem total de fungos (57,5%) e de fungos manchadores (28,5%). Dentre as combinações, DFs185/306/416 foi a que agiu de forma mais eficiente com incidência de 52,5% de fungos manchadores.

PALAVRAS-CHAVE: *Oryzae sativa*, queima das bainhas, controle biológico, PGPR, sanidade de sementes

¹Faculdade de Agronomia. Departamento de Fitossanidade. Universidade Federal de pelotas. Pelotas, RS.

²PPG em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS. gsbio@hotmail.com

³Bolsista Capes/PNPD. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS.

⁴Doutoranda bolsista CNPq. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS.

⁵Bolsista CNPq produtividade em pesquisa. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS.

BIOFÁBRICAS: *Pichia pastoris* COMO SISTEMA DE PRODUÇÃO DE ANTÍGENOS VACINAIS DE *Leptospira interrogans*

Pereira, M. B.^{1*}; Oliveira, T. L.¹; Schuch, R.¹; Bacelo, K.L.¹; Oliveira, P. D.²; Dellagostin, O. A.¹; Conceição, F.R.²; Hartwig, D. D.¹

RESUMO: *Leptospira interrogans* é o agente etiológico da leptospirose, uma zoonose de distribuição mundial, com grande incidência em regiões tropicais e subtropicais. As leptospirosas causam uma infecção crônica em mamíferos domésticos e silvestres, que albergam estas bactérias em seus rins e as eliminam através da urina. Humanos infectam-se através de contato com a urina destes animais. A prioridade nas pesquisas que visam o controle da leptospirose é o desenvolvimento de uma vacina eficaz, capaz de estimular imunidade duradoura e de amplo espectro. Uma série de antígenos vem sendo testados para uso como vacina no controle da leptospirose. Como subunidade recombinante estes antígenos são expressos em *Escherichia coli*, contudo, em sua maioria, apresentam baixo rendimento de produção, assim como, eficácia variável quando utilizados como vacina. Uma alternativa é a produção destes antígenos na levedura *Pichia pastoris*. Este sistema é considerado eficiente, de fácil uso, barato e permite a expansão da produção para escalas industriais. Adicionalmente, para uso como vacina, esta levedura tem demonstrado atuar como um adjuvante natural. Neste estudo, produzimos a proteína LigANI, que corresponde aos seis domínios repetidos da região C-terminal da proteína LigA (*leptospiral immunoglobulin-like*) de *L. interrogans*, em *P. pastoris* e avaliamos o potencial imunogênico de suas formas glicosilada e não-glicosilada. Para tanto, LigANI foi expressa em *P. pastoris*, utilizando biorreator de bancada. A proteína foi obtida do sobrenadante do cultivo (secretada), concentrada e utilizada para inocular hamsters. LigANI glicosilada induziu uma resposta imune humoral, composta por anticorpos IgG específicos ($P < 0.001$), detectados através de ELISA. Em sua forma deglicosilada esta proteína não apresentou tal capacidade. Estes resultados demonstram que a produção da proteína LigANI em levedura foi eficiente, e que esta apresentou-se imunogênica, o que justifica seu uso em ensaios futuros, na melhor caracterização de seu potencial como vacina.

PALAVRAS-CHAVE: *Leptospira interrogans*, *Pichia pastoris*, LigANI.

¹ Laboratório de Vacinologia, Centro de Biotecnologia, CDTEC, UFPel, Pelotas, RS, Brasil.

* Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário – Caixa Postal 354 – CEP 96010-900. mbrutschin@gmail.com

² Laboratório de Imunologia Aplicada, Centro de Biotecnologia, CDTEC, UFPel, Pelotas, RS, Brasil.

BIOPROSPECÇÃO DE ISOLADOS DE *Trichoderma* spp. PARA CONTROLE DE *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris*)

Ribas, P.P^{1*}; Matsumura, A.T.S²; Van Der Sand, S.T¹.

RESUMO: O uso de microrganismos como fungicidas biológicos e inoculantes tem tomado espaço no cenário agrícola mundial, reduzindo a utilização de produtos químicos que causam impactos ambientais. O estudo de diferentes microrganismos com essa finalidade tem demonstrado resultados iguais ou superiores aos produtos químicos, o que facilita a implementação do controle biológico como prática. Dentre as culturas onde o controle biológico é possível destaca-se a cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris*), que é atingida por diversas doenças causadas por fungos de solo, como *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*, que provoca uma severa doença vascular conhecida como murcha-de-fusarium. O fungo *Trichoderma* spp. reconhecidamente atua no controle biológico de diferentes patógenos em várias culturas de importância agrícola. Outro benefício, mais recentemente atribuído a essa espécie, é a promoção de crescimento vegetal. O objetivo deste trabalho foi selecionar isolados com atividade contra o patógeno *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli*, que também promovesse o crescimento na cultura aplicada. Para isso foram testados 25 isolados de *Trichoderma* spp. provenientes de diferentes regiões do estado de Goiás, (região produtora) e o isolado FOPEM10 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* pertencente a micoteca do Laboratório de Micologia Ambiental-UFRGS. Para o início da bioprospecção foram realizados testes de confronto direto entre o antagonista e o patógeno, avaliação da produção de metabólitos voláteis, produção de sideróforos, e produção de Ácido Indol-acético (AIA). Todos os isolados mostraram capacidade antagonística, produção de sideróforos e AIA, variando na produção de metabólitos voláteis. Para a completa bioprospecção ainda serão realizados experimentos de solubilização de fosfatos, produção de fosfatases, quitinases, proteases e glucanases, bem como experimentos em casa de vegetação.

PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico, promoção de crescimento, bioprospecção, *Trichoderma* spp.

1- Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente. Laboratório de Micologia Ambiental, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rua Sarmiento Leite, 500//209, Porto Alegre, RS.* prirbs@yahoo.com.br
2- Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ICB Bioagritec Ltda.

CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS E FÍSICO-QUÍMICAS DE *TOPPING* DE MORANGO

Rodrigues, A. A.¹; Rodrigues, S. A.²; Vendruscolo, C. T.³

RESUMO: *Topping* é um tipo de cobertura/recheio de sabor doce, levemente ácido, caracterizado pela presença de frutas inteiras ou em pedaços, que se encontram em suspensão em uma base líquida viscosa. O objetivo do trabalho foi avaliar a influência da combinação de polissacarídeos e da substituição de suco por água nas características físico-químicas e desenvolvimento de contaminação microbiológica em 10 formulações de *Topping* de morango com diferentes espessantes (CMC e Xantana) e variação do teor de suco na fase líquida. Para avaliação microbiológica as amostras foram homogeneizadas, trituradas em recipiente estéril e uma alíquota utilizada para as diluições seriadas (10^{-1} até 10^{-7}), que foram submetidas à determinação de bolores e leveduras em ágar batata dextrosado e contagem de mesófilos aeróbios em ágar padrão para contagem. Nas análises físico-químicas, foram determinados pH em potenciômetro de bancada digital; teor de sólidos solúveis totais – SST (°Brix) por leitura direta em refratômetro de bancada à 25°C; umidade por desidratação e diferença de gravimetria; e viscosidade da fase líquida em viscosímetro Visco Tester 6L Thermo Haake. O pH das amostras variou de 3,07 a 3,22; os SST foram de 25,15 até 30,18°Brix e a umidade de 52,86 a 75,67%. Os espessantes e a concentração de suco utilizada tiveram influência direta na viscosidade aparente das amostras, sendo que a goma xantana e o suco de morango originam *toppings* mais viscosos. A combinação entre xantana e 100% de suco propiciou maior viscosidade (538mPa.s, a 30rpm), enquanto que a amostra menos viscosa foi a formulação com CMC e água (0% de suco) (470mPa.s, a 30rpm). Os resultados microbiológicos mostraram que as 10 formulações estavam de acordo com a legislação, e apresentaram quantidade inferior a 10^4 UFC.mL⁻¹ para bolores e leveduras e para mesófilos aeróbios, indicando que a acidificação, o tratamento térmico e o acondicionamento foram adequados para a conservação.

PALAVRAS-CHAVE: qualidade microbiológica; morango; *topping*; qualidade físico-química

Universidade Federal de Pelotas – Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. amanda.bio2005@gmail.com

¹Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS. ²Coordenação de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Ponta Grossa, Ponta Grossa/PR. ³Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos; Centro de Desenvolvimento Tecnológico, PPG em Biotecnologia; PPG em Ciência e Tecnologia Agroindustrial; Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS.

CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DE QUEIJO MUZZARELLA DE BÚFALA PRODUZIDO NA CIDADE DE RIO GRANDE, RIO GRANDE DO SUL

¹Ferrasso, M. de M.*; ¹Silveira, D. R.; ¹Bisol, L. B.; ²Silva, C. S. J. da; ¹Siebel, J. C.; ³Timm, C. D.;
³Gonzalez, H. de L.

RESUMO: O queijo, em virtude de sua composição, com elevado conteúdo de proteínas, lipídios, carboidratos, sais minerais, cálcio, fósforo e vitaminas, é um alimento bastante nutritivo, mas torna-se também uma fonte potencial para microorganismos deteriorantes e patogênicos que são provenientes da matéria-prima ou podem ser adquiridos no processamento do produto. Sendo importante o controle de qualidade e inspeção, pois, a comercialização do produto em desacordo com os padrões de qualidade microbiológica vigentes pode promover a ocorrência de casos e de surtos de doenças transmitidas por alimentos. O objetivo do presente trabalho foi realizar um levantamento sobre as características microbiológicas do queijo muzzarella de búfala proveniente de uma indústria da região sul do Rio Grande do Sul. Foram utilizadas 14 amostras analisadas no período de junho de 2009 a julho de 2011, no Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Pelotas. As análises realizadas foram contagem de coliformes termotolerantes, contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, pesquisa de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*. Segundo a Instrução Normativa nº 12 de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária e da Portaria nº 364, de 04 de Setembro de 1997 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento todas as amostras analisadas encontravam-se dentro dos padrões estipulados para a contagem de coliformes termotolerantes, ausência para *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*. Para contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva encontrou-se 14,28% (n=2) das amostras acima do permitido. Os *Staphylococcus* coagulase positiva, estão relacionados com a contaminação da matéria-prima ou no laticínio, quando esses são acrescidos ao derivado após o tratamento térmico, a partir de manipuladores ou equipamentos, indicando falta de higienização. Os resultados obtidos indicam a necessidade de melhorias no processamento industrial do leite de búfala.

PALAVRAS-CHAVE: Alimentos, higiene, análises microbiológicas.

¹Acadêmica em Medicina Veterinária FV/ UFPel – Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal.

²Acadêmica em Química de Alimentos UFPel – Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal.

³Professor Doutor de Inspeção de Leite e Derivados, Departamento de Veterinária Preventiva - Laboratório de Inspeção Produtos de Origem Animal FV/ UFPel.

CARBONO DA BIOMASSA E RESPIRAÇÃO MICROBIANA EM TERRA PRETA DE ÍNDIO EM IRANDUBA/AM

Muniz, A. W. ^{1*}; Garcia, M. ¹; Martins, G. C. ¹; Cabrera, L.T. ²

O solo de terra preta de índio caracteriza-se por sua fertilidade. Essa fertilidade baseia-se nos altos teores de carbono orgânico e nutrientes como fósforo. O objetivo desse trabalho foi avaliar o carbono da biomassa (CBM) e respiração microbiana em terra preta de índio no município de Iranduba-AM. Foram coletadas amostras de solo em três sistemas de uso da terra: cultivada com mamoeiro, em pousio e com capoeira. O processamento das amostras consistiu no peneiramento em malha de 2 mm e retirada de todas as raízes. Em seguida a respiração basal e o carbono da biomassa microbiana foram determinados com IRGA (Infra Red Gas Analyser). Através da relação entre a respiração basal e o carbono da biomassa microbiana foi determinado o quociente metabólico (qCO_2). Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância com medidas repetidas e ao teste de separação de médias de Tukey. A RB foi maior na área em pousio, do que nas demais áreas estudadas. O CBM e o qCO_2 não apresentaram diferenças nos sistemas estudados. O cultivo de mamão não aumenta o fluxo de CO_2 em terra preta de índio e diminui o carbono da biomassa microbiana. Apesar da maior respiração basal no sistema em pousio, a terra preta de índio apresenta alto grau de resiliência em função do uso do solo.

PALAVRAS-CHAVE: quociente metabólico, uso da terra, fluxo de CO_2

^{1*} Embrapa Amazônia Ocidental, Embrapa, Manaus,AM; aleksander.muniz@cpaa.embrapa.br

² Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus,AM

COMPARAÇÃO ENTRE AS VELOCIDADES DE CRESCIMENTO RADIAL DE *Byssochlamys fulva* EM POLPAS DE FRUTAS TROPICAIS

Silva, P. R. S.^{1*}; Mann, M. B.²; Marczak, L.D.F.¹, Tessaro I.C.¹, Van Der Sand, S.T.²

RESUMO: *Byssochlamys fulva* é um fungo filamentosos encontrado no ambiente, principalmente no solo, sendo responsável pela deterioração de produtos alimentícios à base de frutas, mesmo aqueles submetidos a tratamento térmico. A sua capacidade de germinar e crescer em meio anaeróbico facultativo, produzir micotoxinas em alimentos e, principalmente, gerar esporos termoresistentes torna relevante o estudo da fisiologia desse microrganismo, em particular a avaliação da velocidade de crescimento micelial. Dentro deste contexto, neste trabalho foram investigados os efeitos do tipo de substrato e da temperatura sobre a taxa de crescimento radial desse fungo. Para isso, foi monitorado o diâmetro da colônia formada por esse microrganismo em polpas de mamão, melão, tomate, abacaxi, morango e pêsego. Após inoculação as placas foram divididas em dois conjuntos e armazenadas em estufas a 25°C e 28°C. Todo o experimento foi realizado em triplicata para cada condição investigada (polpa de fruta/temperatura). As placas foram mantidas na estufa por no máximo 7 dias, acompanhando-se o diâmetro da colônia do fungo diariamente. O diâmetro da colônia foi medido em quatro direções distintas, a partir das linhas perpendiculares traçadas na base da placa. Para fins de cálculos, registrou-se o diâmetro médio obtido a partir das leituras efetuadas. A taxa de crescimento foi calculada a partir do emprego do modelo linear, cujo coeficiente de correlação oscilou entre 0,9661 e 0,9999. Como resultado, verificou-se que a velocidade de crescimento é afetada pelos dois fatores. A maior taxa de crescimento radial foi encontrada em polpa de melão a 28°C, atingindo 14,89 mm/dia. O crescimento mais lento foi observado em polpas de pêsego, abacaxi e morango, a 25°C, obtendo-se o valor médio de 7,59 mm/dia.

PALAVRAS-CHAVE: *B. fulva*, crescimento radial, polpa de frutas

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

¹ Laboratório de Tecnologia de Processamento de Alimentos, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS; paulorseq@ig.com.br

¹ Laboratório de Micologia Ambiental, Departamento de Microbiologia Agrícola e Ambiental, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS

COMPORTAMENTO DE *Salmonella* SOROTIPO ENTERITIDIS EM DOCE DE LEITE PASTOSO

Silveira, D.R*; Lopes, N.A; Lima, H.G; Timm, C.D.

RESUMO: A *Salmonella* é um importante patógeno, que utiliza como reservatório o trato gastrointestinal do homem e de animais causando enfermidades, sendo, portanto, de grande importância na inspeção de alimentos. O doce de leite é um alimento obtido por concentração do leite adicionado de sacarose. Presume-se que este alimento apresente barreiras que diminuam a probabilidade de contaminação e viabilidade de microrganismos patogênicos, como a *Salmonella*. A prática de fracionar o doce de leite para comercialização em varejo facilita a sua contaminação, com consequentes riscos ao consumidor. Este trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo Enteritidis em doce de leite pastoso. *Salmonella* Enteritidis ATCC 14028 e LIPOA 2024 (previamente isolada de salsichão suíno) foram cultivadas em caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI) a 37 °C por 24 horas. Alíquotas de 25 g do doce de leite pastoso foram contaminadas com os inóculos preparados de forma a obter-se a concentração final de 10² células bacterianas/g de doce. As amostras foram analisadas após 0, 1, 2, 3, 5, 10 e 20 dias de estocagem a aproximadamente 25 °C. As contagens de *Salmonella* foram realizadas pelo método de número mais provável (NMP) utilizando-se tubos com água peptonada tamponada. A presença de *Salmonella* em cada tubo foi pesquisada conforme recomendado por U.S. Food and Drug Administration. O experimento foi realizado em triplicata. As populações das duas cepas estudadas entraram em declínio a partir do dia 0. A cepa isolada de salsichão se manteve viável até o terceiro dia, não sendo recuperada nos dias subsequentes, já a cepa de referência sobreviveu até o vigésimo dia, apresentando maior capacidade de adaptação. Esses resultados indicam que linhagens e sorotipos de *Salmonella* tem se adaptado ao ambiente dos alimentos de maneiras diferentes.

PALAVRAS-CHAVE: *Salmonella*, enteritidis, doce de leite, comportamento

CONTROLE BIOLÓGICO DE *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* EM TOMATE POR RIZOBACTÉRIAS

Rocha, D.J.A^{*1,2}; Moura, A.B^{1,3}

RESUMO: A cultura do tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é afetada por diversas doenças de importância econômica. Destaca-se a murcha de fusário causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Em face de indisponibilidade de cultivares com resistência à este patógeno, métodos de controle alternativos devem ser pesquisados. Nesse contexto, o controle biológico pelo uso de rizobactérias promotoras de crescimento (PGPR) pode ser uma alternativa viável no controle da murcha de fusário. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia da microbiolização de sementes de tomate com rizobactérias no controle da murcha de fusário em casa de vegetação. Sementes de tomate cv. Marmande foram microbiolizadas com rizobactérias selecionadas para controle de doenças de tomate: DFs1296 e DFs1315 (*Streptomyces*), DFs1414, DFs1420 e DFs1423 (*Bacillus*) e DFs1421 (*Pseudomonas*). As sementes foram imersas sob agitação (4°C/4 h), em suspensão bacteriana com 24 h de crescimento ($A_{540} = 0,50$). O tratamento testemunha constituiu de sementes imersas em salina (0,85%). A semeadura foi realizada em copos de 700 mL contendo substrato não esterilizado. Após 30 dias foi realizada a inoculação de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* através da adição ao substrato de 50 mL da suspensão de esporos (10^4 conídios/mL). Um tratamento adicional constituiu da aplicação foliar do produto químico acibenzolar-S-metil (Bion[®] 0,05g/L), iniciada antes da inoculação do patógeno e repetida em intervalos de sete dias. As avaliações foram feitas aos 28 dias após a inoculação através de escala de notas de 0 a 4. As rizobactérias DFs1296 e DFs1315, assim como acibenzolar-S-metil reduziram significativamente os sintomas de murcha comparado com a testemunha. Estas duas rizobactérias pertencem ao gênero *Streptomyces*, o qual é conhecido como importante produtor de antibióticos, sendo isto um indicativo do mecanismo da ação predominante, porém é possível que outros mecanismos também estejam atuando, como competição por nutrientes e/ou indução de resistência.

PALAVRAS-CHAVE: *Solanum lycopersicum*; requeima; PGPR.

