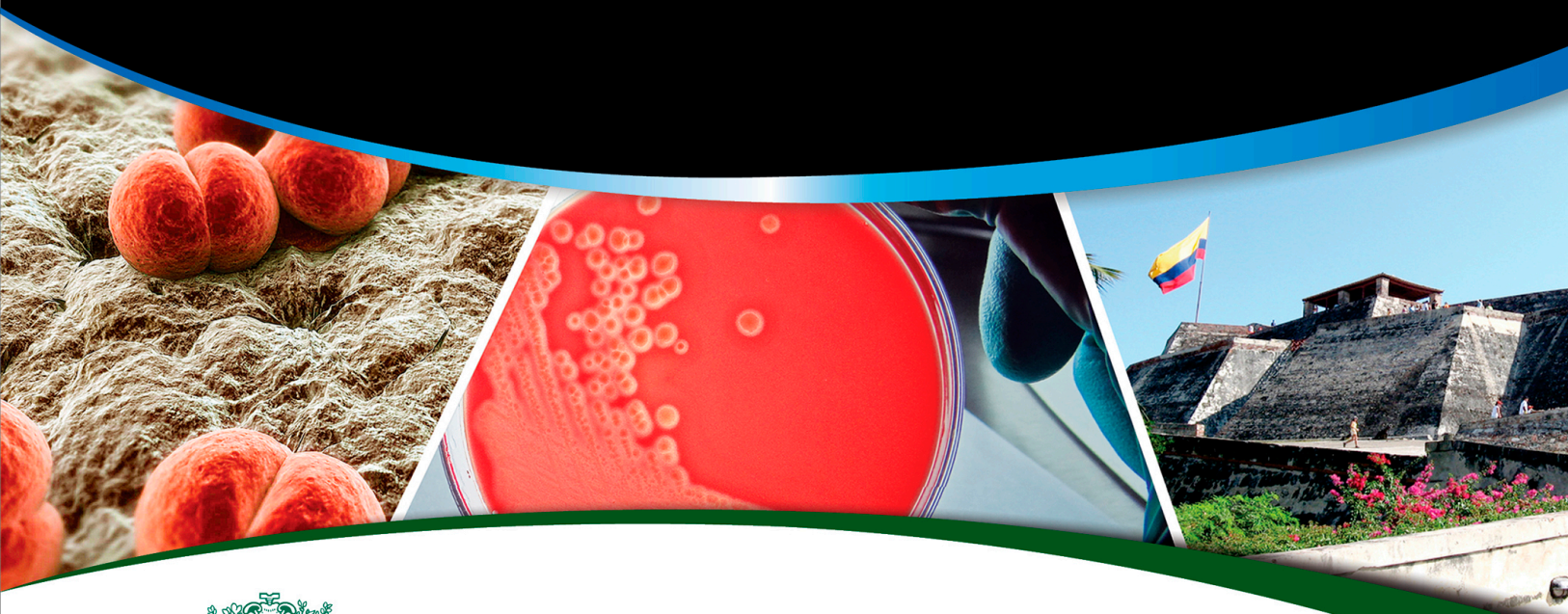


Volumen 5, Número 2, Suplemento 2, Noviembre, 2014

# Hechos Microbiológicos

## Memorias

XXII Congreso Latinoamericano de Microbiología - ALAM 2014  
4 Congreso Colombiano de Microbiología - 4 CCM 2014  
Clínica - Bioanálisis - Industrial - Ambiental  
5 al 8 de Noviembre - Centro de Convenciones Las Américas - Cartagena, Colombia



**UNIVERSIDAD  
DE ANTIOQUIA**  
1803



**ACM**  
Asociación Colombiana  
de Microbiología



ASOCIACIÓN LATINOAMERICANA  
DE MICROBIOLOGÍA

# Revista **HECHOS** **Microbiológicos**

## Suplemento

XXII Congreso Latinoamericano de Microbiología - ALAM 2014  
4 Congreso Colombiano de Microbiología - 4 CCM 2014  
Clínica - Bioanálisis - Industrial - Ambiental

Publicación Científica Oficial  
Escuela de Microbiología - Universidad de Antioquia  
Volumen 5 - Número 2 - Suplemento 2 - Noviembre - 2014  
<http://www.udea.edu.co/hm>





