

# **ANAIS**

## **VII SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA APLICADA**

**III ENCONTRO LATINO AMERICANO DE MICROBIOLOGIA APLICADA/**

**IX ENCONTRO NACIONAL DE ESTUDANTES DE  
PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA DA ÁREA AGRÍCOLA  
XI FÓRUM DOS COORDENADORES DOS PROGRAMAS DE  
PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA DA ÁREA AGRÍCOLA**



**ISSN 2237-1672**

**UFRGS  
PORTO ALEGRE-RS  
16-18 de maio de 2014**

## **Ficha técnica**

*Os resumos contidos nesta publicação são de inteira  
responsabilidade de seus autores.*

### **Comissão científica**

Alexandre M. Fuentefria  
Aline G. Dall Bello  
Ana Paula Folmer Corrêa  
Ana Paula Frazzon  
Eduardo César Tondo  
Elisandra Minotto  
Enilson Luiz S. de Sá  
Fátima M. Bento,  
Helton F. dos Santos  
Ismael P. Sauter  
José Carlos Germani  
Patricia Quadros  
Rosane Rech  
Sueli T. Van der Sand  
Thais F. Teixeira  
Tiane M. de Moura

### **Comissão resumos**

Gabriela Albiero  
João Luiz Rosa da Silva  
Sabrina Anderson Beker



## **Informações gerais**

### **Local do evento:**

Salão de Atos II  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Av. Paulo Gama, 110 - Campus Central UFRGS.  
Fone: (51) 3308.3058



## Prefácio

O Simpósio Brasileiro de Microbiologia Aplicada chega a sua sétima edição. O evento vem sendo realizado desde 2007, organizado pelos alunos do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

A edição de 2014 abrange pesquisas que vêm sendo desenvolvidas em âmbito nacional e latino americano, com o objetivo de compartilhar o conhecimento produzido nos diferentes campos da Microbiologia, através da divulgação de trabalhos científicos, discussão de temas das diversas áreas com um olhar crítico e científico, aumentando os horizontes e despertando novos interesses nos profissionais em formação ou já formados.

O evento contempla ainda o III Encontro Latino Americano de Microbiologia Aplicada, o IX Encontro Nacional dos Estudantes de Pós-Graduação de Microbiologia Agrícola e o XI Fórum dos Coordenadores dos Programas de Pós Graduação em Microbiologia da Área de Ciências Agrárias.



## **Comissão organizadora**

Sueli Teresinha Van Der Sand (Coordenadora)

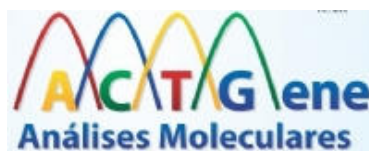
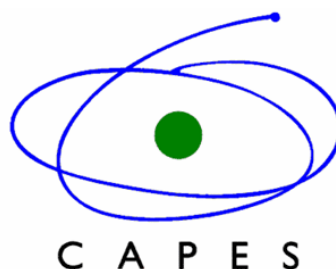
Ana Paula Winter Pastore  
Andrea Formoso de Souza  
Aline Oliboni de Azambuja  
Aícha Daniela Ribas e Ribas  
Ana Maria Antonello  
Carla de Magalhães Karusky  
Daniele Vargas de Oliveira  
Francielle Bucker  
Gabriela Albiero  
Géssica Aracéli Costa  
Janira Prichula  
João Luiz Rosa da Silva  
Juliana Penteadó Coelho  
Laura Führich Fabres  
Letícia Muner Otton  
Marcela Proença Borba  
Rebeca Inhoque Pereira  
Sabrina Anderson Beker  
Thiago Nunes Pereira  
Vanessa Zimmer da Silva  
Vinicius José Maschio



## Realização



## Apoio





JIA, I.; MATSUI, H.; HONMA, N. 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase induced by ACC synthesized and accumulated in *Penicillium citrinum* intracellular spaces. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry** **64**: 299-305, 2000.

MAPELLI, F.; MARASCO, R.; BALLOI, A.; ROLLI, E.; CAPPITELLI, F.; DAFFONCHIO, D.; BORIN, S. Mineral-microbe interactions: Biotechnological potential of bioweathering. **Journal of Biotechnology**, **157**: 473-481, 2012.

OHSWSKI, B.; KLIRONOMOS, J.; DUNFIELD, K.; HART, M. The potential of soil amendments for restoring severely disturbed grasslands. **Applied Soil Ecology**, **60**:77-83. 2012.