¹Universidade Federal de Pelotas, 96010-900, Capão do Leão, RS, Brasil;

²Mestrando em Fitossanidade, bolsita Capes; dedielrocha@hotmail.com

³Professora bolsista em Produtividade em Pesquisa CNPq.

COPPER BIOREDUCTION: A PATHWAY FOR BIOREMEDIATION

Andreazza, R.¹; Pieniz, S.²; Camargo, F. A. O.¹

Abstract: High copper concentrations are toxic for living organisms, including humans. Copper detoxification strategies are needed in copper contaminated areas; however, it is necessary to know how to mitigate these environments. Thus, the aim of this study was to evaluate the reduction of the Cu(II) to Cu(I) by a isolate (*Pseudomonas* sp. NA) highly copper resistant, and its main pathway for bioremediation. The bacteria NA was isolate from a copper contaminated soil, selected and tested for copper resistance, copper bioreduction and biosorption in liquid medium amended with different copper concentrations and environment conditions, such as temperature, time course and pH. The characterization with the isolate NA showed high similarity in the copper concentrations reduced (Cu(I)) with the copper concentrations bioremoved for the cells. All results obtained in this study and compared with the literature demonstrate high importance of the reduction of the Cu(II) for copper up take by the bacteria cells. It is due the transport mechanisms of the copper. Cu(II) can be reduced to Cu(I) on the surface of the cells or near to the outer membrane. Also, Cu(II) from the medium can pass through the outer membrane by mass diffusion, where it undergoes reduction by copper reductase(s) between inner and outer membranes. Cu(I) is then pumped into the cell by ATPases. Within the cell, copper can be Cu(I) and Cu(II), depending on redox conditions. So, this study demonstrated that *Pseudomonas* sp. NA, a highly copper-resistant bacterium produces copper reductase, a key enzyme in copper bioremoval. Cell-free copper reductase can be used to facilitate copper bioremoval in bioreactor systems. Furthermore, it can be used to develop biosensors for real time detection of Cu(II).

KEYWORDS: Copper reductase; copper biotransformation; copper up take; bioremediation.

¹ PPG em Ciência do Solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS; robsonandreazza@yahoo.com.br
² PPG em PPG em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

DETECÇÃO DA PRESENÇA DE *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* EM SEMENTES DE ARROZ UTILIZANDO O TESTE DE ELISA

Machado, M*^{1,2}; Damasceno, A.P.^{1,2}; Remlinger, M.^{1,2}; Cardoso, G. W. N.³; Xavier, L.^{1,2}; Boeira, J; Teló, P.S.³; Fialho, M.³; Oliveira, A.M.R.^{1,4}.

RESUMO: A espécie *Xanthomonas oryzae* é conhecida mundialmente por ser o agente causador de doenças em plantas de arroz. Essa espécie inclui dois patovares *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* e *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*. *Xanthomonas oryza* pv. *oryzae*, coloniza os vasos do xilema provocando o crestamento bacteriano, doença infecciosa de implicações econômicas relevantes para produtores de arroz. O Brasil é importador de sementes de arroz híbridas, o que aumenta o risco de introdução da bactéria, que atualmente não ocorre no país. O objetivo desta pesquisa foi detectar a presença da bactéria *Xanthomonas oryza* pv. *oryzae* em sementes de arroz importadas pelo Brasil empregando a técnica de ELISA indireto. Foram analisados 106 isolados de bactérias Gram negativas, com características típicas de *Xanthomonas* sp em meio de cultura, obtidos de sementes de arroz provenientes da Argentina e Uruguai, utilizando antissoro monoclonal específico (Agdia Inc. BRA 85000). Dos isolados analisados, 82 apresentaram resultado negativo e 11 foram positivos em testes realizados em duplicata e com duas repetições. Considerando que até o momento a bactéria é considerada pela legislação brasileira praga quarentenária A1 (ausente no país), os isolados positivos no teste de ELISA foram submetidos a PCR, usando primers específicos para a identificação *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* e *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*, e apresentaram resultado negativo. Os resultados indicam a necessidade da investigação da patogenicidade dos isolados em plantas de arroz, para determinar se a reação positiva no teste de ELISA é devido à ocorrência de reação cruzada do antissoro com outras bactérias e descartar possíveis falhas dos primers utilizados na reação da PCR em detectar o patógeno.

PALAVRAS CHAVE: Detecção de bactérias, ELISA, *Xanthomonas oryzae*.

^{1,4}Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS)

²Curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia (UERGS)

³Agronômica Lab. de Diagnóstico Fitossanitário e Consultoria

DETECÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS E PREVALÊNCIA DE GENES DE RESISTÊNCIA A β -LACTÂMICOS DE BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS ISOLADAS NAS ÁGUAS DO ARROIO DILÚVIO

Oliveira, D. V.^{1*}; Carvalho, T. S.²; Medeiros, A. W.¹; Frazzon, A.P.G.²; Van Der Sand, S.²

RESUMO: O Arroio Dilúvio faz parte de uma importante bacia do município de Porto Alegre, RS, possuindo 17.605m de extensão sendo a nascente no município de Viamão e deságue no Lago Guaíba, que recebe vários tipos de dejetos oriundos de esgoto pluvial, doméstico e hospitalar. Sendo assim, o Arroio recebe uma população microbiana diversificada, podendo alguns destes microrganismos apresentar resistência a diferentes antimicrobianos e, portanto, atuar como possíveis disseminadores de genes de resistência. O objetivo do presente estudo foi avaliar a diversidade da população bacteriana Gram negativa das águas do Arroio Dilúvio, buscando identificar e caracterizar a população de acordo com o seu perfil de resistência a antimicrobianos e detectar a presença de genes de resistência a β -lactâmicos utilizando PCR. As coletas ocorreram em cinco pontos ao longo do curso do arroio, nas diferentes estações do ano. As amostras passaram por isolamento e esgotamento da população bacteriana através da semeadura em placas contendo diferentes meios de cultura seletivos. A caracterização do perfil de resistência foi realizada utilizando o método de difusão em ágar utilizando discos antibióticos de diferentes classes. Após a identificação bacteriana através de testes bioquímicos foi observada a prevalência de bactérias da família Enterobacteriaceae. Aproximadamente 67% dos isolados eram das coletas 1 e 3, cerca de 52% dos isolados da coleta 2 e mais de 95% da coleta 4 foram resistentes a pelo menos dois antimicrobianos. Quanto à presença dos genes de resistência foi detectado em 43,54% (27/62) dos isolados a presença dos genes, *bla*_{TEM}, e/ou *bla*_{SHV}. Dentre estes 33,87% (21/62) foram positivos para o gene *bla*_{TEM}, 9,67% (6/62) para o gene *bla*_{SHV} e 3,22% (2/62) foram positivos para ambos os genes.

PALAVRA-CHAVE: Bactérias Gram-negativas, resistência a β -lactâmicos, Arroio Dilúvio.

¹Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente -UFRGS. ²Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde- UFRGS ³ danieloliveira82@gmail.com

DETECÇÃO DE *ARCHAEA* EM LEITE UHT ATRAVÉS DE PCR

Barth Jr, V. C.*; Cattani, F.; Ferreira, C.A.S.; Oliveira, S.D.

RESUMO: O tratamento térmico UHT visa à eliminação de microrganismos no leite, aumentando o tempo de prateleira do produto e diminuindo riscos à saúde. Porém, alguns microrganismos podem resistir a este processo. No domínio *Archaea*, existem grupos termófilos e termorresistentes candidatos a sobreviverem a este tratamento térmico, possivelmente atuando na diminuição do tempo de prateleira do produto. A detecção destes microrganismos por PCR não é capaz de distinguir células mortas de células viáveis, o que pode ser contornado pela utilização do propídio monoazida (PMA), uma vez que este se liga ao DNA derivado de células com membranas rompidas, impedindo sua amplificação na PCR e, assim, permitindo a detecção seletiva de células viáveis. Portanto, devido à inexistência de relatos analisando a presença de microrganismos deste domínio em leites, o objetivo deste trabalho foi estabelecer um protocolo de detecção de microrganismos viáveis do domínio *Archaea* em leite UHT através de PCR. A padronização do protocolo foi realizada através da contaminação de amostras de leite com DNA genômico de *Halobacterium salinarum* ATCC 19700 correspondendo a uma concentração de 10^6 Unidades Formadoras de Colônia por mililitro. O isotiocianato de guanidina foi empregado para a extração de DNA, que foi utilizado como molde para a amplificação através de PCR. Depois de padronizada, a técnica foi aplicada a nove amostras de leite UHT pertencentes a sete diferentes marcas. A concentração de PMA necessária para a inibição total da amplificação do DNA proveniente de células mortas foi de 20 µg/mL. Todas as amostras testadas continham DNA de *Archaea*, no entanto pertenciam a células não viáveis, uma vez que resultaram em produtos de amplificação apenas em amostras não tratadas com PMA. Desta forma, a técnica mostrou-se aplicável à matriz leite, mas é necessário um incremento no número amostral para aumentar a probabilidade de detecção de células viáveis de *Archaea*.

PALAVRAS-CHAVE: Contaminantes lácteos; Microrganismos termorresistentes; PMA; Viabilidade celular.

DETECÇÃO DE MICRORGANISMOS DO AMBIENTE EM UMA INSTITUIÇÃO DO INTERIOR DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL - RS

Temp, F.R.^{1*}; Alves, C.F.S.¹; Moreira, M.¹, Santos, R.C.V.¹, Vaucher, R. A.¹

RESUMO: Infecção Hospitalar é aquela adquirida após a admissão do paciente e que se manifesta durante a internação ou após a alta, quando puder ser relacionada com a internação ou procedimentos hospitalares. Elas representam complicações relacionadas à assistência à saúde e constituem a principal causa de morbimortalidade hospitalar. Os fatores que apontam as infecções hospitalares como um grave problema de saúde pública são: procedimentos cada vez mais invasivos; o uso indiscriminado e a resistência aos antimicrobianos. O objetivo deste trabalho é determinar a prevalência e o perfil de resistência de microrganismos isolados do ambiente hospitalar de uma Instituição do interior do estado do Rio Grande do Sul. As coletas foram efetuadas, através da inserção de um *swab* estéril em diferentes superfícies hospitalares escolhidas aleatoriamente e/ ou escolhidas pela Comissão de Controle de Infecção Hospitalar da Instituição. Foram coletadas 60 amostras. Destas, em 40 (66,7%) ocorreu crescimento bacteriano e em 25 (41,7%) ocorreu crescimento de leveduras. O microrganismo mais prevalente para o crescimento bacteriano foi *Staphylococcus aureus* 33,3%, e para o crescimento fúngico foi *Candida não albicans* 8,3%. Quando verificado o perfil de resistência dos cocos Gram-positivos, 80,9% foram resistentes a oxacilina, e dos bacilos Gram-negativos, 68,4% foram resistentes a cefazolina. O monitoramento do ambiente e o conseqüente reconhecimento da microbiota hospitalar são de extrema importância para a prática clínica segura.

PALAVRAS-CHAVE: Infecção hospitalar, prevalência, resistência aos antimicrobianos.

¹Laboratório de Microbiologia, Centro Universitário Franciscano (UNIFRA), Santa Maria, RS, Brasil

Email: fe_temp@hotmail.com

DETECÇÃO DE VÍRUS POR AMPLIFICAÇÃO EM CÍRCULO ROLANTE E SEQUENCIAMENTO DE DNA EM AMOSTRAS DE URINA DE PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS

SILVA, L.C.¹; COMERLATO, J.²; OLIVEIRA, M.T.³; ARANTES, T.S.⁴; HENTGES, L.P.⁵; CIBULSKI, S.P.⁶; CAMPOS, F.S.⁷; FRANCO, A.C.⁸; ROEHE, P.M.^{9,10}

RESUMO: Infecções virais oportunistas, associadas com rejeição do enxerto em pacientes transplantados renais, têm aumentado com frequência nos últimos anos. Este trabalho teve como objetivo identificar possíveis vírus com genoma de DNA em amostras de urina de pacientes submetidos a transplante renal. Oitenta e três amostras de urina foram recolhidas de pacientes submetidos a transplante renal no Complexo Hospitalar Santa Casa, Porto Alegre, RS, no ano de 2007. O DNA foi extraído e amplificado utilizando-se a técnica de amplificação por círculo rolante (ACR) com primers aleatórios. Posteriormente, os amplicons obtidos foram clivados com enzimas de restrição, clonados no vetor pCR 2.1 e transformados em *Escherichia coli*. A detecção dos insertos foi realizada através de restrição enzimática e eletroforese em gel de agarose. Subsequentemente, estes foram sequenciados e comparados por análises filogenéticas. Seis amostras de urina foram processadas até a etapa de sequenciamento. Em umas das amostras foi identificado um genoma que apresentou 99% de similaridade com o genoma do poliomavírus JC. As demais amostras apresentaram DNA de outros microorganismos ou de genes humanos. O trabalho encontra-se em andamento, porém, a presença de poliomavírus no trato urinário em conjunto com a imunossupressão iatrogênica em pacientes transplantados renais pode resultar na rejeição do enxerto, evidenciando a necessidade de acompanhamento clínico e diagnóstico dos pacientes transplantados.

Palavras-chave: ACR, transplantes renais, poliomavírus.

¹ Acadêmica de Biomedicina, FEEVALE e IC do Laboratório de Virologia – UFRGS.

² Mestranda do PPGMAA/ UFRGS, Bacharel em Biomedicina, FEEVALE.

³ Mestre pelo PPGMAA/ UFRGS, Bacharel em Biomedicina, UFRGS.

⁴ Laboratório de Virologia - UFRGS, Bacharel em Biomedicina, FEEVALE.

⁵ Mestrando do PPGMAA /UFRGS, Bacharel em Biomedicina, UFSCPA.

⁶ Mestrando do PPGCV /UFRGS, Bacharel em Biomedicina, UFSCPA.

⁷ Doutorando do PPGCV /UFRGS, Mestre em Microbiologia, Médico Veterinário, UFPEL.

⁸ Doutora pelo PPGCV/UFRGS, Mestre pelo PPGCV- UFRGS, Médica Veterinária, UFRGS.

⁹ PhD em Virologia pela University of Surrey, UK, M.Sc. em Microbiologia pela University of London, UK, Médico Veterinário, UFRGS.

¹⁰ FEPAGRO – Saúde animal – Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (IPVDF).

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE AMEBICIDA DE EXTRATOS DE *Acanthospermum australe* FRENTE À *Acanthamoeba polyphaga*

Castro, L.C^{1,2}; Sauter, I.P^{1*}; Dall'Agnol, R²; Cibulski, S.P.³; Ethur, E.M⁴; Kauffmann, C²; Roehe, P.M^{1,3}; Van Der Sand, S^{1,5}; Rott, M.B^{1,5}.

RESUMO: Amebas de vida livre (AVL) constituem um grupo de protozoários amplamente dispersos na natureza. *Acanthamoeba* é um dos principais gêneros das AVL e ocorre sob as formas trofozoítica (metabolicamente ativa) e cística (de resistência). Algumas espécies de *Acanthamoeba* são patógenos oportunistas podendo causar Ceratite Amebiana. Diversos antimicrobianos podem ser usados contra este protozoário. Entretanto, devido a sua capacidade de encistar no sítio da infecção, podem se tornar resistentes ao tratamento. Assim, a pesquisa de novas terapias é essencial, sendo os produtos de origem natural uma valiosa fonte para novos fármacos. A espécie *Acanthospermum australe* é uma planta comumente encontrada em todo o país, popularmente conhecida como carrapichinho ou carrapicho-de-carneiro. Esta planta cresce de forma abundante em solos agrícolas e em pastagens e tem sido aplicada pela população nos tratamentos de diversas doenças, até mesmo como vermífugo e antimalárico. O presente trabalho teve como objetivo verificar a atividade amebicida dos extratos hidroetanólico e aquoso de *A. australe*. A planta foi coletada no município de Lajeado/RS – Brasil. Os extratos hidroetanólicos e aquoso foram obtidos por maceração estática e infusão, respectivamente. Para avaliar a atividade amebicida, foram testadas as concentrações 10, 5, 2,5, 1,25 e 0,625 mg/mL. O extrato foi inoculado em placa de 96 poços contendo trofozoítos de *Acanthamoeba polyphaga*, sendo os resultados obtidos pela contagem em hemocitômetro após 24h. Para avaliar a citotoxicidade dos extratos, foi feito o ensaio de MTT. O extrato aquoso não teve atividade amebicida quando comparado ao grupo não tratado, enquanto o extrato hidroetanólico foi capaz de matar 100% dos trofozoítos, na concentração de 10 mg/mL. Ambos os extratos mostraram-se citotóxicos, capazes de matar 100% das células de mamíferos utilizadas no ensaio de MTT. Assim, mais estudos devem ser realizados para verificar a possível utilização de componentes específicos do extrato hidroetanólico no tratamento da ceratite.

PALAVRAS-CHAVES: *Acanthamoeba*, *Acanthospermum australe*, Ceratite Amebiana.

1 Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente; ICBS/UFRGS, Rua Sarmiento Leite, 500, Sala 052, CEP 90050-170, Porto Alegre, RS, Brasil. ipsauter@gmail.com

2 Curso de Farmácia, UNIVATES, Avenida Avelino Tallini, 171, Bairro Universitário, CEP 95900-000, Lajeado, RS, Brasil.

3 Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 9090, 91540-000 Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

4 Programa de Pós-Graduação em Ambiente e Desenvolvimento, UNIVATES, Avenida Avelino Tallini, 171, Bairro Universitário, CEP 95900-000, Lajeado, RS, Brasil.

5 Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, ICBS/UFRGS, Rua Sarmiento Leite, 500, Sala 158, CEP 90050-170, Porto Alegre, RS, Brasil.

DETERMINAÇÃO DA FORMAÇÃO E DA REMOÇÃO DE BIOFILME FÚNGICO EM BRÁQUETES ORTODÔNTICOS POR ANTISSEPTICOS BUCAIS.

Palagi I.O.S.*; Guedes J.S.; Fuentefria A. M.

RESUMO: O uso de aparelhos ortodônticos surgiu na odontologia como instrumento capaz de corrigir problemas estéticos e funcionais da arcada dentária humana. Contudo, a superfície irregular dos bráquetes promove abrasão da mucosa oral, bem como retenção de alimento o que dificulta a higiene oral e promove maior susceptibilidade ao desenvolvimento de microrganismos oportunistas como certas leveduras. O presente estudo visa determinar a formação de biofilme de *Candida* spp. sobre bráquetes ortodônticos através do método da gota modificado e se antissépticos bucais presentes no mercado são capazes de remover essa camada. Primeiramente foi realizada uma suspensão de 10^6 UFC/mL de *Candida albicans*, *C.krusei*, *C.tropicalis*, *C.dublinsiensis* e *C.parapsilosis* em caldo TSB por um período de 24 horas a 32°C . Posteriormente, 1mL dessa cultura foi adicionado a 99mL de água peptonada estéril desenvolvendo a solução mãe para teste de formação de biofilme. Nessa solução os bráquetes foram imersos e incubados a 32°C um período de 72h e 96h. Através de um sonicador removeram-se as células aderidas na superfície testada e, por conseguinte uma alíquota de 20 μL de diluições decimais seriadas foram semeadas em meio Ágar Batata, pelo método da gota, para posterior contagem das colônias. Para avaliação da capacidade de remoção do biofilme seguiram-se os passos iniciais anteriores: os bráquetes foram removidos da solução mãe em diferentes tempos, mas imersos em soluções de antissépticos bucais, com diferentes diluições, por tempos propostos pelo fabricante. O estudo encontra-se em fase de desenvolvimento, com o ensaio de formação e remoção de biofilme já padronizado para fungos leveduriformes.

DIFUSÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS PRODUZIDOS POR ACTINOMICETOS ENDOFÍTICOS EM MEIO SÓLIDO COM ATIVIDADE ANTIFÚNGICA CONTRA *Bipolaris sorokiniana*

Minotto, E.¹; Milagre, L.², Feltrin, T.³, Mann, M.B.¹, Spadari, C.⁵; Van Der Sand, S.T.⁶

RESUMO: Os actinomicetos são microrganismos procariotos, Gram positivos, que apresentam características importantes para o controle biológico e promoção de crescimento de plantas, como a capacidade de produção de antibióticos, produção de enzimas com ação antimicrobiana e decomposição da matéria orgânica. A mancha marrom é a mais severa moléstia, causada por *B. sorokiniana*, que acomete cereais de inverno, em regiões mais quentes e com alta umidade relativa do ar, podendo causar perda total na produção de grãos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção e difusão de compostos bioativos, em meio sólido, produzidos por actinomicetos endofíticos de tomateiro com atividade antifúngica contra *B. sorokiniana*. Para tanto, alíquotas (5ml) obtidas de pré-culturas dos isolados 6(2), 6(4), 16(3) e R18(6) foram semeadas em 50ml de caldo amido caseína (AC) e incubadas a 28 °C por 72h, sob condições padronizadas de aeração e agitação (115rpm). Em seguida, alíquotas de 2ml foram retiradas de cada frasco, transferidas para tubo de microcentrifuga e centrifugadas a 13000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante (100µl) foi transferido para poços de 9mm de diâmetro feitos em meio sólido BDA. A superfície do meio foi previamente semeada com uma suspensão esporos (10⁶ esporos/ml) dos isolados polispóricos 98004, 98012, 98032, 98040, 98041 de *B. sorokiniana*. As placas foram incubadas em geladeira (4 °C) por 18h para a difusão de metabólitos e, posteriormente, incubadas a 28 °C por 4 dias. O índice de inibição (I), realizado em triplicata, foi determinado através da média do diâmetro do halo dividido pela média do diâmetro da colônia. Os resultados demonstram que o isolado 6(2) apresentou as maiores médias de difusão de metabólitos e conseqüentemente os maiores índices de inibição frente aos isolados do patógeno testados. Por outro lado, o isolado R18(6) não diferiu estatisticamente do controle (AC), sugerindo a presença de moléculas maiores nos compostos bioativos.

PALAVRAS-CHAVE: actinomicetos, metabólitos secundários, difusão em poços

¹ Bióloga, doutoranda (CAPES, CNPq) do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente/UFRGS; elisminotto@yahoo.com.br

² Estudante de biomedicina, bolsista de iniciação científica CNPq do laboratório de micologia, ICBS, UFRGS;

³ Biomédica, FEEVAIE; estagiária do laboratório de micologia, ICBS, UFRGS;

⁵ Bióloga, mestranda (CAPES) do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente/UFRGS;

⁶ Profª Drª. Orientadora e Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente/UFRGS;

DIVERSIDADE E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE LEVEDURAS ASSOCIADAS À “CHICHA”, UMA BEBIDA FERMENTADA ARTESANAL COLOMBIANA

Ramírez-Castrillón, M.*; López-Arboleda, W.A.; Mambuscay-Mena, L.A.; Osorio-Cadavid, E.

RESUMO: Na Colômbia, o conhecimento da biodiversidade de leveduras é limitado. As fermentações espontâneas obtidas a partir de substratos diferentes representam habitats de grande importância para analisar a dinâmica de populações de leveduras selvagens. Assim, este trabalho isolou e identificou as leveduras associadas a “chichas” de milho, abacaxi e “arracacha”, bebidas fermentadas feitas artesanalmente na Colômbia. As leveduras mais representativas foram isoladas da “chicha” em três fases de fermentação: inicial, tumultuosa e final. Inicialmente, se fizeram descrições macroscópicas e microscópicas e alguns testes fisiológicos para agrupar isolados usando critérios fenotípicos. Devido à subjetividade dos resultados fenotípicos, os agrupamentos foram confirmados e/ou modificados baseados na análise de restrição (PCR-RFLP) da região ITS1-5.8S-ITS2. A identificação foi feita com o sequenciamento do domínio D1/D2 do gene 26S rDNA de um isolado representante de cada agrupamento e isolados que não conseguiram ser agrupados. Foram identificadas as espécies *Candida tropicalis*, *Pichia kluyveri*, *Pichia fermentans*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Hanseniaspora uvarum* como as leveduras dominantes na fermentação da chicha. Outras espécies como *Pichia guilliermondii*, *Hanseniaspora guilliermondii*, *Candida maltosa*, *Rhodotorula glutinis*, *Torulaspota delbrueckii*, *Kazachstania exigua*, *Kluyveromyces marxianus*, *Yarrowia lypolitica*, *Candida parapsilosis*, *Debaromyces hansenii*, *Cryptococcus arboriformis*, *Saccharomyces martiniae*, *Dekkera anomala*, *Aureobasidium pullulans* e *Candida pseudointermedia* aparecem também na fermentação espontânea. Alguns testes de etanol-tolerância e halo-tolerância permitem prever o potencial biotecnológico das leveduras selvagens da Colômbia e seu futuro promissário na indústria.

PALAVRAS CHAVE: Leveduras, biodiversidade, chicha, identificação molecular, biotecnologia

EFEITO ANTILISTERIA DA PEDIOCINA ENCAPSULADA OBSERVADO POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO

MELLO, M.B.^{1*}; MALHEIROS, P.S.²; BRANDELLI, A.²; JANTZEN, M. M.³; MOTTA, A.S.⁴.

Universidade Federal de Pelotas

michelebraunerdemello@hotmail.com

A bacteriocina pediocina é um peptídeo antimicrobiano produzido por uma linhagem de *Pediococcus acidilactici*. A aplicação destas substâncias promove a bioproteção dos alimentos consequentemente aumentando a vida útil dos mesmos. A incorporação das bacteriocinas em nanovesículas vem sendo estudada como uma alternativa para controlar a liberação e aumentar a estabilidade destas substâncias nos produtos. O objetivo deste trabalho foi verificar a atividade antimicrobiana de uma pediocina comercial, livre e encapsulada, frente às culturas de *Listeria*. A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada pelo Método de Difusão em Ágar com discos. A atividade foi definida como sendo a recíproca da última diluição que apresentou um halo de inibição; e foi expressa em unidades arbitrárias por mililitro (UA/mL). Foi observado que ao final de 13 dias tanto a pediocina livre como a encapsulada mantiveram 50% da atividade antimicrobiana residual. As demais linhagens de *Listeria* testadas foram sensíveis a ambas as pediocinas. A avaliação por microscopia eletrônica de transmissão foi feita frente à *Listeria monocytogenes* ATCC 7644. A pediocina foi encapsulada nos lipossomas e observou-se o efeito frente à cultura indicadora. As imagens mostram danos na parede celular, se comparadas às imagens do controle. Estes dados colaboram com as propriedades já citadas por outros autores quanto ao efeito antilisteria deste peptídeo. Ainda, as nanovesículas também foram visualizadas por microscopia eletrônica de transmissão, com coloração negativa, mostrando os lipossomas como um grupo de estruturas esféricas e em bicamada. Sendo assim a partir dos resultados obtidos sugere-se então a possível aplicação da pediocina encapsulada em alimentos a fim de que se avalie as propriedades antimicrobianas na matriz alimentar.

PALAVRAS-CHAVE: pediocina, antimicrobiana, *Listeria*, nanovesículas.

^{1*} Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

² Laboratório de Microbiologia e Bioquímica Aplicada, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

³ Inspeção e Tecnologia de Leite e Derivados, Ovos e Mel. Departamento de Veterinária Preventiva, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

⁴ Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

ESTUDO COMPARATIVO DA EFICIÊNCIA DE DIFERENTES TÉCNICAS DE CONCENTRAÇÃO DA GLICOPROTEÍNA D RECOMBINANTE DE HERPESVÍRUS BOVINO TIPO 5

Araujo, I. L.^{*1}; Dummer, L. A.²; Rosa, M. C.²; Oliveira, P. D.²; Piraine, R. A.³; Valiati, F. E.³; Conceição, F. R.²; Leite, F. P. L.²

RESUMO: Herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5) é o agente da meningoencefalite herpética bovina, doença responsável por prejuízos econômicos no Brasil. O BoHV-5 possui DNA fita dupla envolto por um capsídeo icosaédrico, ambos envolvidos pelo tegumento e externamente por um envelope lipoprotéico, no qual estão inseridas glicoproteínas virais. A glicoproteína D é uma das principais glicoproteínas do BoHV-5, além de estimular a formação de anticorpos neutralizantes no hospedeiro, tornando-a importante como antígeno em imunodiagnóstico ou em vacinas de subunidades. O objetivo deste trabalho foi aprimorar a metodologia de recuperação da gD recombinante (rgD) fusionada a uma cauda de histidina (His) e expressa em *Pichia pastoris*. A levedura recombinante foi cultivada em 7 L de BMGY até o momento de esgotamento do glicerol. A indução da expressão da rgD foi realizada pela adição de 1-3% de metanol ao meio. O sobrenadante do cultivo do biorreator foi então centrifugado e clarificado. Para a concentração da glicoproteína recombinante três metodologias foram empregadas: ultrafiltração por CentriprepTM YM 50 (Millipore), liofilização e fracionamento protéico com sulfato de amônio. No primeiro método, 600 mL foram concentrados 200x, obtendo volume final de 3 mL. O emprego da liofilização resultou em 103 g oriundos de 2.3 L de sobrenadante. Para a precipitação com sulfato de amônio ao nível de saturação de 70% foram utilizados 500 mL, resultado num volume final de 80 mL após diálise e reduzido a 2mL por Ultrafiltração. Para determinar a presença da rgD no material concentrado foi realizado Dot blot, com adsorção da rgD em membrana de nitrocelulose e detecção através anticorpo monoclonal Anti-6xHis conjugado com HRP. O método de concentração por ultrafiltração apresentou maior capacidade de concentração da proteína recombinante, seguido pelas técnicas de liofilização e sulfato de amônio, respectivamente.

PALAVRAS-CHAVE: IMUNODIAGNÓSTICO, *PICHIA PASTORIS*, ALPHAHERPESVÍRUS

^{*1}Graduação - Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pelotas - UFPEL E-mail: itauache@hotmail.com

²CDTEC - Biotecnologia, UFPEL

³Graduação - Biotecnologia, UFPEL

ESTUDO DE MICRORGANISMOS DE SEDIMENTO MARINHO ATRAVÉS DE CULTIVO SOB DIFERENTES FONTES NUTRICIONAIS, TEMPERATURAS E CONCENTRAÇÕES DE OXIGÊNIO

Proença, A. M.¹; Medina-Silva, R.²

RESUMO: Embora o estudo da diversidade microbiana em solo marinho tenha aumentado nos últimos anos, a maioria dos esforços desenvolvidos na área foca-se em análises moleculares, incluindo-se técnicas de seqüenciamento. As técnicas de microbiologia clássica, paralelamente, vêm sendo menos utilizadas na caracterização desta biodiversidade. Para uma análise completa, entretanto, destaca-se a importância de acompanhar o comportamento de microrganismos ambientais ao longo do tempo, bem como as suas características morfológicas e de crescimento. Este trabalho, portanto, objetiva estudar microrganismos de solo marinho através de cultivo sob diferentes condições: fontes nutricionais, concentração de oxigênio e temperatura. Das amostras consideradas, uma foi coletada superficialmente (SD-I) e outra compreende sedimento abaixo da superfície do solo marinho (SD-II). Ambas foram testadas em meios BHI, YPD e NMS, tanto em caldo, sob agitação, quanto em placas de Petry. Testaram-se temperaturas entre 4 e 37°C, incluindo temperatura ambiente, em cultivo aeróbico e microaerófilo. No momento, estão sendo testadas deposições de sedimento (de 50 a 200µL) sobre NMS-agar em atmosfera com gás metano. Os isolados obtidos foram caracterizados através de microscopia segundo o método de Gram. Neste tipo de análise verificou-se a prevalência de estreptococos gram-positivos. Excetuando-se o cultivo a 4°C, todos os demais apresentaram crescimento. Em BHI-agar à temperatura ambiente, após um dia verificaram-se colônias planas e beges em quatro placas semeadas com sedimento, duas de SD-I e duas SD-II; as colônias do cultivo SD-I(02) apresentaram, após cinco dias, formação de filamentos com textura cremosa sobre a estrutura anteriormente descrita, enquanto que SD-II(01) alterou sua coloração para tons róseos. Nos cultivos a 30 e 37°C, notou-se alta incidência de esporulação. Em NMS-agar a 37°C, verificou-se uma bactéria filamentosa gram-positiva após 7 dias; após dois dias a coloração foi refeita, e os filamentos mostraram-se dissociados, com alta presença de bacilos gram-positivos esporulando.

PALAVRAS-CHAVE: Sedimento marinho, isolados bacterianos, microbiologia ambiental.

¹ Graduação em Ciências Biológicas, Faculdade de Biociências, Laboratório de Imunologia e Microbiologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS; audrey.proenca@acad.pucrs.br

² Faculdade de Biociências, Laboratório de Imunologia e Microbiologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

EVALUATION AND COMPARISON OF ANTIFUNGAL ACTIVITY OF FREE AND NANOENCAPSULATED COPAIBA OIL

Svetlichny, G^{1*}; Cunha, S.L.²; Silva, F.É.K³; Kulkamp, I⁴; Fuentefria, A.M⁵; Guterres, S.S⁶

RESUMO: During the last two decades, the incidence of infections caused by opportunistic yeasts pathogens in immunocompromised patients has increased substantially. Although there has been an expansion in the number of antifungal drugs available, in many cases, treatment of fungal diseases remains unsatisfactory. A total of 8 different species of yeasts were chosen in relation with their medical interest because they cause mucocutaneous or nosocomial infections as well as yeast fungemias. Thus, tests were prepared with different species, *Geotrichum candidum*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Rhodotorula mucilaginosa* and *Cryptococcus neoformans*. The frame of reference was the microdilution method following the recommendations of Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI, 2008, documento M27-A3). The aim of this study was the evaluation and the comparison of the antifungal activity of free and nanoencapsulated copaiba oil, with and without allantoin. Based on a pure yeast culture, an inoculum was prepared, equivalent to a turbidity of 0.5 in the MacFarland Scale, which corresponds to 10⁶ cells per milliliter. Results: the screening showed no antifungal effect for the free copaiba oil while the nanopreparation showed a fungistatic activity for 4 species, *Geotrichum candidum*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* and *Cryptococcus neoformans*. The other 4 species demonstrated a resistance. The Minimum Inhibitory Concentration which inhibit the growth of 90% of organisms (MIC 90) showed values much lower for the nanopreparation than for the free copaiba oil. The in vitro activity of nanoencapsulated copaiba oil with allantoin justify the performance of additional studies to determine the potential of this class of antifungal agents.

KEYWORDS: yeast, antifungal, mucocutaneous, nosocomial, nanopreparation.

Filiation:

- 1 – PhD student of PGCIMAT program/Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS; g.svetlichny@hotmail.fr
- 2 – Graduate student of Faculty of Pharmacy/ Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.
- 3 – Master student of Faculty of Pharmacy/ Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.
- 4 – Professor of Faculty of Pharmacy/ Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.
- 5 – Professor of Faculty of Pharmacy/ Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.
- 6 – Professor of Faculty of Pharmacy/ Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

EXPRESSÃO DAS PROTEÍNAS DE *Bacillus sphaericus* MTX2 E MTX3 EM *Escherichia coli*

Pinto, M. S.^{1*}; Gonçalves, R. A.^{1,3}; Lorenzon, L. B.^{1,4}; Pinto, D. M.^{1,5}; Oliveira, R. S. de¹; Leite, F. P. L.²

RESUMO: Os mosquitos são os principais vetores de patógenos do mundo. Os inseticidas utilizados para o controle têm provocado o aparecimento de populações resistentes, bem como danos ambientais. Assim sendo, inseticidas biológicos vem sendo produzidos, a fim de realizar o controle populacional desses dípteros. As toxinas de *Bacillus sphaericus*, Mtx1(100kDa), Mtx2(30kDa) e Mtx3(35kDa), sintetizadas durante a fase vegetativa de crescimento possuem potencial a ser explorado no controle biológico. Uma das alternativas para contornar alguns destes problemas é a expressão dos genes mosquitocidas recombinante para utilização como atrativo a campo, servindo como uma fonte de alimento para as larvas. O objetivo deste trabalho foi expressar as proteínas inseticidas recombinantes (rMtx2 e rMtx3) de *B. sphaericus* na cepa de *Escherichia coli* BL21 (DE3) Códon Plus Star. Após o isolamento do DNA alvo a partir da bactéria *B. sphaericus*, realizou-se PCR utilizando oligonucleotídeos iniciadores específicos, a fim de amplificar a sequência de interesse e posteriormente clonar em vetor pAE para expressão em bactérias, as colônias recombinantes foram selecionadas em meio LB contendo antibiótico seletivo Ampicilina 100µg.mL⁻¹, após fez-se extração de plasmídeo e PCR, a fim de confirmar a inserção do gene ao vetor. O DNA plasmidial dos clones recombinantes de cada construção foi extraído e utilizado para transformar *Escherichia coli* BL21(DE3) Códon Plus Star. Estes foram testados quanto à expressão em um volume de 100mL, sendo cultivados até a fase log de crescimento e induzidos com IPTG (0,5mM) por 3 horas. As amostras foram submetidas à análise em SDS-PAGE 12%, e *Western blot* com anticorpo monoclonal anti-histidina para confirmar a expressão da proteína recombinante. O sistema de expressão desenvolvido foi satisfatório em produzir as proteínas inseticidas e confirmado por *Western blot*. Dessa forma, testes futuros deverão ser desenvolvidos a fim de avaliar e comparar a eficácia como produto da biotecnologia para controle de mosquitos.

PALAVRAS-CHAVE: bioinseticidas, controle biológico, mosquitos

Universidade Federal de Pelotas - mariana-s-p@hotmail.com

¹Universidade Federal de Pelotas/Laboratório de Parasitologia Molecular e Imunologia;

²Universidade Federal de Pelotas, Centro de Desenvolvimento Tecnológico – cDTEC;

³Bolsista Iniciação Científica – FAPERGS, Graduando em Ciências Biológicas, IB, UFPEL;

⁴Bolsista Iniciação Científica – CNPq, Graduação em Biotecnologia, UFPEL;

⁵Bolsista PRODOC – CAPES/Programa de Pós-graduação em Parasitologia, IB,UFPEL.