#### **RECTOR**

Alberto Uribe Correa

#### **VICERRECTOR GENERAL**

John Jairo Arboleda Céspedes

#### **VICERRECTOR DE DOCENCIA**

Juan Carlos Amaya Castrillón

#### **VICERRECTOR ADMINISTRATIVO**

Rubén Alberto Agudelo García

#### **VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN**

Fanor Mondragón Pérez

#### **VICERRECTORA DE EXTENSIÓN**

María Elena Vivas López

#### **SECRETARIO GENERAL**

Luquegi Gil Neira



#### **DIRECTORA**

Liliana Marcela Ochoa Galeano

#### **SUBDIRECTORA**

Rocío Pérez Escobar

#### **JEFE DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN**

Ángel González Marín

#### **JEFE DEL DEPARTAMENTO DE FORMACIÓN ACADÉMICA**

Lida Arias Marín

#### **COORDINADOR DE EXTENSIÓN**

Ricardo Velasco Vélez

#### **COORDINADORA DEL SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD**

María Esperanza Arenas Hernández

#### **COORDINADOR DEL LABORATORIO DOCENTE ASISTENCIAL E INVESTIGATIVO**

Julio César Fernández Chica

#### **COORDINADOR DEL LABORATORIO CLÍNICO SEDE CLÍNICA LEÓN XIII**

Óscar Omar Gaviria Cortés

#### **COORDINADORA DEL BANCO DE SANGRE SEDE CLÍNICA LEÓN XIII**

María Elena Toro Montoya

#### **COORDINADOR DE POSGRADOS**

Juan Álvaro López Quintero

#### **COORDINADORA DE BIENESTAR UNIVERSITARIO**

Adriana Arango Carvajal

#### **COORDINADOR DE RELACIONES INTERNACIONALES**

Gustavo Adolfo Gámez de Armas

#### **COORDINADORA DE PRÁCTICAS DE MICROBIOLOGÍA Y BIOANÁLISIS**

Victoria Eugenia González Cárdenas

#### **COORDINADORA DE PRÁCTICAS DE MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL Y AMBIENTAL**

Olga María Arrieta Ramírez

#### **COORDINADORA DE LA OFICINA ADMINISTRATIVA, FINANCIERA Y DE APOYO LOGÍSTICO**

Eliana María Ocampo Lopera

#### **PROFESORA ENLACE DEL PROGRAMA DE EGRESADOS**

Paola Andrea Acevedo Toro

#### **COMUNICADOR SOCIAL Y PERIODISTA**

Diego León Morales Flórez

## Revista **HECHOS** **Microbiológicos**

### **DIRECTOR**

Ángel González Marín, BSc., MSc., PhD.

### **ASESOR EDITORIAL**

Juan Carlos Gómez Hoyos, MD., Esp.

### **ASISTENTE EDITORIAL Y DISEÑADORA GRÁFICA**

Diana Cecilia Molina Molina

### **COMITÉ EDITORIAL**

Liliana Marcela Ochoa Galeano, BSc, MSc.

Luz Elena Cano Restrepo, BSc., MSc., PhD.

Beatriz Lucía Gómez, BSc., PhD.

Jhon Carlos Castaño Osorio, MD., MSc., PhD.

Luis Miguel Gómez Osorio, MV., MSc.

Beatriz Helena Aristizábal Bernal, MSc., PhD.

Judy Natalia Jiménez Quiceno, MSc., PhD.

Leonardo Alberto Rios Osorio, PhD.

Orville Hernández Ruiz, PhD.

Zulma Vanessa Rueda, MD, PhD.

### **COMITÉ CIENTÍFICO**

Agostinho Joao Romalho de Almeida, PhD. (Portugal)

Leonardo Martín Pérez, MSc., PhD. (Argentina)

Jordi Morató Farreras, PhD. (España)

Gabriel Antonio Trueba, MV., MSc., PhD. (Ecuador)

Fidel Ángel Nuñez Fernández, Esp., PhD. (Cuba)

Luis Raymond Sarmiento Pérez, MSc., PhD. (Cuba)

### **ASESORA CIENTÍFICA**

Ángela Restrepo Moreno, PhD.