---

## Shaiana Paula Mattiello<sup>1</sup>, Samara Paula Mattiello<sup>2</sup>, Renata Medina da Silva<sup>3</sup>, Sílvia Dias de Oliveira<sup>3</sup>. AVALIAÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA DE ISOLADOS DE *Candida parapsilosis* NA CONDIÇÃO DE BIOFILME MONO- E POLIMICROBIANO FRENTE AO TRATAMENTO COM CETOCONAZOL

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular PUCRS, Rio Grande do Sul-RS, Brasil, Bolsista CAPES/FAPERGS. E-mail: shaiana\_m@hotmail.com

<sup>2</sup>Mestre em Biologia Celular e Molecular, PUCRS, Rio Grande do Sul-RS, Brasil.

<sup>3</sup>Professora Adjunta – PUCRS, Rio Grande do Sul-RS, Brasil.

### Introdução

Infecções nosocomiais mostram-se como fonte de inúmeros problemas no ambiente hospitalar, contribuindo para o aumento da morbidade e da mortalidade de pacientes internados. Dessa forma, a levedura *Candida parapsilosis* tem atraído a atenção de profissionais da saúde, pois relatos demonstram que a candidemia causada por esta levedura é associada com a presença de dispositivos de longa permanência, além da capacidade de crescer em biofilmes, que é um importante determinante de virulência [1]. O desenvolvimento de biofilmes pode levar a falhas na terapia médica, diminuindo a sensibilidade a terapias antifúngicas e, podem servir como reserva de uma grande variedade de microrganismos, como bactérias, nos biofilmes polimicrobianos. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi investigar os níveis de sobrevivência de isolados ambientais de *C. parapsilosis* frente ao tratamento com o antifúngico cetoconazol na condição de biofilmes mono- e polimicrobianos, neste caso com a bactéria *Acinetobacter* spp.

### Material e Métodos

Neste estudo foram utilizados oito isolados de *C. parapsilosis* oriundos do ambiente hospitalar, sendo dois deles (CP14 e CP26) caracterizados previamente como produtores fortes de biofilme, dois (CP5 e CP21) como produtores moderados, e quatro (CP7, CP10, CP16 e CP22) como produtores fracos, além das cepas padrão *C. parapsilosis* ATCC 22019 e *C. albicans* ATCC 18804 e um isolado ambiental de *Acinetobacter* spp. A suscetibilidade dos isolados fúngicos frente ao cetoconazol foi avaliada através da determinação da concentração inibitória mínima (MIC), seguindo diretrizes determinadas pelo CLSI [2], a partir de concentrações crescentes de cetoconazol (0,0313 a 16 µg/mL).

Para a formação dos biofilmes monomicrobianos, as leveduras foram cultivadas por 20 h em caldo YPD, e em seguida foi realizado um ajuste da concentração celular em 10<sup>6</sup> UFC/mL utilizando o meio RPMI-1640. Em seguida, 150 µL de cada suspensão foram adicionados aos 96 poços de uma placa de poliestireno, que foi incubada por 48 h a 37 °C. Para a formação dos biofilmes polimicrobianos, as leveduras foram cultivadas nas mesmas condições descritas, e a bactéria foi cultivada por 16 h em caldo BHI, e em seguida foi realizado um ajuste celular em 10<sup>6</sup>-10<sup>8</sup> UFC/mL com o meio RPMI. Posteriormente, foi adicionado aos poços 75 µL de cada suspensão celular (uma fúngica e outra bacteriana), e a placa foi incubada por 48 h a 37 °C. Após formados os biofilmes, estes foram lavados com PBS para remoção das células não aderentes, e foram submetidos ao tratamento com 200 µL de cetoconazol (0,0313 a 16 µg/mL). Em seguida, a placa foi incubada por 24 h. Após esse período, foram realizadas lavagens com PBS para remoção do antifúngico e as células do biofilme foram submetidas a um banho de ultrassom por 10 min, seguido de ressuspensão mecânica através de pipetagens para a desagregação do biofilme [3]. Posteriormente, as suspensões celulares foram submetidas a diluições seriadas decimais e semeadas em agar Sabouraud Dextrose com cloranfenicol (0,05 mg/mL) para o crescimento das leveduras e avaliação da taxa de sobrevivência celular através da determinação de UFC/mL. Todos os experimentos foram conduzidos em triplicata.

### Resultados e Discussão

Os isolados de *C. parapsilosis* foram sensíveis ao cetoconazol, apresentando valores de MIC entre 0,0313 e 1 µg/mL, ou seja, abaixo do ponto de corte (16 µg/mL) previsto pelo CLSI para considerar um isolado resistente a este fármaco.