EXPRESSÃO HETERÓLOGA DE PROTEÍNAS DE *Mycoplasma hyopneumoniae* VISANDO A ELABORAÇÃO DE ENSAIOS IMUNODIAGNÓSTICOS PARA PNEUMONIA ENZOÓTICA SUÍNA

Pereira, W.M.*¹; Brum, C.B.¹; Marchioro, S.B.¹; Jorge, S.¹; Gomes, C.K.¹; Fisch, A.¹; Conceição, F.R.²; Dellagostin, O.A.¹

RESUMO: Introdução: *Mycoplasma hyopneumoniae* é uma bactéria fastidiosa, causadora da pneumonia enzoótica suína (PES), responsável por infecção crônica pulmonar em suínos. O diagnóstico presuntivo é baseado em sinais clínicos e presença de lesões pulmonares características, porém testes laboratoriais são necessários para a confirmação da doença. Este trabalho visou a obtenção de proteínas recombinantes específicas de *M. hyopneumoniae* para elaboração de ensaios imunodiagnósticos para PES. Metodologia: fragmentos de DNA correspondentes à região codificadora dos genes P102AB (46 kDa), P95 (43 kDa) e P97-like (35 kDa) foram clonados em vetor de expressão pET200/D-TOPO® (Invitrogen) e transformados em *Escherichia coli* BL21 (DE3) STAR. O produto da transformação foi transferido para 10 mL de meio de cultura Luria Bertani (LB) contendo kanamicina e incubado em *shaker, overnight*. Este cultivo foi inoculado em 500 mL de LB com ampicilina e incubado a 37 °C. Ao atingir a fase *log* de crescimento, a expressão foi induzida com IPTG por 3 h. Após, foram realizadas três lavagens através da centrifugação do cultivo, descarte do sobrenadante e ressuspensão do *pellet* em PBS. Posteriormente, o *pellet* foi ressuscitado em AktaWash contendo 8M de uréia e lisado por sonicação. O sobrenadante foi filtrado em filtro 0,8 µm (Millipore) e a proteína recombinante foi purificada por cromatografia de afinidade utilizando coluna HisTrap™ (GE Healthcare) carregada com íons Ni²⁺. A quantificação foi feita através de Kit BCA™ (Pierce). A expressão das proteínas foi avaliada através de SDS-PAGE 12% com amostras coletadas em diferentes etapas e a caracterização confirmada por *Western blot*, utilizando anticorpos anti-6×His. Resultados: a SDS-PAGE revelou bandas sugestivas de expressão das proteínas recombinantes. A obtenção das diferentes proteínas foi confirmada por *Western blot*. Conclusões: o protocolo adotado foi eficiente na expressão, solubilização e purificação das proteínas. As proteínas expressas serão utilizadas para testes visando ensaios imunodiagnósticos para PES.

PALAVRAS-CHAVE: *Mycoplasma hyopneumoniae*; pneumonia enzoótica suína; imunodiagnóstico; expressão heteróloga; proteínas recombinantes.

¹Laboratório de Biologia Molecular; wallpereira@gmail.com

²Laboratório de Imunologia Aplicada. Núcleo de Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas

FORMAÇÃO “IN VITRO” DE BIOFILME POR LEVEDURAS ISOLADAS DE DIFERENTES FONTES AQUÁTICAS DA REGIÃO METROPOLITANA DE PORTO ALEGRE-RS

JESUS, R. S.^{1*}; MACHADO, T. A.²; FUENTEFRIA, A. M.³;

RESUMO: Os biofilmes representam o tipo de crescimento microbiano predominante na natureza e estão envolvidos no desenvolvimento de infecções, uma vez que servem de nicho aos agentes patogênicos e estão relacionados com os altos níveis de resistência aos antimicrobianos. Dentre os métodos fenotípicos utilizados para se avaliar a formação de biofilme in vitro destaca-se o teste em Microplaca de Poliestireno (MP) desenvolvido por Christensen et al. (1985) e modificado por Stepanovic et al. (2007). Este teste, permite a mensuração quantitativa da formação de biofilme em microplacas através de leitura espectrofotométrica. O objetivo deste estudo foi investigar a capacidade de formação de biofilme em MP pelo método do cristal violeta, descrito por Stepanovic et al. (2007) com algumas modificações, de 18 cepas de leveduras provenientes de amostras de fontes aquáticas da região metropolitana de Porto Alegre, utilizando-se dois comprimentos de onda diferentes para a leitura. Resultados: Na leitura espectrofotométrica a 450 nm, observou-se que dos 4 isolados produtores de biofilme, 3 cepas (75%) apresentaram fenótipo fracamente aderente, enquanto 1 cepa (25%) apresentou-se fortemente aderente. Além disso, dos 18 isolados avaliados no ensaio, 14 (77,8%) não foram produtores de biofilme quando avaliados neste comprimento de onda. Quando utilizou-se 570 nm para leitura, verificou-se que dos 16 isolados produtores de biofilme, 8 cepas (50%) apresentaram fenótipo fracamente aderente, 6 cepas (37,5%) moderadamente aderente, enquanto 2 cepas (12,5%) apresentaram-se fortemente aderente. Apenas 2 cepas (11%) avaliadas neste comprimento de onda não foram produtoras de biofilme. O método do cristal violeta mostrou-se sensível para a avaliação da formação de biofilme de leveduras. Entretanto, a diferença dos tamanhos dos filtros na leitura do teste pode interferir significativamente nos resultados, já que a utilização de um comprimento de onda menor, como 450 nm, pode estar subestimando o resultado para microrganismos que apresentem a capacidade de formar biofilmes como demonstrado neste estudo.

PALAVRAS-CHAVE: biofilme; leveduras; microplaca de poliestireno; cristal violeta.

1 - Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente - PPGMAA/UFRGS

2 - Estudante do curso de Farmácia - UFRGS

3 - Professor do departamento de Análises da Faculdade de Farmácia e orientador do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente - PPGMAA/UFRGS

HÍBRIDOS DE MILHO APRESENTAM RESPOSTAS DIFERENCIADAS À INOCULAÇÃO COM BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS

Hahn, L.¹; Silva, W.R.²; Damasceno, R.G.³; Machado, R.G.¹; de Sá, E.L.S.⁴

RESUMO: Rizóbios simbiotes em leguminosas e bactérias do gênero *Azospirillum*, endofíticas de gramíneas, demonstram grande potencial como promotores de crescimento de plantas. No entanto, inúmeros trabalhos mostram resultados frustrantes da inoculação em algumas espécies, cultivares ou híbridos, sinalizando para a existência de uma relação específica entre estas bactérias e plantas hospedeiras. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência da inoculação de bactérias diazotróficas na promoção de crescimento de híbridos e milho. O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Faculdade de Agronomia da UFRGS usando vasos contendo uma mistura de vermiculita e areia e solução nutritiva. Avaliaram-se a inoculação dos rizóbios UFRGS VP16 e a estirpe SEMIA 222 e uma mistura de três isolados de *Azospirillum* nos cinco híbridos de milho mais cultivados no RS: AS 1572, 30R50, 30F53, NB 7205 e Fórmula, em duas doses de N: 60 e 120 kg ha⁻¹. Após 60 dias da semeadura foram quantificadas a matéria seca da parte aérea (MSPA) e do sistema radicular (MSSR) e o teor de nitrogênio total da parte aérea das plantas. O híbrido 30F53 apresentou maiores produções de MSPA e MSSR nas duas doses de N com a inoculação do rizóbio UFRGS VP16. Aumentos significativos de produção também ocorreram com a inoculação da mistura dos três isolados de *Azospirillum* para 120 kg ha⁻¹ de N para MSSR e para 60 kg ha⁻¹ de N para MSPA. Os híbridos NB 7205 e 30R50 foram os menos responsivos à inoculação. A estirpe SEMIA 222 não promoveu o crescimento de nenhum híbrido de milho. Os resultados demonstram respostas diferenciadas dos híbridos de milho à inoculação de bactérias diazotróficas, o que deve ser levado em consideração na recomendação de produtos inoculantes com bactérias diazotróficas.

PALAVRAS-CHAVE: *Zea mays*, rizóbios, *Azospirillum*, nitrogênio.

¹ Estudantes PPG Ciência do Solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS: hahnleandro@yahoo.com.br;

² Estudante Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

³ Mestre em Microbiologia Agrícola e do Ambiente. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

⁴ Professor do Departamento Solos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

IDENTIFICAÇÃO DE ACTINOMICETOS ISOLADOS DE SOLO IMPACTADO COM RESÍDUOS PETROQUÍMICOS E SELEÇÃO DE POTENCIAIS DEGRADADORES DE MISTURAS DE DIESEL E BIODIESEL

Duarte, M.W.*; Bucker, F.¹; Bento, F.M.²; Van Der Sand, S.T.³

RESUMO: Os actinomicetos são bactérias Gram positivas filamentosas encontradas principalmente no solo. Existem poucos estudos sobre sua capacidade em degradar combustíveis, embora vários autores afirmem que são bons candidatos para aplicação na biorremediação. Os objetivos do presente trabalho são a identificação de actinomicetos provenientes de solo contaminado com hidrocarbonetos de petróleo e a seleção de isolados que apresentem potencial de degradação de misturas de diesel e biodiesel. Foram isolados 47 actinomicetos, selecionados com base nos diferentes morfotipos. A identificação morfológica foi realizada pela técnica de microcultivo, através da qual 43 isolados foram identificados como *Streptomyces* e quatro não foram identificados. Os *primers* F243 e R513 foram utilizados para amplificar um fragmento da região 16S do DNAr de actinomicetos, e todos os isolados apresentaram produto de amplificação. Posteriormente, os produtos obtidos serão submetidos à clivagem com endonucleases de restrição, e a confirmação do gênero será feita através da utilização de *primers* específicos. A pré-seleção dos isolados potencialmente degradadores de misturas de diesel e biodiesel foi realizada em Meio Mínimo Mineral contendo óleo como única fonte de carbono, através da utilização do indicador redox DCPIP (2,6-diclorofenol-indofenol) e pela comparação do crescimento com controles negativo (sem óleo) e positivo (com glicose). Nos testes com DCPIP os resultados foram positivos apenas em biodiesel, enquanto que na seleção por comparação foi observado crescimento em diesel, biodiesel e misturas. A confirmação da degradação do diesel será realizada através da utilização de *primers* específicos para o gene *alkB*. Os ensaios enzimáticos qualitativos para lipase e esterase foram realizados pela hidrólise em ágar, na qual 93,6% dos isolados apresentaram resultados positivos para lipase, e todos os isolados apresentaram resultado positivo para esterase. Os isolados capazes de utilizar o biodiesel em 24 horas e que obtiveram resultado positivo para lipase e esterase serão selecionados para ensaios de quantificação enzimática.

PALAVRAS-CHAVE: actinomicetos, biorremediação, diesel, biodiesel.

¹Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente/UFRGS

*Universidade Federal do Rio Grande do Sul - marischuldiner@gmail.com

²Co-Orientadora: Professora Adjunta do Departamento de Microbiologia PPGMAA/UFRGS

³Orientadora: Professora Adjunta do Departamento de Microbiologia PPGMAA/UFRGS

IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE LEVEDURAS OLEAGINOSAS ISOLADAS DE QUEIJO COLONIAL ARTESANAL.

* Rosa, P.D.^{1,2}; Ramírez, M. ²; Mendes, S.D.C^{2,3} Landell, M. F. ², Tosta A. ²; Vainstein, M. H. ²; Valente, P. ^{1,2}

RESUMO: Noventa e sete leveduras com afinidade ascomicética e 13 com afinidade basidiomicética foram isoladas a partir de 59 amostras de queijo artesanal vendidas em bancas na área costeira do Rio Grande do Sul. Os isolados foram coletados no período de novembro de 2004 e junho de 2005 e identificados fenotipicamente nos gêneros *Candida*, *Debaryomyces*, *Dekkera*, *Dipodascus*, *Galactomyces*, *Kluyveromyces*, *Kodamaea*, *Pichia*, *Rhodospidium*, *Saccharomyces*, *Schizoblastosporion*, *Sporidiobolus*, *Torulasporea*, *Trichosporon*, *Yarrowia* e *Zygosaccharomyces*. As espécies predominantes encontradas foram *Yarrowia lipolytica*, *Debaryomyces hansenii* e *Candida zeylanoides*. E Desses isolados foram selecionadas 24 leveduras excelentes produtoras de óleo microbiano, que foram agrupadas genotipicamente por meio de MS-PCR fingerprinting com o oligonucleotídeo iniciador M13, capaz de diferenciar espécies de leveduras. Foram obtidos seis perfis de fingerprinting diferentes de amplificação com o oligonucleotídeo M13. Os representantes de cada perfil de fingerprinting tiveram a região D1/D2 do rDNA amplificada utilizando os oligonucleotídeos NL1 e NL4, e também utilizando o programa no termociclador com temperatura de desnaturação inicial a 94 °C por 5min, 30 ciclos de 94 °C por 1min, temperatura de anelamento a 55 °C por 1min e temperatura de extensão final de 10min a 72 °C. E os amplicons gerados estão sendo encaminhados para seqüenciamento visando a identificação molecular das leveduras oleaginosas isoladas de queijo colonial artesanal no sul do Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: Leveduras Oleaginosas, PCR-Fingerprinting, Identificação molecular.

IN VITRO EVALUATION OF *Enterococcus faecium* ANTIOXIDANTS PROPERTY AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY

Pieniz, S.^{1*}; Andreazza, R.²; Camargo, F.A.O.²; Brandelli, A.¹

ABSTRACT: Lactic acid bacteria (LAB) have been used in the human diet since the beginning of human history. Furthermore, their role in the fermentation and preservation of foods is very important. Different reports show that most LAB produce substances that inhibit pathogenic, non-pathogenic and spoilage organisms in fermenting foods and beverages. So, LAB was report to produce antioxidants property. Starter cultures with free radical scavenger properties would be useful in the food manufacturing industry for human or feed animal. They could benefit the consumer by providing another dietary source of antioxidants, or by providing probiotic bacteria with the potential of producing antioxidants during growth in the intestinal tract. In this study, the antimicrobial and antioxidant activities of culture supernatants and cell free extracts of 17 LAB isolated from meat and dairy products were investigated. The bacterial were identified by 16S rRNA sequencing. GenBank BLAST analysis revealed that all the isolates belong to *Enterococcus faecium* species. Antimicrobial activity against the indicator microorganism (*Listeria monocytogenes*) was observed at 12 culture supernatants and 5 cell free extracts. The sensibility of culture supernatant was evaluated by proteinase K and trypsin and it was observed that activity of antimicrobial substance was completely lost after the treatment. All of the isolates showed antioxidant activity as determined by the Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) method with both types of extracts. When the antioxidant capacity was investigated using ABTS^{•+} method (2,2 azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) and DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) it was observed that only culture supernatants showed antioxidant capacity. The antimicrobial and antioxidant capacities of these *E. faecium* isolates indicate they could be very useful in food fermentation and feed composition. These bacteria could particularly help to reduce or inhibit pathogenic microorganisms as well as oxidative spoilage in foods and feed.

KEYWORDS: antimicrobial activity, antioxidant, *Enterococcus*, lactic acid bacteria, molecular characterization.

^{1*} PPG em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS; nutrisimone@yahoo.com.br

² PPG em Ciências do Solo, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS

INVESTIGAÇÃO DO PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE A DROGAS ANTIFÚNGICAS E DA OCORRÊNCIA DE CÉLULAS PETITES EM LEVEDURAS ISOLADAS A PARTIR DE AMBIENTE HOSPITALAR

Ribeiro, G.L.^{1*}; Schneider, O. R.²; Proença, M. A.²; Silva C. C.²; Alcântara R. L.³; Sandri A. M.³; Medina-Silva, R.².

RESUMO: A importância de infecções hospitalares causadas por fungos, em especial por leveduras, tem se mostrado em destaque na literatura internacional em função do aumento global de incidências nos últimos anos, principalmente nos países em desenvolvimento. Neste contexto, o gênero *Candida* mostra-se como agente etiológico fúngico de maior importância. O objetivo do presente trabalho foi identificar em nível de gênero e/ou espécie 73 leveduras isoladas de diferentes locais de uma Unidade de Internação do Hospital São Lucas da PUCRS (Porto Alegre, RS), traçar o seu perfil de susceptibilidade a drogas antifúngicas e investigar a ocorrência de células petite (não respirantes e mais resistentes) nos isolados. Os isolados de leveduras encontravam-se estocados em glicerol 30% a -20°C, tendo sido recuperados e cultivados em caldo Sabouraud a 30°C. Para a identificação de parte dos isolados o sistema API 20 C AUX (Biomerieux) para identificação de leveduras foi utilizado. Os isolados foram submetidos a testes de susceptibilidade às drogas antifúngicas Anfotericina B, Cetoconazol, Fluconazol e Itraconazol por teste de macrodiluição, de acordo com normas e protocolo do NCCLS. Os isolados foram também testados quanto à ocorrência de colônias petite através do teste de top-ágar com TTC, com a confirmação da condição não respirante no meio não-fermentável YPG-ágar. Como resultados, 45 isolados foram identificados em nível de gênero e/ou espécie, sendo que a espécie prevalente (62%) foi *C. parapsilosis*. Os dados ainda mostraram que uma alta parcela das leveduras isoladas apresentou reduzida susceptibilidade às drogas antifúngicas testadas e que uma minoria destas mostrou-se capaz de formar células petite. O presente trabalho revelou uma alta frequência de leveduras potencialmente patogênicas no ambiente hospitalar investigado, muitas delas resistentes a mais de uma droga antifúngica testada e, ainda, que esta característica não teve relação direta com a capacidade de indução de colônias petite.

PALAVRAS-CHAVE: *Cândida*, antifúngicos, contaminação hospitalar.

^{1*} Bolsista PiBic - Curso de Ciências Biológicas - PUCRS - Luciele Gonzaga Ribeiro
lucynhaaa@hotmail.com

² Laboratório de Imunologia e Microbiologia – Faculdade de Biociências - PUCRS, Porto Alegre, RS

³ Serviço de Controle de Infecções – Hospital São Lucas – PUCRS, Porto Alegre, RS.

ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BACTÉRIAS ENDOFÍTICAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS DO GÊNERO *Lupinus* PARA RECUPERAÇÃO DE SOLOS DEGREDADOS.

¹Granada, C.; ²Bombassaro, V.M.*; ³Vargas, L.K.; ⁴Passaglia, L.M.P.

Existe uma vasta quantidade de micro-organismos no solo, na rizosfera ou em associação com plantas que podem ser benéficos para o desenvolvimento das plantas. Estes micro-organismos são coletivamente chamados de PGPRs (Plant Growth Promoting Rhizobacteria). Estas rizobactérias auxiliam o crescimento vegetal pela fixação biológica do nitrogênio atmosférico, produção de hormônios e compostos reguladores de crescimento. O objetivo deste trabalho foi isolar bactérias endofíticas de plantas do gênero *Lupinus* (popularmente conhecidas como Tremoços) que fixem o nitrogênio atmosférico, produzam sideróforos, compostos indólicos e solubilizem fosfatos, para a formulação de um bioproduto inoculante que ajude no desenvolvimento desta planta quando usada na recuperação de solos degradados. As plantas de tremoço foram coletadas de regiões de solos arenizados do oeste do Rio Grande do Sul e as bactérias foram isoladas das raízes destas plantas, em meios específicos, sem nitrogênio, para garantir a seleção dos microrganismos fixadores de vida livre deste elemento. A produção de compostos indólicos foi avaliada pela leitura colorimétrica (520nm) da reação entre a cultura bacteriana e o reagente de Salkowsky, a produção de sideróforos foi avaliada em meio com ausência de ferro e a adição do corante cromazurol S e a solubilização de fosfato foi verificada pela solubilização fosfato de cálcio imobilizado no meio de cultura. Foram analisados 186 isolados bacterianos, entre estes, a característica mais presente foi a produção sideróforos (130 isolados), seguido pela solubilização de fosfatos (65 isolados). A produção de compostos indólicos foi baixa variando entre 5-25mg/mL. A capacidade dos isolados em fixar o nitrogênio atmosférico será avaliada por cromatografia gasosa pela técnica de redução de acetileno. Estes resultados mostram que alguns dos isolados analisados neste trabalho podem atuar como promotores de crescimento de plantas de tremoço e, futuramente, podem integrar uma formulação inoculante para esta planta, acelerando a recuperação de solos degradados.