### **COMUNICADOR SOCIAL**

Diego León Morales Flórez



### PRESIDENTES DEL CONGRESO

Howard Junca  
Liliana Marcela Ochoa Galeano

### COMITÉ ORGANIZADOR

Liliana Marcela Ochoa Galeano  
Howard Junca  
Lida Arias Marín  
Ricardo Velasco Vélez  
Ángel González Marín

### COMITÉ CIENTÍFICO

Alba Trespalacios  
Alejandro Acosta  
Alexandre José Macedo  
Álvaro León Rua  
Ana Luz Galván  
Ana María Ocampo  
Andrés Augusto Arias  
Andrés Felipe Villa  
Ángel González Marín  
Astrid Helena Bedoya  
Beatriz Helena Aristizabal  
Beatriz Lucía Gómez  
Camilo Ramírez Cuartas  
Carlos Eduardo Mejía  
Carlos Muskus  
Clara Lina Salazar  
Claudia Ximena Moreno  
Diego Riaño Pachón  
Eliana Restrepo  
Erika Rodríguez  
Esperanza Arenas  
Francia Helena Valencia  
Helena del Corral Londoño  
Howard Junca

### COMITÉ CIENTÍFICO

Ivan Darío Vélez  
Jacqueline Barona  
Janeth Sanabria  
Joahana Vanegas Múnera  
Juan Ayala  
Juan Carlos Zapata  
Judy Natalia Jiménez  
Lida Arias Marín  
Lina María Agudelo  
Lina María López de Avila  
Lucelly López  
Madalyd Yurani Vera Peña  
Maria Isabel Villa  
Maria Mercedes Zambrano  
Maria Solange Sánchez  
Marleny Valencia  
Mauricio Corredor  
Olga Arrieta Ramírez  
Orville Hernández  
Oscar Gómez Duarte  
Paola Andrea Acevedo Toro  
Patricia del Portillo  
Patricio Retamal  
Piedad Agudelo  
Ricardo Guerrero  
Ricardo Velasco  
Robinson Ramírez Pineda  
Rocío Pérez Escobar  
Ruben Varela  
Teresa Realpe  
Verónica Gómez Tangarife  
Wilmer Alcaraz Zapata  
Yamilet Arcos Arango  
Ziv Arbeli  
Zulma Rueda



©2014 por la Universidad de Antioquia. Reservados todos los derechos. Los conceptos y las opiniones expresadas en cada artículo son responsabilidad exclusiva del autor. Ni la Universidad de Antioquia, ni el equipo editorial, se hacen responsables del uso de la información aquí publicada, ni de los resultados que se obtenga con ella.

La revista Hechos Microbiológicos es la publicación científica oficial de la Escuela de Microbiología de la Universidad de Antioquia. Se publica en formato digital e impreso con periodicidad semestral. Su misión es difundir los conocimientos científicos relacionados con la práctica y los procesos en Microbiología y Bioanálisis, y de otras disciplinas afines con las áreas de la salud, la industria, el ambiente y la educación en Microbiología. Busca mantener una vía de intercambio de conocimientos y experiencias con disciplinas que tengan su centro de acción en la investigación básica y aplicada.

#### **PÚBLICO OBJETIVO**

Esta publicación está dirigida a todos los profesionales de la salud con interés en la Microbiología, el bioanálisis y sus aplicaciones básicas, clínicas, ambientales e industriales. Adicionalmente, sirve a los estudiantes y profesionales de la salud cuya formación involucre, directa o indirectamente, conceptos de la Microbiología.

#### **OBTENCIÓN Y REPRODUCCIÓN DE LOS ARTÍCULOS PUBLICADOS EN HECHOS MICROBIOLÓGICOS**

Los artículos pueden obtenerse mediante la suscripción a la versión impresa o de manera gratuita, con previo registro, a través de la versión digital en: <http://www.udea.edu.co/hm/>

#### **REVISTA HECHOS MICROBIOLÓGICOS**

Publicación semestral

Escuela de Microbiología

Universidad de Antioquia

Volumen 5 - Número 2 - Suplemento 2 - Noviembre - 2014

#### **ISSN**

2145-8898

#### **NOMBRE ABREVIADO**

Hechos Microbiol.

#### **IMPRESIÓN Y TERMINACIÓN**

Legis S.A.