Em relação ao efeito do cetoconazol sobre os isolados de *C. parapsilosis* na condição de biofilme, foi possível observar que em biofilme monomicrobiano as células das leveduras dos dez isolados apresentaram níveis de sobrevivência ao tratamento com o antifúngico, em todas as doses testadas (0,0313-16µg/mL), que não foram significativamente diferentes dos controles sem tratamento. Os isolados que foram classificados como produtores médios e fortes de biofilmes mantiveram uma taxa de sobrevivência celular na ordem de  $10^7$  UFC/mL, enquanto os isolados produtores fracos, em  $10^6$  UFC/mL, nos controles e nos tratamentos. Estes dados indicaram, portanto, uma tolerância aumentada dos isolados frente ao cetoconazol, em comparação com as concentrações deste antifúngico necessárias para inibir o crescimento de células planctônicas.

O mesmo aumento de tolerância foi observado em condição de biofilme polimicrobiano, pela interação das leveduras com a bactéria *Acinetobacter* spp. Nestes biofilmes, a contagem celular das leveduras se manteve levemente superior em relação aos biofilmes monomicrobianos, tanto nos controles como sob tratamento com o antifúngico, em todos os isolados testados, mantendo taxas de sobrevivência celular similares às dos ensaios de biofilmes monomicrobianos. Estes dados sugerem que a presença desta bactéria parece favorecer a adesão de um maior número de células de *C. parapsilosis* na formação do biofilme, em comparação aos biofilmes monomicrobianos, mantendo a tolerância ao cetoconazol observada para esta levedura nesta condição. Dessa forma, os dados obtidos até o momento indicaram que a condição de biofilme em *C. parapsilosis*, seja de um isolado que tenha a capacidade de formação desta estrutura caracterizada como forte (CP14 e CP26), moderada (CP5, CP21 e ATCC 22019), ou fraca (CP7, CP10, CP16, CP22 e ATCC 18804), induz uma elevada taxa de sobrevivência ao cetoconazol nesta espécie de levedura, que se mantém na condição de biofilme polimicrobiano com *Acinetobacter* spp. Além disso, ainda não foi reportada a resistência ao cetoconazol em *C. parapsilosis* promovida pela condição de biofilme.

### Conclusões

Os isolados ambientais de *C. parapsilosis* utilizados neste trabalho mostraram-se como potenciais agentes causadores de infecções devido a sua capacidade em crescer na forma de biofilme monomicrobiano e em associação com *Acinetobacter* spp., dificultando o tratamento de eventuais infecções por eles causadas. Além disso, os biofilmes tratados com cetoconazol apresentaram elevada taxa de sobrevivência celular, indicando que o seu desenvolvimento pode promover tolerância de isolados de *C. parapsilosis* frente a este antifúngico.

### Agradecimentos

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

### Literatura citada

1. Miranda LDN, Rodrigues EC, Costa SF, van der Heijden IM, Dantas KC. *Candida parapsilosis* candidaemia in a neonatal unit over 7 years: a case series study. *BMJ*. 2012;2(4):1-7.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts – third edition: Approved standard M27-A3. Wayne, PA: CLSI; 2008.
3. Harriott MM, Noverr MC. *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* form polymicrobial biofilms: effects on antimicrobial resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2009;53(9):3914-22.

---

## Susana de Oliveira Elias<sup>1</sup>, Anderson de Souza Sant'Ana<sup>2</sup>, Eduardo César Tondo<sup>3</sup>. MODELING GROWTH OF *Salmonella* ENTERITIDIS SE86 ON HOMEMADE MAYONNAISE.

<sup>1</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente UFRGS, Rio Grande do Sul-RS, Brasil, Bolsista do CNPq/CAPES. E-mail: susanaelias@gmail.com

<sup>2</sup>Prof. Adj A. – Unicamp, São Paulo-SP, Brasil, Bolsista do CNPq/CAPES.

<sup>3</sup>Prof. Adj A. – UFRGS, Rio Grande do Sul-RS, Brasil, Bolsista do CNPq/CAPES.

### Introduction

Salmonellosis is the foodborne illness with the major incidence worldwide. In Rio Grande do Sul (RS), homemade mayonnaise (HM) was identified as the food vehicle mostly involved in salmonellosis. In RS, from 1999 to 2006, *Salmonella* Enteritidis isolated from several foodborne outbreaks demonstrated a clonal relationship after being analyzed by PCR-ribotyping, RAPD, PFGE and DNA sequencing analysis. This strain was responsible for more than 95% of salmonellosis occurred in RS and was named *S. Enteritidis* SE86 (SE86).

Eggs and egg products are among the most important food vehicles of *S. Enteritidis*, because the outer shell egg surfaces or the internal egg contents can be contaminated. Mayonnaise, often prepared with raw eggs, is widely consumed and probably the most used sauce around the world. It is a food preparation frequently involved in foodborne outbreaks worldwide.