PALAVRAS-CHAVE: *Lupinus*, nitrogênio, micro-organismos.

LEVANTAMENTO DO PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE *Staphylococcus* COAGULASE-NEGATIVO RESISTENTE A NOVOBIOCINA ISOLADOS DO SÍTIO URINÁRIO

Caldana, G.D.^{1*}; Paim, T.G.S.¹; Sambrano, G.E.¹; d'Azevedo, P.A.¹

RESUMO: O *Staphylococcus saprophyticus* é a segunda maior causa de Infecção do Trato Urinário (ITU) com prevalência em mulheres jovens sexualmente ativas. O gênero *Staphylococcus* aumenta gradativamente sua significância clínica devido a seus fatores de virulência estarem relacionados à adesão e à cada vez maiores taxas de resistência a antimicrobianos. Levantamento do perfil de susceptibilidade a antimicrobianos e confirmação em nível de espécie de isolados de *Staphylococcus* coagulase-negativos resistentes a novobiocina (SCoN-novR) a partir de uroculturas. 132 isolados de SCoN-novR foram submetidos a seguintes provas identificação: gram, catalase, coagulase, urease e produção ácida aeróbica a partir de carboidratos descrito no *Manual of Clinical Microbiology*. Os resultados do perfil bioquímico foram tabelados e analisados conforme a literatura. O perfil de susceptibilidade foi mensurado pela técnica de Kirby-Bauer (antibiograma por difusão de disco em ágar) para os seguinte seleção de antimicrobianos: norfloxacina, ciprofloxacina, gentamicina, sulfametoxazol-trimetropim, cefoxitina e nitrofurantoína. Os halos de inibição dos antibiogramas foram medidos e interpretados de acordo com as padronizações da literatura classificando os isolados em “Resistentes” (R), “Resistentes Intermediários” (I) e “sensíveis” (S). Pela divergência com a literatura, alguns isolados não puderam ser identificados através das provas bioquímicas – considerados atípicos – porém todos foram considerados como *S. saprophyticus* considerando outros fatores preditivos clínicos e laboratoriais. Os antibiogramas revelaram perfil de resistência a norfloxacina (R=7,6% e I=8,3%), a sulfametoxazol-trimetropim (R=6,8% e I=3,8%), a nitrofurantoína (R=0,8% e I=2,3%), a cefoxitina (I=3,8%) e a ciprofloxacina (R=4,5%); os demais antimicrobianos não obtiveram qualquer tipo de resistência. O método de identificação bioquímica revelou alguns resultados incongruentes com a literatura, logo o método de identificação adotado mostra baixa especificidade de diagnóstico, devendo a identificação em nível de espécie ser conduzida por métodos moleculares. O *S. saprophyticus* mantém baixas taxas de resistência aos principais antimicrobianos de escolha para tratamento das ITU.

PALAVRAS-CHAVE: coagulase-negativo; identificação; resistencia; ITU

¹ Programa de Bolsas de Iniciação Científica, UFCSPA, Porto Alegre, RS; gabrield@ufcspa.edu.br

² Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, UFCSPA, Porto Alegre, RS

³ Departamento de Microbiologia e Parasitologia, UFCSPA, Porto Alegre, RS

LEVEDURA PROVENIENTE DE LODO ATIVADO DE UMA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTO DE PORTO ALEGRE COM POTENCIAL DE DEGRADAÇÃO DA GLICERINA ORIUNDA DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL

Baptista-Silva, A.^{1*}; Dullius, J.³; Medina-Silva, R.²

RESUMO: A produção do biodiesel é caracterizada por uma reação de transesterificação de triglicerídeos em alquil-ésteres de ácidos graxos, tendo como subproduto a glicerina, que corresponde a 10% do volume final da reação. Por apresentar elevados níveis de contaminantes, a glicerina na sua forma bruta não apresenta utilização na indústria química ou farmacêutica sem antes passar por um processo de purificação, que consiste na remoção dos seus alcoóis constituintes. A determinação do seu grau de pureza é dada de acordo com a concentração restante dos mesmos. Os elevados custos desse processo tornam limitada a aplicação deste glicerol, seja ele de origem industrial ou de plantas de biodiesel de pequenas e médias propriedades rurais. A partir disso, buscou-se investigar, em amostras de lodo ativado oriundas de uma estação de tratamento de esgotos de Porto Alegre, a presença de leveduras capazes de utilizar a glicerina bruta derivada da produção de biodiesel como única fonte de carbono. As amostras foram inoculadas em caldo YPD contendo 0,5 % de cloranfenicol e incubadas à 30°C para crescimento até fase exponencial. Para o isolamento das colônias presentes nas amostras e testes de características metabólicas de interesse, o material foi semeado nos meios sólidos agar-YPD e agar-YNBgb (nitrogênio base adicionado de glicerina bruta a 2%). Um isolado que apresenta o potencial metabólico de interesse foi obtido, mostrando-se como uma interessante alternativa para valorizar a produção do biodiesel. A identificação em nível de espécie, através de métodos moleculares, com base no sequenciamento da região codificadora da subunidade maior do rDNA (26S), em sequenciador automático MegaBace 1000, se encontra em andamento. Análises de cromatografia serão realizadas para investigação do(s) produto(s) gerado(s) a partir desse processo metabólico, que pode(m) vir a ser de interesse para a indústria farmacêutica e/ou de alimentos.

PALAVRAS-CHAVE: biodiesel; glicerol; leveduras.

^{1*}Mestranda do PPG em Biologia Celular e Molecular – Faculdade de Biociências – PUCRS, Porto Alegre, RS; baptistane@yahoo.com.br

²Laboratório de Imunologia e Microbiologia – Faculdade de Biociências – PUCRS, Porto Alegre, RS.

³Laboratório LOR – Faculdade de Química – PUCRS, Porto Alegre, RS.

MINIMAL CONCENTRATION TO ERADICATE BIOFILM (MBEC): IN VITRO ANTIMICROBIAL ACTIVITY AGAINST BIOFILM-FORMING *Staphylococcus aureus*

Reiter, K.C¹; Villa, B^{*2}; Paim, T.G.S¹; Oliveira, C.F¹; d'Azevedo, P.A.^{1,2}

ABSTRACT: Biofilm eradication became a very difficult process associated with persistent catheter-related infections, mostly caused by staphylococci. *S. aureus* biofilm-infected devices often require removal in combination with antimicrobial therapy, since the biofilm complexity and architecture prevent bactericidal activity. Even if an infection seems to be cured by antimicrobial therapy, a subset of bacteria can survive within the remaining biofilm and then the infection persists. Hence, minimal inhibitory concentration in biofilm (MBIC) and minimal concentration required to eradicate biofilm (MBEC) for erythromycin, gentamicin, oxacillin, rifampicin, tigecycline and vancomycin against biofilm-forming catheter-related methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) was evaluated. MBIC was defined as the minimal antimicrobial concentration at which there was no observable bacterial growth in wells containing adherent microcolonies and MBEC was defined as the minimal antimicrobial concentration at which bacteria fail to regrow after antimicrobial exposure. Planktonic cells minimal inhibitory concentrations (MIC) and minimal bactericidal concentrations (MBC) were also determined by microplate method. All six antimicrobials displayed MIC₅₀ < 1 µg/ml for planktonic cells. Except tigecycline, other antimicrobials MBEC/MIC ratios were significantly higher in strong and moderate biofilm-producing than in weak biofilm-producing MSSA (p<0.05). Vancomycin and tigecycline presented the most promising inhibitory activity for adherent MSSA (MBIC ranges: 4-8 µg/ml and 4-32 µg/ml) when comparing with erythromycin (p<0.001), gentamicin (p<0.005), rifampicin (p<0.005) and oxacillin (p<0.005). This study was able to demonstrate significant differences among different antimicrobials regarding biofilm production intensity by MSSA. Vancomycin remains an excellent treatment choice and, in combination with others antimicrobials, may be evaluated in relation to effectively mature staphylococcal biofilm eradication.

KEYWORDS: Biofilm, MSSA, vancomycin, MBEC

¹ Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, Brasil.

² Laboratório de cocos Gram-positivos, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, Brasil.

MODELO DE IMUNOSSUPRESSÃO ANIMAL POR DEXAMETASONA VISANDO A SEPSE FÚNGICA EXPERIMENTAL

VIÇOSA, J.A.S.*; DAVIES, S.; SANTOS, R.C.V.

RESUMO: O tratamento com fármacos imunossupressores é reconhecidamente acompanhado por vários tipos de complicações, principalmente as infecciosas, sendo muitas delas potencialmente fatais. Um dos fármacos mais importantes clinicamente é o glicocorticoide dexametasona. Assim, este trabalho objetivou avaliar os efeitos da dexametasona em doses imunossupressoras em modelos experimentais de camundongos, avaliando os níveis de leucócitos totais e linfócitos. Para realização deste trabalho foram utilizados 30 camundongos fêmeas CF-1, com peso entre 20 e 30g, divididos aleatoriamente em seis grupos ($n=5$ animais). No grupo 1 (controle), os animais foram tratados com solução salina 0,9% estéril, administrado via intraperitoneal, os demais grupos (2; 3; 4; 5; 6), foram tratados com fosfato dissódico de dexametasona (Decadron[®], Ache) administrado por via intraperitoneal, nas concentrações de 8mg/Kg (grupo 2); 4mg/Kg (grupo 3); 2mg/Kg (grupo 4) e 2mg/Kg 2x/dia (grupo 6) durante 7 dias consecutivos e 8 mg/Kg (grupo 5) durante os últimos 3 dias. Após o tratamento dos animais foram coletadas amostras de sangue em tubos contendo EDTA. Após, as amostras foram dosadas em equipamento automatizado (ABX[®]Micros 60) no Laboratório Escola de Análises Clínicas da UNIFRA. Observou-se a diminuição dos leucócitos totais dos grupos 4, 5 e 6 sendo esse o mais representativo, apresentando $4,5 \times 10^3/\text{mm}^3$ em comparação com o grupo controle que apresentou $8 \times 10^3/\text{mm}^3$. Após esta dosagem foram realizadas contagens diferenciais das células, em esfregaços sanguíneos, onde observou-se um decaimento considerável do número total de linfócitos absolutos nos grupos 4, 5 e 6, este último apresentando 2.500 linfócitos, e o grupo controle que apresentou 7.200 linfócitos. Deste modo, pode concluir-se que a utilização de dexametasona na dosagem de 2mg/kg 2 vezes ao dia, durante sete dias consecutivos, apresenta um melhor perfil de imunossupressão neste modelo experimental em camundongos podendo, então, ser utilizada como parâmetro de imunossupressão para uma futura indução experimental de sepse por fungos..

PALAVRAS CHAVES: SEPSE, IMUNOSSUPRESSÃO, DEXAMETASONA.

OCORRÊNCIA DE *Acanthamoeba* spp EM CÃES DOMICILIADOS NA CIDADE DE PORTO ALEGRE, RS - RESULTADOS PRELIMINARES

Carlesso, A.M.^{1*}; Mentz, M.B.²; Machado, M. da S.³; Rott, M. B.^{1,2}

RESUMO: Amebas de vida livre (AVL), oportunistas e patogênicas como *Acanthamoeba* spp. e *Naegleria fowleri* são protozoários aeróbicos que possuem uma ampla distribuição geográfica e têm sido isoladas de uma variedade de ambientes. Podem causar infecções em seres humanos e animais. A mais grave delas é a encefalite amebiana granulomatosa, doença crônica na maioria das vezes fatal e que já foi relatada em primatas não humanos, equinos, ovinos e cães. A porta de entrada de *Acanthamoeba* em seu hospedeiro ocorre pela inalação de poeira e solo contaminado ou através de lesões na pele. O tempo entre o aparecimento das lesões na pele e os sintomas neurológicos varia de semanas a meses. Diante da importância do estudo de parasitoses emergentes pelo risco zoonótico e pela escassez de dados epidemiológicos sobre este protozoário em nosso meio, o objetivo do presente trabalho foi pesquisar a ocorrência de *Acanthamoeba* spp. em cães de Porto Alegre, RS. Até o momento foram coletadas 64 amostras com suabe estéril da mucosa nasal e de lesão cutânea de 32 cães domiciliados. As amostras, trazidas até o Laboratório de Parasitologia (ICBS/UFRGS) foram semeadas em ágar não-nutriente 1,5% com sobrecamada de *Escherichia coli* (30⁰C). Os resultados preliminares mostraram que das amostras coletadas, 18/64 (28%) foram positivas para AVL, assim distribuídas: 09/18 (50%) da mucosa nasal e 09/18 (50%) de lesões. cutâneas.

PALAVRAS-CHAVE: *Acanthamoeba*, cães, encefalite.

1 Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola e do meio Ambiente – UFRGS. *anacallesso.yahoo.com.br

2 Departamento de Microbiologia, Parasitologia e Imunologia – ICBS/UFRGS.

3 Hospital de Medicina Veterinária – UFRGS

PERFIL ALÉLICO DE REGIÕES MICROSSATÉLITES EM ACESSOS DE *Malus domestica* RESISTENTES E SUSCEPTÍVEIS AO FUNGO PATOGENICO *Colletotrichum gloeosporioides*

Junkes, C.F.O.*¹, Klabunde, G.F.², Nodari, R.O.², Boneti, J.I.³, Dantas, A.C.M.¹

RESUMO: A produção de maçãs é uma atividade consolidada no Sul do Brasil, que atualmente é o décimo maior produtor da fruta, embora o cultivo ainda encontre problemas de adaptação em algumas regiões devido a fatores relacionados à temperatura, altitude e precipitação. O patógeno que mais causa danos aos pomares é o *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da Mancha Foliar de Gala, provocando lesão nos frutos e necrose nas folhas que podem gerar desfolhamento severo das plantas e quebra na produção de frutos. Cultivares descendentes de Golden Delicious são altamente susceptíveis, enquanto algumas do grupo Delicious são resistentes ao patógeno. Mapas genéticos de ligação localizaram os microssatélites (SSRs) Nz02b01, Ch03b06 e Hi03g06 no grupo de ligação 15, próximo ao gene de resistência ao fungo (distanto 2,1 cM, 6,8 cM e 7,5 cM, respectivamente), com alelos amplificados exclusivamente para cada população. Neste trabalho, 152 acessos de macieira do BAG de Pomáceas da EPAGRI de Caçador/SC, fenotipicamente analisados quanto à resistência e susceptibilidade ao fungo, foram genotipados via eletroforese capilar com os três SSRs. Para o *locus* Nz02b01, os alelos de tamanho (em pares de base) 190 e 198 foram comuns apenas em um indivíduo susceptível, enquanto os alelos 208, 220, 228, 240, 246, 250 e 260 foram comuns em 12 indivíduos resistentes. Para o *locus* Hi03g06, não houve alelos exclusivos entre indivíduos susceptíveis, enquanto os alelos 208, 210, 214, 216, 218, 228, 236 e 240 foram encontrados em 11 indivíduos resistentes. Para o *locus* Ch03b06, os alelos 114, 138, 140 e 152 foram comuns em 5 indivíduos susceptíveis, enquanto 90, 96, 100, 102, 120, 130 e 154 apenas a 24 acessos resistentes. Portanto, para assegurar a resistência ou suscetibilidade dos acessos analisados ainda é necessário observar a segregação desses alelos quanto à resistência e suscetibilidade ao *Colletotrichum gloeosporioides* em populações segregantes de macieira.

PALAVRAS-CHAVE: Macieira, *Colletotrichum gloeosporioides*, genes de resistência, marcadores microssatélites.

¹ Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, UERGS, Bento Gonçalves, RS. e-mail: camila-junkes@uergs.edu.br;

² Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal, CCA/UFSC, Florianópolis, SC;

³ Laboratório de Fitopatologia, Estação Experimental da EPAGRI, São Joaquim, SC.

PERFIL ARDRA DAS ESTIRPES RECOMENDADAS PARA PRODUÇÃO DE INOCULANTES

Nunes, A. S.¹; Bruxel, M.²; Cabral, T. L.³; Silva, N.³; Sá, E. L. S.³

RESUMO: A caracterização genética das estirpes presentes nos inoculantes comerciais é um trabalho que vem sendo realizado com o advento das técnicas de biologia molecular baseadas na reação de PCR (Reação de Polimerase em Cadeia), variantes desta técnica como rep-PCR são recomendadas para a identificação das mesmas. Entretanto, muito trabalho ainda é necessário para a completa identificação e separação dos perfis moleculares destas estirpes. Atualmente, existem 142 estirpes oficialmente recomendadas para a produção de inoculantes no Brasil, classificadas como SEMIAs (Seção Microbiologia) e estão disponíveis no banco de estirpes da FEPAGRO (Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária). Este trabalho visa analisar o perfil molecular das diferentes estirpes utilizadas em inoculantes comerciais com a técnica de ARDRA da região espaçadora 16S-23S rDNA. Foram utilizadas 36 estirpes, recomendadas para diversas culturas agrícolas. A extração de DNA foi realizada com kit, conforme recomendações do fabricante (Kit Promega[®]). A quantificação de DNA foi realizada com Qubit[®]. A região espaçadora 16S-23S rDNA foi amplificada com primers FGPS130/FGPS1490. Os produtos de amplificação foram visualizados por eletroforese em gel de agarose 1,5%, por 1h a 60V, corados com Blue Green. Posteriormente, 5µL do produto de PCR foram digeridos com as enzimas *HinfI*, *HaeIII*, *CfoI* e *MpsI*. Os produtos da digestão foram visualizado através de eletroforese em gel de agarose 3%, por 1,5h a 70V, corados com Blue Green e documentados com o fotodocumentador GL 2200 (Kodak). Os produtos da digestão variaram de dois a oito fragmentos, observando polimorfismos nessa região. A enzima *HinfI* apresentou menos polimorfismos, exibindo perfis idênticos. O índice de similaridade, entre 0,06 e 0,73, indica uma grande variabilidade. Os bradyrizóbios agruparam-se com 56% de similaridade. Como há uma grande heterogeneidade entre e dentro de espécies, essa é uma boa técnica para identificação de polimorfismos que caracterizam microrganismos estritamente relacionados.

PALAVRAS-CHAVE: inoculantes, ARDRA, região intergênica.