#### **CANJES**

Universidad de Antioquia, Biblioteca Central

Calle 67 #53-108, Bloque 8, Teléfono +57(4) 2195992

Selección y adquisición, canje y donación

Contacto: Nubia Valencia Álvarez

[nubia.valencia@udea.edu.co](mailto:nubia.valencia@udea.edu.co)

[canjeydonacionbiblioteca@udea.edu.co](mailto:canjeydonacionbiblioteca@udea.edu.co)

#### **CORRESPONDENCIA**

Universidad de Antioquia, Escuela de Microbiología

Calle 70 #52-72, Piso 6, Oficina 606, Teléfono: 2198490

Centro de Investigación y Extensión

[revistahechosmicrobiologicos@udea.edu.co](mailto:revistahechosmicrobiologicos@udea.edu.co)

<http://www.udea.edu.co/hm>

Medellín, Colombia

# CONTENIDO

---

## **EDITORIAL / EDITORIAL**

Colombia, punto de encuentro de la Microbiología mundial en 2014: un sueño que se cumple, progreso humano

que se comparte y hermandades que se fortalecen

**1**

*Howard Junca*

## **RESÚMENES / ABSTRACTS**

**3**

*Comité Organizador*

## **CONFERENCIAS MAGISTRALES / CENTRAL CONFERENCES**

**3**

*Comité Organizador*

## **SIMPOSIOS / SYMPOSIA**

**4**

*Comité Organizador*

## **PRESENTACIONES ORALES / ORAL PRESENTATIONS**

**28**

*Comité Organizador*

## **PRESENTACIONES EN PÓSTER / POSTER PRESENTATIONS**

**53**

*Comité Organizador*

## Colombia, punto de encuentro de la Microbiología mundial en 2014: Un sueño que se cumple, progreso humano que se comparte y hermandades que se fortalecen

Howard Junca. PhD.\*

\*Presidente 2012-2014 Asociación Latinoamericana de Microbiología ALAM.

Cada generación suele afirmar que está pasando por un momento excepcional. Lo es sin duda para cada tiempo. Es parte de esa emoción que da la novedad de presenciar los grandes descubrimientos y sucesos contemporáneos. Yo lo afirmo ahora para nuestra realidad. Decirlo es también un balance retrospectivo ¿Que podríamos reconocer acerca de la microbiología? Siempre será difícil valorar y comparar las tendencias, conocimientos y posibilidades de investigación actuales con los extraordinarios avances de la microbiología hechos por los investigadores del pasado, con las ideas y herramientas de su época.

A través de la microbiología hemos logrado colectivamente algunos de los mayores y más revolucionarios logros en conocimientos y desarrollos para la salud humana, animal, vegetal y ecosistémica. Muchos conocimientos ya generados aguardan ser aplicados; que solo exista la voluntad para ello en las comunidades que así lo deciden. Mucho más son aquellas incertidumbres de cuanto está por conocerse.

Con la microbiología logramos entender y plantear cada vez más y cada vez mejor las preguntas fundamentales de nuestra curiosidad sobre los seres vivientes y sus interacciones con su medio. En definitiva, sobre nosotros mismos.

La microbiología sigue ayudándonos a responder de dónde venimos y como funcionamos. Quizás hacia donde nos dirigimos como especie o como ecosistemas, ¡Cuánta diversidad y fascinación nos seguirá produciendo y ofreciendo la vida en nuestro planeta! Para todos nosotros que hemos elegido el estudio de los microorganismos, su naturaleza y sus vínculos, precisamente como una opción de vida, podemos constatar como los avances actuales técnicos y conceptuales actuales son verdaderamente extraordinarios.

Somos partícipes de una aceleración portentosa, necesitamos muchos espacios en los cuales podamos compartir y conocer esos descubrimientos que cada vez se producen en mayor escala, a más velocidad y en todo el planeta.

Al conformar y acordar como organización local el realizar conjuntamente el XXII Congreso Latinoamericano de Microbiología 2014 y el IV Congreso Colombiano de Microbiología entre la Asociación Colombiana de Microbiología y Escuela de Microbiología de la Universidad de Antioquia, queremos enviar un mensaje que expresa y promueve un sentido colectivo de nuestra disciplina a nivel nacional, y como dichos eventos han venido haciendo, buscando primordialmente el favorecimiento del encuentro de personas y la convergencia de sus intereses, que impactan a regiones, a países y al mundo.