¹Graduando em Agronomia, Departamento de solos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS. andre.schönhofen@gmail.com

² PPG Microbiologia Agrícola e do Ambiente

³ Faculdade de Agronomia, Departamento de solos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre,

PERFIL DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS DE *Staphylococcus aureus* ISOLADOS DA SUPERFÍCIE PALMAR DE PROFISSIONAIS DA SAÚDE DE UM HOSPITAL MUNICIPAL DE CATALÃO - GO

Sousa, N. D.^{*(1)}; Santos, A. L.⁽¹⁾; Barros, J. J. C.⁽¹⁾

RESUMO: A origem das infecções hospitalares e métodos de controle dessas enfermidades remontam discursos sobre os diferentes fatores que contribuem para sua inserção e intervenção na unidade de saúde. Nesses casos, geralmente *Staphylococcus aureus* é apontado como patógeno responsável em causar sérios danos ao hospedeiro. Tal fato pode ser facilitado devido à ausência de técnicas adequadas de higiene e desinfecção de superfícies dessas unidades de saúde. O objetivo desse estudo foi verificar a susceptibilidade de *S. aureus* isolados da superfície palmar de enfermeiros e técnicos em enfermagem de hospital municipal de Catalão - GO. As amostras foram coletadas com auxílio de um suabe estéril. Asepticamente, as amostras foram cultivadas em superfície em ágar Sal Manitol e incubadas a 37°C durante 48 horas. Colônias circulares, pequenas ($\geq 1,5$ mm em diâmetro), lisas, convexas, com bordas perfeitas e massa de células foram analisadas em microscopia diferencial de Gram, avaliadas quanto à presença da enzima catalase e capacidade em coagular o plasma sanguíneo e, posteriormente, classificadas como *S. aureus*. Os isolados foram testados quanto aos antibióticos amoxicilina (30 μ g), azitromicina (15 μ g), bacitracina (10 μ g), cefepima (30 μ g), cefoxitina (30 μ g), clindamicina (2 μ g), gentamicina (10 μ g), imipenema (10 μ g), oxacilina (1 μ g), sulfazotrim (25 μ g), tetraciclina (30 μ g) e vancomicina (30 μ g). Dentre as 66 colônias de *S. aureus* selecionadas 100% (66/66) apresentaram sensibilidade a clindamicina, oxacilina e vancomicina. Constatou-se também que 68,18 % (15/22) dos profissionais de saúde foram classificados como portador persistente. A partir dos resultados obtidos é evidente a necessidade do controle rigoroso desses profissionais quanto à higienização das mãos antes do contato direto e/ou indireto com o enfermo, evitando assim a contaminação cruzada nesses indivíduos.

PALAVRAS-CHAVE: *Staphylococcus aureus*, infecções hospitalares, antibióticos.

⁽¹⁾ Universidade Federal de Goiás - Campus Catalão.
*E-mail: dayanenunes6@hotmail.com

⁽¹⁾ Universidade Federal de Goiás - Campus Catalão.
*E-mail: dayanenues6@hotmail.com

POTENCIAL ENZIMÁTICO DE ACTINOMICETOS UTILIZADOS PARA CONTROLE BIOLÓGICO DE *Bipolaris sorokiniana*

Milagre, L.*¹; Minotto, E.¹; Spadari, C.¹; Feltrin, T.¹; Mann, M. B.¹; Van Der Sand, S. T.¹

RESUMO: O fitopatógeno *Bipolaris sorokiniana* é conhecido por ser o agente causador de uma doença fúngica importante, a helmintosporiose. Este fitopatógeno é responsável por perdas expressivas no cultivo mundial de cereais de inverno, dentre eles o trigo, um dos principais cereais da alimentação humana. O controle deste fitopatógeno é dificultado por sua resistência frente aos fungicidas disponíveis e por sua alta variabilidade genética. Uma alternativa viável é a utilização de actinomicetos para realizar seu controle biológico. Esse trabalho tem como objetivo avaliar o potencial enzimático de isolados de actinomicetos endofíticos de tomateiro quanto à capacidade de produzir enzimas extracelulares em meio sólido. Para tanto, os isolados 6(2), 6(4), 16(3) e R18(6), mais eficientes nos ensaios de antibiose contra 18 isolados de *B. sorokiniana*, foram repicados por picada em placas de petri contendo meio de cultivo com substrato específico para cada uma das seguintes enzimas: amilase, proteinase, celulase, lipase e esterase. As placas foram incubadas em duplicata por 7 dias, com exceção da lipase por 14 dias, a 25, 28 e 30°C na ausência de luz. O índice de inibição (I) foi determinado através da média do diâmetro do halo pela média do diâmetro da colônia. Os resultados demonstram que o isolado 6(2) apresentou as maiores médias de produção para amilase e caseinase, sem diferenças significativas em relação à temperatura. Este isolado ainda apresentou maior produção para esterase a 28°C, diferindo significativamente apenas da produção enzimática a 25°C para 6(4) e 16(3). A produção de lipase foi positiva para todos os isolados testados, enquanto pectinase e celulase foram negativas para a maioria dos isolados, a exceção do R18(6), único capaz de degradar celulose, mais eficientemente a 30°C. De modo geral, o isolado R18(6) apresentou as menores médias de produção para todas as enzimas testadas com exceção da produção de celulase.

PALAVRAS-CHAVE: actinomicetos, controle biológico, *B. sorokiniana*.

PRESENCE OF ENTEROVIRUS IN MINERAL WATER BOTTLES COMMERCIALIZED IN THE METROPOLITAN REGION OF PORTO ALEGRE, RS, BRAZIL

Kluge, M.*¹; Soliman, M. C.¹., Santos, V. R.¹, Luz, R. B.¹; Fabres, R. B.¹; Silva, A.D.²; Esteves, P.A.²; S; Fleck, J. D.¹; Spilki, F. R.¹.

RESUMO: In Brazil, the quality of mineral water is regulated by ANVISA, according to resolution 54/00, whose microbiological parameters are strictly bacterial, excluding other possible pathogens such as enteric viruses. Among these viral agents, enteroviruses are potential indicators of fecal contamination, and belong to the *Picornaviridae* family, which are nonenveloped viruses with a positive ssRNA genome. Once there are studies which point mineral water bottles as a possible source of enteric viruses contamination, this study aimed to screen the presence of enterovirus in mineral water samples from bottles commercialized in the Metropolitan region of Porto Alegre, RS, Brazil. The following samples were analyzed: 500 mL mineral bottles of four different brands and 1,5 L bottles of two brands. Five bottles were collected from each brand, all from the same batch, totalizing 30 samples. Initially, 500ml of each sample were concentrated on a filtration-elution protocol, followed by the extraction of viral RNA and cDNA synthesis. The presence of enterovirus genome was detected using polymerase chain reaction, using primers originally designed with potential alignment in highly conserved regions of enteroviruses genome in the genomic fragment of 5'-nontranslated region (5'-NTR). The reaction products were submitted to electrophoresis on 2% agarose gel in a TBE buffer, stained and visualized by UV light. Results showed 7 (23%) samples positive for enterovirus genome. Phylogenetic analysis using the 5'-NTR from six samples showed that all sequences clustered within human enterovirus C serotype. Nevertheless, further sequencing of the VP1 gene will be conducted to better characterize these viruses, since it is more appropriated to differentiate members of the HEV-C serotype. These results show bottle mineral water as a possible source of contamination of enteric viruses, which may have an impact on public health, once mineral water is considered, by most part of population, a safe source of drinking water.

KEYWORDS: water quality, enteric viruses, enterovirus.

¹Laboratório de Microbiologia Molecular, ICS, Universidade Feevale, Novo Hamburgo, RS, Brazil Universidade Feevale marianakluge@hotmail.com

²CNPSA, EMBRAPA, Concórdia, Santa Catarina, Brazil

PREVALÊNCIA DA CANDIDÍASE VULVOVAGINAL EM PACIENTES DO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE DE PORTO ALEGRE FRENTE À ANÁLISE CITOLÓGICA E MICOLÓGICA.

Oliveira, J.P.^{1*}; Pereira, D.P.¹; Vaz, C.B.¹; Calil, L.N.¹; Fogaça, R.¹; Fuentefria, A. M.¹.

RESUMO: A candidíase vulvovaginal (CVV) é um dos principais motivadores de consulta ginecológica. Embora a *Candida albicans* seja ainda o agente prevalente, há na última década um emergente aumento na incidência de espécies não-*albicans*, fator preocupante devido a algumas espécies apresentarem resistência intrínseca aos antifúngicos. Diversos fatores influenciam a sensibilidade do exame citopatológico no diagnóstico da CVV, o que torna necessário uma mudança de protocolo de rotina no diagnóstico laboratorial, uma vez que o número repetitivo de resultados falso-negativos pode gerar cronicidade e aumento de casos de CVV na população. Assim, este trabalho objetivou avaliar a acurácia dos exames citológico e micológico na detecção das espécies de *Candida sp.* nas pacientes atendidas em postos de saúde de Porto Alegre. Foram realizadas coletas da secreção da endo e ectocérvice, onde parte do material foi encaminhado para análise micológica e outra porção para análise citológica. Foram totalizadas 139 amostras das quais 25 foram positivas para *Candida sp.* na análise micológica. Dentre as amostras positivas nessa técnica, apenas 56% foram detectadas no exame citopatológico. Cerca de 60% foram identificadas como *C. albicans*, 8% como *C. krusei*, 20% como *C. tropicalis*, 4% como *C. glabrata*, e somente 8% como *Candida sp.* A distribuição da prevalência das espécies está de acordo com o atual perfil epidemiológico encontrado em outras regiões do Brasil. A maior positividade das amostras no exame micológico em relação ao citológico comprova a maior sensibilidade da cultura frente ao citopatológico, ressaltando a necessidade da co-participação desta metodologia em regiões de alta recidiva da doença, mas com baixo índice de positividade nos laudos citológicos.

PALAVRAS-CHAVE: CANDIDÍASE VULVO-VAGINAL, PREVALÊNCIA, EXAMES CITOLÓGICOS, EXAMES MICOLÓGICOS.

PREVALÊNCIA DE *Salmonella* EM COXA E SOBRECOPA DE FRANGO

Tejada, T.S.¹; Silva, D.T.¹; Agostinetto, A.¹; Silva, C.S.J.¹; Gonzalez, H.L.¹; Timm, C.D.¹

Bactérias do gênero *Salmonella* estão entre os microrganismos mais freqüentemente envolvidos em casos e surtos de enfermidades de origem alimentar em humanos, sendo encontradas em diversos tipos de alimentos. A ocorrência de toxinfecções alimentares em seres humanos, principalmente aquelas decorrentes de *Salmonella* enteritidis, fez com que as salmoneloses aviárias fossem reconhecidas como o maior problema da indústria avícola mundial. Cortes comerciais de carne de frango têm sido comumente relacionados a surtos. O abate, processamento e a manipulação da carne são fatores importantes que podem levar a contaminação, portanto a higiene e desinfecção dos equipamentos e utensílios são fundamentais para que se possa controlar esta contaminação. Este trabalho teve como objetivo avaliar a prevalência de *Salmonella* em coxas e sobrecoxas de frango. Para isso, foram analisadas 40 amostras de coxa e sobrecoxas de diferentes marcas e origens. As amostras foram coletadas no comércio varejista da região sul do Rio Grande do Sul. As amostras, mantidas nas embalagens de venda, foram imediatamente encaminhadas ao laboratório acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo. A Pesquisa de *Salmonella* foi realizada de acordo com os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Dos produtos analisados, 12 (30%) apresentaram presença de *Salmonella*. Os resultados encontrados demonstram que *Salmonella* está presente em coxas e sobrecoxas de frango comercializadas no varejo, oferecendo assim, risco à saúde do consumidor. Estes dados reforçam a necessidade de melhores medidas de controle desta bactéria nas granjas, abatedouro e comércio varejista.

PALAVRAS-CHAVE: *Salmonella*, frango, microorganismo, doenças de origem alimentar.

¹ Laboratório de Produtos de Origem Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS. talitastejada@gmail.com

PREVALÊNCIA E PERFIL DE SUSCETIBILIDADE DE MICRORGANISMOS EM INFECÇÕES DO TRATO RESPIRATÓRIO INFERIOR DE PACIENTES INTERNADOS EM HOSPITAL DE MÉDIO PORTE DE PORTO ALEGRE-RS

Schneider, T.¹; Alves, C.F.S.¹; Lopes, L.S.Q.¹; Vizzotto, B.S.¹; Welter, M.¹; Fisher, J.¹; Tamiozzo, L.R.D.¹; Pulcinelli, R.S.R.²; Aquino, A.R.C.²; Santos, R.C.V.¹

RESUMO: As infecções do trato respiratório (ITR) constituem um grave problema na prática clínica, tanto no âmbito hospitalar quanto comunitário, sendo causa importante de morbidade e mortalidade. Uma grande preocupação em relação às ITR, é que os agentes causadores estão se tornando cada vez mais resistentes aos antimicrobianos utilizados. O objetivo deste estudo foi determinar a prevalência e o perfil de suscetibilidade de microrganismos causadores de ITR, isolados de pacientes internados em hospital de médio porte de Porto Alegre-RS. Os microrganismos mais frequentes foram: *Pseudomonas aeruginosa* (35,6%); *Staphylococcus aureus* (13,6%); *Acinetobacter baumannii* (9,5%); *Escherichia coli* (9,5%); *Candida sp* (4,1%); *Klebsiella pneumoniae* (4,1%). Entre os Gram-negativos, as principais resistências foram: 7,0% das amostras ao ciprofloxacina e 5,1% à Sulfametoxazol-trimetropim. Entre os Gram-positivos, 20% das amostras se mostraram resistentes à Oxacilina. As ITR estão entre as infecções mais comuns em humanos, por isso é importante a correta identificação do microrganismo causador e seu padrão de sensibilidade. Os resultados encontrados ressaltam a maior resistência entre os Gram-negativos e a importância clínica da realização do antibiograma.

PALAVRAS-CHAVE: Infecções do trato respiratório, antimicrobianos, resistência.

¹Laboratório de Microbiologia, Centro Universitário Franciscano (UNIFRA), Santa Maria, RS, Brasil.

²Laboratório Unidos de Pesquisas Clínicas Ltda(Unilab), Porto Alegre, RS, Brasil

E-mail: taiaschneider@hotmail.com

PREVALÊNCIA E PERFIL DE SUSCETIBILIDADE DE MICRORGANISMOS EM SECREÇÃO DE FERIDA OPERATÓRIA DE PACIENTES INTERNADOS EM PORTO ALEGRE-RS

Alves, C.F.S.^{1*}; Schneider, T.¹; Lopes, L.S.Q.¹; Vizzotto, B.S.¹; Welter, M.¹; Fisher, J.¹; Tamiozzo, L.R.D.¹; Pulcinelli, R.S.R.²; Aquino, A.R.C.²; Santos, R.C.V.¹

RESUMO: Apesar dos grandes avanços em todas as áreas médicas, o controle de infecções continua sendo um grande desafio, especialmente de processos cirúrgicos. A infecção de ferida operatória é uma conhecida causa de morbidade, de atraso na cicatrização, aumento do período de hospitalização e dificuldade de boa evolução clínica dos pacientes. Como é elevada a frequência de cirurgias potencialmente contaminadas, os cuidados com o estado do paciente, a assepsia cutânea e o tempo de duração da cirurgia devem ser avaliados como fatores de risco para a infecção. O objetivo deste estudo foi determinar a prevalência e o perfil de suscetibilidade de microrganismos isolados de feridas operatórias de pacientes internados em Hospital de médio porte de Porto Alegre-RS. Durante o período de março a julho de 2011 foram analisados 59 laudos de pacientes. Foi realizado exame bacterioscópico através de coloração de Gram e exame cultural (ágar sangue e ágar MacConkey), seguido de antibiograma através da técnica de disco-difusão. Vinte amostras (33,8%) foram negativas e 39 amostras (66,2%) foram positivas. Dentre os microrganismos mais prevalentes destacam-se *Staphylococcus* sp. coagulase negativa (20,5%), *Escherichia coli* e *Enterobacter* sp. (10,2% cada), *Staphylococcus aureus* (9%), *Klebsiella pneumoniae* (7,8%), *Pseudomonas aeruginosa* (5,1%), *Serratia liquefaciens* e *Acinetobacter baumannii* (2,6% cada). Quando analisado o perfil de suscetibilidade de Gram negativos, os maiores índices foram verificados em 25% dos isolados que apresentaram resistência à Ciprofloxacina e Piperacilina-Tazobactam. Quando verificado o perfil de Gram-positivos, 5,15% dos isolados apresentaram resistência à Oxacilina, Clindamicina, Sulfametoxazol-Trimetoprim e Ciprofloxacina. O surgimento de isolados resistentes vem gerando uma série de preocupação quanto à profilaxia microbiana e tratamentos prolongados, pois esses fatores contribuem para um aumento da taxa de mortalidade dos pacientes.

PALAVRAS-CHAVE: Ferida operatória, resistência e infecção hospitalar.

¹ Laboratório de Microbiologia, Centro Universitário Franciscano (UNIFRA), Santa Maria, RS, Brasil.

² Laboratório Unidos de Pesquisas Clínicas Ltda (Unilab), Porto Alegre, RS, Brasil

PREVALÊNCIA E PERFIL DE RESISTÊNCIA DE MICRORGANISMOS ISOLADOS EM HEMOCULTURAS DE RECÉM-NASCIDOS DE PORTO ALEGRE

Lopes, L.Q.S^{1*}; Schneider, T¹; Alves, C.F.S¹; Vizzotto, B.S.1.; lung, LP¹; Pulcinelli, R.S.R.2; Aquino, A.R.C.2; Santos, R.C.V¹

A sepse é uma das principais causas de morte em pacientes hospitalizados. Esse processo infeccioso é decorrente da presença de microrganismos no sangue, que em condições normais é um líquido estéril. Um dos métodos mais utilizados para o diagnóstico de sepse é a hemocultura, a qual identifica o agente causal da infecção, auxiliando na escolha da conduta terapêutica adequada. Dados da Organização Mundial de Saúde mostram que aproximadamente 5 milhões de crianças morrem por ano no mundo todo no período neonatal e que 98% decorrem de má assistência ao parto, processos infecciosos, asfixia perinatal e prematuridade. O objetivo deste trabalho foi avaliar a prevalência e o perfil de suscetibilidade de microrganismos isolados de hemoculturas de recém-nascidos na cidade de Porto Alegre no Rio Grande do Sul. O total de amostras analisadas foi de 332 sendo que 44 pacientes obtiveram resultados positivos para a presença de microrganismos. Verificou-se a presença de *Candida* sp., *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus* sp. Coagulase negativa. Quando analisado os Gram positivos 54,5% foram resistentes à Gentamicina, Sulfametoxazol, Ciprofloxacino e Oxacilina e 36,6% dos isolados foram resistentes à Clindamicina. Entre os Gram negativos 42,8% dos isolados foram resistentes à Amicacina, Ciprofloxacino, Cefotaxima, 28,5% resistentes à Ceftazidima e Cefepima, 21,4% à Piperaciclina-Tazobactam, 14,2% à Sulfametoxazol e 7,1% foram resistentes à Gentamicina.

PALAVRAS-CHAVE: Hemocultura; Candida; Resistência; Sepse

1 Laboratório de Microbiologia, Centro Universitário Franciscano (UNIFRA), Santa Maria, RS, Brasil.

2 Laboratório Unidos de Pesquisas Clínicas Ltda (Unilab), Porto Alegre, RS, Brasil

E-mail: leuo_lopes@hotmail.com

PRODUÇÃO DE LIPASES POR FUNGOS FILAMENTOSOS ISOLADOS DE SEDIMENTO MARINHO

Matos, F.B.^{1*}; Gomes, D.A.V.²; Nisa-Castro-Neto, W.²; Germani, J. C.³

RESUMO: Os oceanos constituem 75% da superfície da Terra e muitos microrganismos marinhos secretam enzimas de alto interesse biotecnológico, as quais, devido à alta complexidade do ambiente, poderão ser mais eficazes e estáveis. Nos últimos anos, pesquisadores isolaram do ambiente marinho, uma variedade de fungos e outros microrganismos associados a algas, invertebrados, vertebrados e ao sedimento. As lipases agem hidrolisando ligações éster-carboxílicos, liberando ácidos e álcoois orgânicos. Estas enzimas são utilizadas na produção de detergentes, na síntese de biosurfactantes, na indústria de laticínios e em processos de biorremediação. Neste trabalho, objetivou-se verificar a capacidade de fungos filamentosos isolados do sedimento marinho de produzirem enzimas lipolíticas. As amostras de sedimento marinho situado a 9 metros de profundidade, próximo à Ilha do Arvoredo, em Santa Catarina (23°58'S, 46°09'O), foram coletadas com seringas estéreis e transportadas ao laboratório em caixas isotérmicas resfriadas. As amostras foram inoculadas em Ágar Sabouraud acrescido de 20% de água marinha e incubadas a 28°C por até 15 dias, para posterior isolamento dos microrganismos. A produção de lipases foi verificada em ágar nutritivo contendo: peptona, 15g; extrato de levedura, 2g; extrato de carne, 3g; NaCl 5g, ágar 13g; Rodamina b, 4,5ml, e óleo de oliva, 7,5 ml. A formação de um halo claro ao redor da colônia, visível sob luz ultravioleta, indicou reação positiva para lipases. Entre as vinte e duas colônias isoladas, sete apresentaram reação positiva para a produção de lípases. O aprofundamento dos estudos com fungos filamentosos provenientes do ambiente marinho propiciará a obtenção de isolados com amplo potencial biotecnológico.

PALAVRAS- CHAVES: fungos filamentosos, lipase, sedimento marinho

¹Docente do Programa de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente UFRGS;

* Programa de Pós Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente - UFRGS Contato: fernandabrocca@gmail.com

² **PROJETO CARCHARIAS**; Departamento de Biologia; Universidade Luterana do Brasil - Torres; Rua Universitária, 1900, Parque do Balonismo; Torres, Rio Grande do Sul, Brasil. CEP 95560-000.

³Professor do Departamento de Pós-graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente UFRGS E-mail: germani@ufrgs.br

PROTEÇÃO DE PLANTAS DE TOMATE CONTRA *Phytophthora infestans* ATRAVÉS DA MICROBIOLIZAÇÃO DE SEMENTES COM RIZOBACTÉRIAS

Rocha, D.J.A^{*1,2}; Moura, A.B^{1,3}; Gomes, C.B⁴.

RESUMO: A requeima, causada por *Phytophthora infestans* é uma doença de importância econômica na cultura do tomate. Esta doença pode ser muito destrutiva quando as condições ambientais são favoráveis, podendo levar à total perda da produção. O controle desta doença é dependente de aplicações sucessivas de fungicidas. Porém, a fim de diminuir a dependência de insumos químicos, outros métodos têm sido pesquisados. Um método alternativo é o uso de rizobactérias promotoras de crescimento (PGPR), as quais podem agir diretamente sobre o fitopatógeno através de antibiose, competição ou parasitismo ou indiretamente através da indução de resistência, ativando os mecanismos de defesa da planta. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia da microbiolização de sementes com rizobactérias pré-selecionadas sobre a requeima no tomate. As rizobactérias utilizadas foram: DFs1296 e DFs1315 (*Streptomyces*), DFs1414, DFS1420 e DFs1423 (*Bacillus*) e DFs1421 (*Pseudomonas*). Sementes de tomate (“Marmande”) foram imersas sob agitação (4°C/4h) em suspensão salina (0,85% NaCl) de cada rizobactéria com 24 h de crescimento, sendo a concentração ajustada para $A_{540}=0,50$. A testemunha constituiu de sementes imersas em solução salina. Foi feita a semeadura em bandeja em casa de vegetação e, após 30 dias, as mudas foram transplantadas para o campo. Os tratamentos foram seis rizobactérias e aplicação foliar semanal de fungicida (Cabrio Top® 4g/L) ou (Bion® 0,05g/L). O delineamento foi em blocos casualizados, com quatro repetições e quatro plantas por parcela. Foi monitorada a ocorrência natural de doenças da parte aérea, sendo avaliada a severidade de *P. infestans*, usando escala de notas de 0-9. As rizobactérias DFs1420 e DFs1296 foram efetivas em reduzir a severidade da requeima. As plantas originárias de sementes microbiolizadas com estas rizobactérias exibiram sintomas menos severos, semelhante aos tratamentos químicos. Portanto, estas rizobactérias são potenciais alternativas para redução do uso de agrotóxicos e uma agricultura mais sustentável.

PALAVRAS-CHAVE: *Solanum lycopersicum*; requeima; PGPR.

¹Universidade Federal de Pelotas, 96010-900, Capão do Leão, RS, Brasil;

²Mestrando em Fitossanidade, bolsita Capes; dedielrocha@hotmail.com

³Professora bolsista em Produtividade em Pesquisa CNPq;

⁴Pesquisador, Laboratório de Fitopatologia, Embrapa Clima Temperado, 96001-970, Pelotas, RS, Brasil.

QUALIDADE DO SOLO EM DIFERENTES USOS DA TERRA EM OURO/SC

Muniz, A. W. ^{1*}; Wolff, C. L. ²; Dalla Costa, M. ³; Dalagnol, G. L. ³; Silva, E. ⁴

RESUMO: O solo serve como suporte a vida para vários organismos como as plantas agrícolas e atua em várias funções ecológicas como a ciclagem de nutrientes como o carbono e nitrogênio. No entanto a atividade agrícola vem degradando a qualidade deste recurso natural. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade do solo em diferentes sistemas de uso da terra através de variáveis biológicas na microbacia hidrográfica do Rio Doze Passos no município de Ouro-SC. Para isso foram coletadas amostras de solo em floresta, pastagem naturalizada e cultura anual. Essas amostras foram processadas a fim de determinar o carbono da biomassa microbiana e a respiração basal do solo. O carbono da biomassa foi determinado utilizando o método de fumigação com clorofórmio e extração com sulfato de potássio. A respiração basal foi determinada por meio da captura de dióxido de carbono em solução de hidróxido de sódio e titulação em uma solução de ácido clorídrico. Os resultados foram submetidos à análise de variância e ao teste de separação de médias de Duncan (5%). Esses resultados revelaram que o carbono da biomassa microbiana e a respiração basal foram maiores na floresta do que na cultura anual. As estações do ano não alteraram o conteúdo do carbono da biomassa microbiana no solo de floresta. A respiração basal em todos os sistemas estudados foi maior no verão do que nas demais estações. Os diferentes sistemas de uso da terra e as estações do ano influenciam diretamente a qualidade do solo. As variáveis carbono da biomassa microbiana e respiração basal demonstram sensibilidade para serem utilizadas como indicadores ambientais.

PALAVRAS-CHAVE: carbono da biomassa microbiana, respiração, floresta, pastagem naturalizada, cultura anual

^{1*} Embrapa Amazônia Ocidental, Embrapa, Manaus, AM; aleksander.muniz@cpaa.embrapa.br

² Instituto Federal de Santa Catarina, Lages, SC

³ Estação Experimental de Lages, Epagri, Lages, SC

⁴ Centro Integrado de Informações Ambientais, Epagri, Florianópolis, SC

REDUÇÃO DE N-NTK DE EFLUENTE DE ARROZ PARBOILIZADO SUPLEMENTADO COM GLICEROL DE BIODIESEL ATRAVÉS DA PRODUÇÃO DE *Pichia Pastoris* X33 COM POTENCIAL PROBIÓTICO

Santos, D. G.^{1,2}; Fernandes, L.^{*4}; Gaboardi⁴, G.; Conceição³, F. R.

RESUMO: O efluente da parboilização de arroz contém compostos orgânicos e nutrientes, incluindo nitrogênio, que podem ser empregados na obtenção de proteína unicelular. *Pichia pastoris* obtém altas concentrações celulares na presença de glicerol. Avaliou-se a biomassa, a viabilidade celular e o impacto no nitrogênio total do efluente de arroz parboilizado suplementado com glicerol residual de biodiesel pelo cultivo da *P.pastoris*. Pré-inóculos e inóculo da levedura *P. pastoris* X-33 foram produzidos em balões aletados, a partir de 5 colônias isoladas, em meio YM (Yeast Medium, Difco, USA) num agitador orbital a 150 rpm, 28°C por 12 horas. Efetuaram-se duas fermentações a 250 rpm, 1 vvm e 28°C por 96 horas, utilizando-se 7L de efluente de arroz parboilizado adicionado de 15 gL⁻¹ de glicerol subproduto da indústria de biodiesel e 10% em volume de inóculo. Ajustou-se com NaOH 1 M o pH a 5,5. As amostras foram centrifugadas a 1800 g por 10 min. Nos sobrenadantes determinou-se o nitrogênio total *Kjeldahl* (N-NTK) e nos pellets a biomassa por densidade óptica a 600 nm num espectrofotômetro UV visível Hitachi U-1800. Determinou-se viabilidade por contagem de unidades formadoras de colônias (UFC mL⁻¹) usando placas de YM sólido a 28°C. A fase estacionária iniciou em aproximadamente 20h de cultivo, obtendo-se em média 2,7 x 10⁸ UFC mL⁻¹ nas duas fermentações, valores semelhantes aos obtidos em YPD. A maior produção de biomassa foi obtida às 96 horas (12 g L⁻¹). O máximo de remoção de N-NTK foi de 81,6%, às 54 horas, superior aos 75% de remoção exigido pela FEPAM à indústria da qual se obteve o efluente. Os resultados sugerem que efluente de arroz parboilizado suplementado com glicerol de biodiesel pode ser utilizado para obtenção de *P. pastoris* com potencial probiótico e reduzir o impacto ambiental referente ao N-NTK.

PALAVRAS-CHAVE: *Pichia pastoris*; efluente; nitrogênio; probiótico, glicerol

¹ Professor de Curso Técnico em Química do IFSul-riograndense E-mail: luiza.fernandess@hotmail.com

²Doutorando em Biotecnologia UFPel

³ Professor do Centro de Desenvolvimento Tecnológico da UFPel

⁴Estudantes de Graduação do curso de Biotecnologia da UFPel

RESPOSTA DE VACINAS EXPERIMENTAIS CONTRA *Streptococcus equi subesp. equi* EM CAMUNDONGOS

Rosa, M. C.*; Araujo, I. L.¹; Dummer, L. A.²; Oliveira, P. D.⁴, Leite, F. P. L.³

Universidade Federal de Pelotas
Email: matheusc.rosa@yahoo.com.br

A eqüinocultura no Brasil é uma atividade em constante crescimento. O elevado número de animais leva a um aumento na ocorrência de enfermidades que causam prejuízos econômicos. Dentre as enfermidades, a Adenite Eqüina, doença infecto-contagiosa aguda é causada pela bactéria β - hemolítica *Streptococcus equi subesp. equi*, grupo C Lancefield. Caracterizada pela inflamação mucopurulenta do trato respiratório superior de eqüinos, a forma de prevenção por imunização vacinal é essencial para a saúde dos eqüinos. O objetivo do trabalho foi avaliar a resposta imune humoral induzida por diferentes vacinas contra o *S. equi* em modelo experimental de camundongos. O projeto envolveu 7 vacinas: 1. Bacterina de *S. equi*; 2. Proteína M recombinante de *S. equi* (rSeM); 3. Associação de rSeM e bacterina *S. equi* adsorvidas em 10% de Hidróxido de Alumínio Al(OH)₃; 4 e 5. Vacinas compostas com os mesmos antígenos que as 1 e 2 adsorvidas em polissacarídeo bacteriano; 6. Composta de uma cepa de *E. coli* de expressão transformada com um plasmídeo contendo a rSeM induzida, inativada e adsorvida em Al(OH)₃ e a vacina 7 composta da mesma amostra de *E. coli* sem ser inativada e sem o adjuvante. Foram utilizados 10 camundongos balb-c por grupo e imunizados por via subcutânea com 200uL de vacina em duas doses. A cada 7 dias foi realizada coleta de sangue, durante 28 dias. A soroconversão foi avaliada por ELISA Indireto. Todas as vacinas induziram uma resposta, porém a vacina 3 apresentou a mais alta soroconversão.. Esta formulação é promissora para ser utilizada em programas de controle de Adenite Equina.

PALAVRAS-CHAVE: VACINA, ADENITE EQUINA, *Streptococcus equi*.

*Licenciado em Ciências Biológicas, UCPEL

¹Graduando em Bacharelado em Ciências Biológicas, UFPEL

^{2,3,4}PPG Biotecnologia, CDTec, UFPEL

SCREENING DA ATIVIDADE ANTI-DERMATOFÍTICA DE EXTRATOS DE PLANTAS DA FAMÍLIA LEGUMINOSAE

Silva, F.E.K.^{1*}; Moraes, C. B.²; Lana, A. D.²; Tonello, M. L.²; Fuentefria, A. M.^{2,3}; Zuanazzi, J. A. S.²

RESUMO: As infecções dermatofíticas estão entre as mais comuns doenças dermatológicas em habitantes dos países tropicais e subtropicais. Sua terapia antifúngica utilizada é frequentemente de longa duração, de elevado custo e de eficácia limitada devido à atual resistência expressa pelos fungos, tornando necessária a descoberta de novos compostos antidermatófitos. Para isso, uma estratégia promissora e atualmente utilizada é a busca de tais compostos por meio de produtos de origem vegetal. O presente trabalho tem por finalidade avaliar a atividade anti-dermatofítica de trinta e seis diferentes extratos da família Leguminosae (Fabaceae), frente a seis espécies de dermatófitos para posterior determinação da concentração inibitória mínima. A triagem para susceptibilidade foi realizada de acordo com as recomendações dos documentos aprovados pelo Clinical and Laboratory Standar Institute (CLSI, 2008). Os ensaios foram desenvolvidos em duplicada e todos os extratos aquosos foram inicialmente testados a uma concentração de 1mg/mL contendo 10% de metanol. As microplacas foram incubadas a 32°C por sete dias. Como controle da inibição foi adicionado aos poços contendo os inóculos Terbinafina a 32µg/mL. Quando visualizada a inibição, uma alíquota de aproximadamente 10µL foi transferida para placas de Petri contendo Ágar Sabouraud para verificação da inibição fungicida ou fungistática. A determinação da Concentração Inibitória Mínima foi realizada para os três extratos com maior espectro de inibição verificados no *Screening* frente às espécies suscetíveis. Foi utilizada a faixa de concentração dos extratos de 1000µg/mL a 3,90µg/mL frente a cinco cepas de cada espécie. Os resultados apontam um dos extratos como agente de inibição de maior espectro de ação sobre as cepas testadas. Outros ensaios estão previstos, aumentando o número de espécies vegetais no estudo, bem como a determinação das concentrações inibitórias mínimas para os demais extratos ainda não determinados, mas com atividade antifúngica informada pela triagem.

PALAVRAS-CHAVE: Screening, Atividade Antifúngica, Leguminosae, Extrato.

¹Faculdade de Farmácia, Departamento de Análises, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS; fekleinsilva@gmail.com

²PPG em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS;

³PPG em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

SENSIBILIDADE A ANTIFÚNGICOS DE ISOLADO CLÍNICO DE *Fonsecaea pedrosoi* ORIUNDO PACIENTE RECIDIVADO APÓS TRATAMENTO COM ITRACONAZOL.

Daboit, T.C.^{1,2*}; Stopiglia, C.D.O.^{1,2}; Antchevis, L. C.¹ Heidrich, D.^{1,2}; Magagnin, C.M.^{1,2}, Vettorato, G.³; Scroferneker, M. L.^{1,2}

RESUMO: *Fonsecaea pedrosoi* é um fungo dematiáceo, sendo no Brasil, o principal agente etiológico da cromoblastomicose. A terapia para esta micose é um desafio, pois não existe consenso com relação a um tratamento de escolha. Relato de caso: paciente de 69 anos foi encaminhado de uma unidade de saúde ao Serviço de Dermatologia do Complexo Hospitalar Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, em janeiro de 2011, apresentando lesões na perna e pé esquerdos, com diagnóstico de cromoblastomicose. Anteriormente ao encaminhamento, o paciente já havia sido tratado com itraconazol, apresentando melhora. Em 2010, houve recidiva das lesões, quando foi retomado o tratamento com itraconazol na dosagem de 200 mg/dia. No Serviço de Dermatologia, para confirmação do diagnóstico, foi realizado exame micológico direto e cultural, onde foi verificada a presença de células escleróticas e identificado o fungo *Fonsecaea pedrosoi*. O objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil de suscetibilidade a antifúngicos, quando empregados de forma isolada ou em combinação, do isolado clínico de *Fonsecaea pedrosoi* de paciente recidivado após tratamento com itraconazol. O teste de atividade antifúngica foi realizado conforme o documento M38 A2 do *Clinical and Laboratory Standards Institute* e feita a avaliação, paralelamente, das combinações dos antifúngicos através da técnica de tabuleiro de xadrez. Foram utilizados os antifúngicos itraconazol, voriconazol, terbinafina e anfotericina B. O isolado foi suscetível igualmente ao itraconazol e à terbinafina, com concentração inibitória mínima (CIM) de 0,125 µg/ml, seguido pelo voriconazol com CIM de 1 µg/ml e pela anfotericina B, com CIM de 2 µg/ml. Em relação às combinações, terbinafina e anfotericina B e terbinafina e voriconazol mostraram-se sinérgicas. Devido ao grande número de recidivas ocorridas nesta micose, a utilização alternada de antifúngicos que apresentam satisfatória atividade ou a utilização de antifúngicos que apresentam atividade sinérgica, de forma conjunta, são maneiras de evitar o problema em questão.

PALAVRAS-CHAVE: *Fonsecaea pedrosoi*, atividade antifúngica, NCCLS, tabuleiro de xadrez.

¹ PPG em Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS; tatidaboit@gmail.com

² Laboratório de Fungos Patogênicos, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

³ Serviço de Dermatologia, Complexo Hospitalar Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Brasil, RS.

SOBREVIVÊNCIA DE *Salmonella* SOROTIPO TYPHIMURIUM EM DOCE DE LEITE PASTOSO

Silveira, D.R*; Lopes, N.A; Lima, H.G; Timm, C.D.

Os alimentos podem ser contaminados por práticas inadequadas durante o processamento, com consequentes riscos ao consumidor. O doce de leite é um alimento obtido por concentração do leite adicionado de sacarose e não apresenta condições favoráveis à multiplicação microbiana, entretanto, *Salmonella* Typhimurium já foi isolada deste alimento. *Salmonella* é um importante patógeno que utiliza como reservatório o trato gastrointestinal do homem e de animais causando enfermidades. É de grande importância na inspeção de alimentos. Este trabalho teve como objetivo avaliar a sobrevivência de *Salmonella* Typhimurium em doce de leite pastoso. Foram preparados inóculos a partir de três cepas de *Salmonella* Typhimurium, uma ATCC 13311, uma isolada de carne suína e uma de doce de leite, as quais foram cultivadas em BHI a 37 °C, por 24 horas. A contaminação experimental foi realizada em alíquotas de 25 g de doce de leite pastoso de forma a ser obtida a concentração final de 10² células bacterianas/g de doce. As amostras foram mantidas a aproximadamente 25 °C e analisadas depois de 0, 1, 2, 3, 5, 10 e 20 dias de estocagem através da pesquisa da presença de *Salmonella* conforme recomendação do U.S. Food and Drug Administration. O experimento foi realizado em triplicata. A cepa isolada de doce de leite pastoso sobreviveu por apenas três dias, a ATCC 13311 por 5 dias e a cepa isolada de carne suína por até 20 dias, demonstrando estar mais adaptada a este alimento. *Salmonella* Typhimurium é capaz de se manter viável em doce de leite pastoso por até 20 dias, constituindo motivo de preocupações em termos de segurança alimentar.

PALAVRAS-CHAVE: Typhimurium, doce de leite, *Salmonella*, sobrevivência

SUSCETIBILIDADE DE TROFOZOÍTOS DE CEPAS E ISOLADOS DE ACANTHAMOEBA FRENTE À SOLUÇÕES DE LIMPEZA PARA LENTES DE CONTATO

AGUIAR, A.P.C*; SILVEIRA, C.O; ROTT, M.B

RESUMO: *Acanthamoeba* é uma ameba de vida livre (AVL) cosmopolita de ampla distribuição no meio ambiente. São potencialmente patogênicas, conhecidas como patógenos oportunistas ou amebas anfízicas (habilidade de viver dentro e fora de um hospedeiro). A ceratite causada por este protozoário tem demonstrado um crescimento significativo, principalmente nos usuários de lentes de contato. Assim, o objetivo do trabalho foi investigar a suscetibilidade de trofozoítos de 3 cepas ATCC (*A. castellani* T4 - ATCC30010, *A. castellani* Neff - ATCC50492 e *A. polyphaga*-ATCC30461) pertencentes ao grupo T4 e dois isolados de piscinas (PO1 e PT5), pertencentes ao grupo T4 e T5 respectivamente, frente a duas soluções multiuso para conservação e limpeza de lentes de contato, amplamente utilizadas no mercado, nos intervalos de tempo de 4h e 24h usando soro fisiológico como controle negativo, a fim de testar sua sobrevivência. A verificação do crescimento amebiano nas placas foi realizada após 72 horas de incubação a 30°C em microscópio óptico. Foram observados 10 campos aleatórios e feita uma contagem do número de amebas em cada campo e posteriormente calculada a média. Os resultados mostraram que os trofozoítos de todas as cepas padrão e um isolado ambiental (PO1) foram resistentes, sobrevivendo à exposição às soluções nos intervalos de tempo testados, enquanto somente os trofozoítos de um isolado ambiental (PT5) apresentaram suscetibilidade. Concluiu-se que as duas soluções não foram completamente eficazes contra a maioria das cepas e isolados nos intervalos de tempos testados. Esses resultados são relevantes, visto que este organismo apresenta ampla distribuição ambiental e é um potencial agente de patologias oculares em usuários de lentes de contato.

PALAVRAS-CHAVE: *Acanthamoeba*, lentes de contato, soluções multiuso

***Telmatoscopus albipunctatus* WILLISTON, 1893 (DÍPTERA: PSYCHODIDAE) COMO POSSÍVEIS BIOINDICADORES DE SAÚDE PÚBLICA EM UBERLÂNDIA, MG**

Santos, A.L.¹; Sousa, D.N.^{1*}; Barros, J.J.C.¹; Marcolino, M.T.²; Kerr, W.E.³

Os agentes bacterianos são responsáveis por, aproximadamente, 90% das infecções hospitalares. Nestes ambientes, os insetos podem ser relacionados à propagação de bactérias, como formigas, baratas e dípteros. Este trabalho verificou o potencial transmissor de *Telmatoscopus albipunctatus* (Williston) como vetores mecânicos de *Staphylococcus* spp. e bacilos Gram negativos. Foram coletados 47 indivíduos e amostras de ambientes em uma Unidade Hospitalar pública, em residências e em banheiros públicos localizados em Uberlândia, MG. As amostras foram colocadas em Caldo BHI, incubadas em estufa por 30 minutos e, em seguida, semeadas em Ágar Manitol Salgado e Ágar Mac Conkey. Após o crescimento foi realizada a coloração diferencial de Gram. As colônias identificadas como cocos Gram positivos (CGP) foram submetidas aos testes de catalase, coagulase e sensibilidade a antimicrobianos por disco-difusão. Para as colônias caracterizadas como bacilos Gram negativos (BGN) foi realizado somente o último teste. Das amostras de *T. albipunctatus*, 5/47 (10,64%) apresentaram *Staphylococcus* coagulase positiva e 1/47 (2,13%) apontou *Staphylococcus* coagulase negativa. Houve crescimento em 9/47 (19,15%) das amostras semeadas em Ágar Mac Conkey. Na avaliação da contaminação ambiental, 13/47 (27,66%) amostras apresentaram *Staphylococcus* coagulase positiva, 3/47 (6,38%) continham *Staphylococcus* coagulase negativa e 6/47 (12,77%) tiveram crescimento em Ágar Mac Conkey. Em relação ao perfil de resistência a antimicrobianos, 7 amostras de CGP demonstraram resistência à oxacilina, sendo 3 provenientes das moscas e 4 de ambientes. Das amostras de BGN, 3 tiveram resistência a todos os antimicrobianos utilizados, sendo 2 oriundas das moscas e 1 do ambiente. *T. albipunctatus* pode ser considerado importante vetor de bactérias nosocomiais, além de ser um possível bioindicador de higiene ou limpeza ambiental em áreas urbanas.

PALAVRAS-CHAVE: moscas de banheiro, infecções hospitalares, resistência microbiana.

1 Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás/Campus Catalão, Catalão, GO; dayanenunes6@hotmail.com

2 Faculdade de Medicina, Fundação Universitária Regional de Gurupi, Gurupi, TO

3 Instituto de Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG

TESTE DE METODOLOGIAS PARA EXTRAÇÃO DE DNA DE INOCULANTES COMERCIAIS E IDENTIFICAÇÃO DE ESTIRPES COM rep-PCR

Bruxel, M.^{1*}; Cabral, T. L.²; Nunes, A. S.³; Sá, E. L. S.³

RESUMO: A inoculação no Brasil é uma prática bastante utilizada e sujeita à fiscalização oficial quanto à venda e controle de qualidade do produto comercial. Contudo, a legislação brasileira apresenta algumas exigências que podem causar uma série de dificuldades, principalmente em relação à identificação dos microrganismos presentes no produto inoculante, pois este pode conter mais de uma estirpe. Os objetivos desse trabalho foram testar três metodologias de extração de DNA diretamente do produto comercial e analisar o perfil genético, a fim de se identificar os microrganismos presentes. A extração de DNA foi realizada com três metodologias diferentes: utilizando-se o Kit Promega[®], ou fenol ou acetato de sódio, sendo o último recomendado pela instrução normativa nº13 do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Foram avaliados 17 inoculantes líquidos e 3 turfosos, em quadruplicata. A quantificação de DNA foi realizada com Qubit[®], e comparadas por ANOVA com teste de Tukey (0,05) pelo programa OriginPro 8.0[®]. Reações de Rep-PCR foram realizadas utilizando-se os *primers* BOX-A1 e ERIC1/ERIC2. Os produtos de amplificação do DNA genômico foram visualizados em eletroforese em gel de agarose (1,5%), por 2,5h a 60V, corados com Blue Green e documentadas em fotodocumentador GL 2200 (Kodak). As extrações renderam em média 259,67ng de DNA/μL com uso do kit, 109 com uso de fenol e 84ng de DNA/μL com acetato de sódio, sendo que o kit rendeu significativamente mais DNA ($p < 0,05$). Os fragmentos apresentavam de 200 a 3000pb, sendo obtidos em média 20 bandas por inoculante. Os perfis se mostraram ambíguos, mas apresentam polimorfismos de amplificação em 1500, 1000 e 400pb que podem auxiliar na identificação dos microrganismos presentes no inoculante. Técnicas mais precisas de identificação dos microrganismos presentes no inoculante devem ser estudadas.

PALAVRAS-CHAVE: Inoculantes, extração de DNA, rep-PCR.

^{1*} PPG em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS; manubruxel@gmail.com;

² PPG em Ciência do Solo, UFRGS, Porto Alegre, RS; ³ Faculdade de Agronomia, UFRGS, Porto Alegre, RS; ⁴ Professor Departamento de Solos – UFRGS, Porto Alegre, RS

TOXICIDADE DO METANOL NA INDUÇÃO DE *Pichia pastoris* PARA EXPRESSÃO DE rEMA-1

Piraine, R. E. A.^{1*}, Valiati, F. E.²; Oliveira, P. D.³; Araújo, I. L.⁴; Gonçalves, R. A.⁵; Santos Junior, A.G.⁶; Leite, F. P. L.⁷.

RESUMO: A levedura metilotrófica *Pichia pastoris* possui grandes vantagens eucarióticas importantes na expressão de proteínas heterólogas, como modificações pós-traducionais, folding, e a utilização do metanol como única fonte de carbono para expressão de proteínas no meio extracelular, tornando-a interessante na produção de vacinas recombinantes. As culturas são iniciadas com glicerol como fonte de carbono até a produção suficiente de biomassa e posteriormente adiciona-se metanol, o qual induz um forte promotor AOX (álcool-oxidase) utilizado para transcrição de genes heterólogos. O objetivo deste trabalho foi verificar a toxicidade do metanol em concentrações de 1%, 3% e 5% utilizadas na indução da expressão de *P. pastoris* clonada com uma proteína de membrana externa do protozoário *Theileria equi*, chamada Ema-1 a qual apresenta características imunogênicas. No estudo, foi trabalhada a cepa X-33 clonada, fenótipo Mut⁺, cultivada e induzida nas 3 concentrações descritas. Após 168 horas de indução da *P. pastoris* houve a centrifugação, os sobrenadantes foram submetidos a diferentes métodos de recuperação de rEma-1 (acetona, metanol e sulfato de amônio) e os resultados analisados por *Dot Blotting*, utilizando anti-histidina e anti-mouse conjugado em diluições de 1:4000. Pôde ser avaliado que em 1% todos os métodos formaram *dot*, enquanto em 3% a intensidade dos *dots* foi inferior, sugerindo uma menor expressão da proteína e 5% não se obtiveram respostas significativas. Supõe-se que em concentrações altas o metanol é tóxico, pois, mesmo havendo o peroxissomo, o metabolismo do álcool gera excessivo H₂O₂, sobrecarregando a organela e comprometendo a vitalidade de *P. pastoris* juntamente de sua capacidade de expressão.

PALAVRAS-CHAVE: *Pichia pastoris*, rEMA-1, indução

^{1,2} Graduando em Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS; renanbiotec@gmail.com

^{3,6} PPG em Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS;

⁴ Graduando em Bacharelado em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS;

⁵ Graduando em Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS;

⁷ Departamento de Bacteriologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

UTILIZAÇÃO DA LEVEDURA *Pichia pastoris* COMO SISTEMA DE EXPRESSÃO DAS PROTEÍNAS TES30 E TES120 DE *Toxocara canis*

Pepe, M.S.¹; Finger, P.F.¹; Telmo, P.L.¹; Dummer, L.¹; Berne, M.E.A.¹; Leite, F.P.L.¹; Conceição, F.R.¹

RESUMO: *Toxocara canis* é o principal agente da síndrome da Larva Migrans Visceral (LMV) no homem. O produto de secreção e excreção das larvas de *T. canis* (TES) é o principal antígeno utilizado no diagnóstico dessa parasitose, porém a sua obtenção é laboriosa e improdutiva. O objetivo deste trabalho foi produzir os antígenos TES-30 e TES-120 de *T. canis* em *Pichia pastoris*. Para tal, genes sintéticos contendo códons preferenciais de *P. pastoris* foram sintetizados e clonados no vetor de expressão pPICZαB (Invitrogen). Células competentes de *P. pastoris* KM71H (Mut^S) foram transformadas por eletroporação com os vetores recombinantes (pPICZαB/TES30 e pPICZαB/TES120), segundo protocolo descrito pela Invitrogen (EasySelect™ *Pichia* Expression Kit, Version G). Os clones recombinantes foram selecionados em ágar YPDS contendo 500 µg/mL de zeocina, com incubação a 28°C por quatro dias. Os clones recombinantes foram cultivados em BMMY, incubados por 6 dias em estufa a 28°C, induzidos com 0,5% metanol a cada 24 h. A partir dessas colônias foi realizado *Colony blot*. Clones positivos no *Colony blot* foram cultivados em BMMY para observação da expressão das proteínas TES-30 e TES-120 no sobrenadante. O processo de indução foi realizado como descrito anteriormente. Na transformação foram obtidos aproximadamente 160 clones de cada construção. Na avaliação por *Colony blot*, observou-se reação positiva em sete clones de pPICZαB/TES30 e seis de pPICZαB/TES120, que foram confirmados por PCR de colônia. Após cultivo em caldo BMMY, foram confirmadas a expressão em dois clones de pPICZαB/TES30 e um clone de pPICZαB/TES120. Estes resultados sugerem que a plataforma de expressão de proteínas heterólogas baseada na levedura *Pichia pastoris* é adequada para a produção de antígenos de *Toxocara canis*.

PALAVRAS-CHAVE: *Toxocara canis*, *Pichia pastoris*, TES.

VARIAÇÃO DO BACTERIOPLÂNCTON EM PERFIL DE PROFUNDIDADE EM LAGOA RASA DIRECIONADA POR VARIÁVEIS LIMNOLÓGICAS

Kist, D. L.^{*1}; Rodrigues, L. H. R.²; Riediger, P. I.³; Motta Marques, D.⁴

RESUMO: A estrutura trófica dos ecossistemas aquáticos apresenta grande complexidade de interações. O bacterioplâncton nestes sistemas é responsável pela re-mineralização da matéria orgânica e pela produção secundária de biomassa. Essa comunidade apresenta como resposta às variáveis limnológicas, alterações na densidade, biomassa e morfotipos. A compreensão das relações entre nutrientes e comunidade bacteriana pode levar a implantação de sistemas de monitoramento, gerenciamento dos recursos hídricos e elaboração de modelos ecológicos. Buscando compreender essas relações, este trabalho teve como objetivo avaliar a estrutura da comunidade bacteriana em uma lagoa subtropical rasa (Lagoa Mangueira). As amostragens foram realizadas nos meses de agosto e setembro de 2010, no ponto de maior profundidade da lagoa (7m). As amostragens foram compostas por 7 pontos amostrais (superfície, 1m, 2m, 3m, 4m, 5m e fundo). Análises físico-químicas e biológicas (densidade e biomassa bacteriana) das amostras foram realizadas. ANOVA evidenciou diferenças significativas entre os meses analisados para densidade bacteriana ($p=0,005$), biomassa bacteriana ($p=0,003$) e clorofila *a* ($p=0,003$). A densidade e a biomassa bacteriana apresentaram redução no mês de setembro em comparação com o mês de agosto. Correlações positivas entre densidade, biomassa e clorofila *a* evidenciaram o consumo de matéria orgânica autóctone. Correlações observadas entre biomassa bacteriana, turbidez, sílica e sólidos suspensos totais destacam o uso desse material em suspensão como suporte para o crescimento bacteriano. As formas de carbono, nitrogênio e fósforo apresentaram correlação positiva com a clorofila *a*, enquanto que, para a comunidade bacteriana, apenas as formas de carbono apresentaram relação positiva. ACP explicou 71,0% da variabilidade dos dados nos dois primeiros eixos. O mês de setembro foi caracterizado, principalmente, pelas variáveis temperatura e pH, enquanto que agosto foi caracterizado pela dinâmica dos nutrientes, podendo essa variação estar relacionada com a elevada densidade e biomassa bacterianas observada no mês de agosto, evidenciando um gradiente temporal no sistema.

PALAVRAS-CHAVE: bacterioplâncton, cadeia trófica, controle ascendente

^{1*} Mestranda em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, UFRGS-IPH, Laboratório de Ecotecnologia & Limnologia. Av. Bento Gonçalves, 9500, Caixa Postal 15029 CEP: 91501-970 Porto Alegre, RS. danielikist@yahoo.com.br

² Professora Colaboradora, IPH-UFRGS, Laboratório de Ecotecnologia & Limnologia. Av. Bento Gonçalves, 9500, Caixa Postal 15029 CEP: 91501-970 Porto Alegre, RS.

³ Graduanda Engenharia Ambiental. UFRGS-IPH, Laboratório de Ecotecnologia & Limnologia. Av. Bento Gonçalves, 9500, Caixa Postal 15029 CEP: 91501-970 Porto Alegre, RS.

⁴ Professor Adjunto, IPH-UFRGS, Laboratório de Ecotecnologia & Limnologia. Av. Bento Gonçalves, 9500, Caixa Postal 15029 CEP: 91501-970 Porto Alegre, RS.

XANTANA PRUNI: SELEÇÃO DE CEPAS DE *Xanthomonas arboricola* pv pruni COM ALTO RENDIMENTO

Rodrigues, A. A.^{1*}; Macagnan, K. L.²; Rodrigues, S. A.³; Moreira, A. S.⁴; Vendruscolo, C. T.⁴

RESUMO: Produzida naturalmente por bactérias do gênero *Xanthomonas*, a goma xantana confere proteção e resistência às bactérias na superfície de plantas para as quais são fitopatogênicas. No âmbito industrial, a xantana é um dos hidrocolóides mais empregado como espessante, estabilizante e emulsificante em alimentos, fármacos e recuperação de petróleo; devido a estabilidade frente às diferentes temperaturas, pH e concentrações salinas e a alta viscosidade em concentrações baixas. Entretanto, apesar da ampla possibilidade de aplicação, toda a xantana utilizada no Brasil é importada, demonstrando a importância de estudos na área que estimulem a produção nacional. O objetivo deste trabalho foi selecionar cepas de *X. arboricola* pv pruni produtoras de xantana com alto rendimento. Utilizaram-se as cepas 30, 31, 58, 101, 106 e 115 do patovar pruni. As produções foram realizadas conforme a patente WO2006047845 em biorreator Biostat-B de 10L, e o caldo final tratado termicamente. A determinação do rendimento foi feita por gravimetria. Para as xantanas das cepas que apresentaram maior rendimento foi mensurada a viscosidade das soluções aquosas de xantana a 1% (m/v) em Viscosímetro Visco Tester 6L Thermo Haake[®] em 10, 30, 60 e 100rpm. O rendimento das cepas 30, 31 e 58 foi de 12, 11 e 11g.L⁻¹, respectivamente. As cepas 101, 106 e 115 tiveram rendimento expressivo para o patovar pruni, variando de 19 a 20g.L⁻¹, estatisticamente superior ao das demais; por isso foram pré-selecionadas para análise da viscosidade. Os valores obtidos de 5.798, 5.860 e 5.620mPa.s, a 10rpm para as cepas 101, 106 e 115, respectivamente, são compatíveis e até superiores a valores relatados para xantanas de outras *Xanthomonas*, sendo que as amostras 101 e 106 foram estatisticamente mais viscosas. Estas cepas, 101, 106 e 115, podem, portanto, serem eficientemente utilizadas como micro-organismo sintetizadores em processos de maior escala para produção de xantana.

PALAVRAS-CHAVE: bioprocessos; hidrocolóides; xantana; *Xanthomonas arboricola* pv pruni;