Creo que en éste caso lo logramos más allá de nuestras expectativas: con la participación de todas las asociaciones que conforman ALAM (Brasil, Uruguay, Chile, México, Ar-

gentina, Paraguay, Perú, Cuba, Ecuador, Venezuela, Estados Unidos, España, Portugal, Colombia); afianzando los lazos de colaboración con las más importantes entidades supranacionales de microbiología; con la asistencia de sus más altos representantes y presidentes tales como la Federación Europea de Sociedades Microbiológicas FEMS (FEMS), la Unión Internacional de Sociedades Microbiológicas (IUMS) y varias redes e instituciones internacionales en temáticas o intereses de microbiología, como la participación de la Federación Mundial de Colecciones de Cultivos Tipo (WFCC). Un evento donde se presentan más de mil trabajos científicos originados en diversos países de Latinoamérica; con un programa de más de cien conferencias ofrecidas por expertos reconocidos a nivel internacional en sus temáticas de exposición, provenientes de las principales instituciones y centros de generación de nuevo conocimiento mundial y con sesiones paralelas alrededor de las temáticas generales y centrales de la diversidad en el estudio del mundo microbiano.

Este evento es un reconocimiento y un homenaje a todos los investigadores en microbiología, muchos ya no están, pero nos dejaron su mayor tesoro, su legado sobre el cual avanzamos. Y sus antiguos aprendices son ahora sus herederos ya entrenados.

Este evento es también nuestra contribución agradecida hacia las labores de todas las personas comprometidas que actualmente siguen avanzando la microbiología. Y es una apuesta a nuestro futuro; con todo el entusiasmo y las esperanzas puestas en que también sentimos estar contribuyendo a las nuevas generaciones de científicos; para que sigan empujando la frontera del conocimiento hacia lo desconocido, hacia nuevos horizontes que nos permitan tener los adelantos para lograr una supervivencia con salud, conservando los elementos que nos permitan seguir el progreso en el estudio de los microorganismos, sus funciones e interacciones y como aportar desde allí para lograr una mayor armonía y balance con los demás seres vivientes y con nuestro ambiente.

Agradezco de corazón a todos los participantes en éste encuentro. A todas las filiales ALAM. Saludo con gran aprecio a los investigadores, miembros fundadores y miembros de ACM por su confianza, apoyo y optimismo. Al Comité Organizador de la querida Escuela de Microbiología de la Universidad de Antioquia. Deseo que sea una experiencia muy grata para todos. Al finalizar, estoy seguro nos habrá dejado alimentados con un impulso imborrable de conocimiento que conservaremos de maneras y perspectivas muy variadas y enriquecedoras. Como es la naturaleza misma. En mi caso, se reduce a una frase muy sencilla: un sueño que se hizo realidad.



**CM01. De micras a parsecs y la visión panóptica de la naturaleza. La cuarta edad de oro de la microbiología**

Ricardo Guerrero\*

\*Universidad de Barcelona, Presidente de la Sociedad Española de Microbiología. Barcelona, España.

La microbiología, en sus inicios, era una tecnología que intentaba dominar el principal azote de la especie humana: las enfermedades infecciosas. Sin embargo, la microbiología es desde hace décadas una ciencia que estudia la fisiología, ecogenética y taxonomía del inmenso mundo microbiano, pero que también sirve para comprender el origen y la evolución de la vida a partir de su componente esencial, la célula procariota. Hoy, sabemos que los microbios llevan a cabo funciones esenciales en el mantenimiento de la vida sobre la Tierra. La especie humana, como los demás “macrobios”, depende de las actividades del invisible mundo microbiano. Tradicionalmente, los biólogos han visto como principal fuente de variación las mutaciones en genes individuales que conducen a la adaptación por selección natural. Hoy en día se puede considerar que la evolución del holobionte (hospedador y su microbiota) debe considerarse como una unidad integrada en la que actúa la selección natural. El microbioma (conjunto de información genética de la microbiota de un hospedador eucariota) es esencial para los procesos de evolución (filogenia) y desarrollo individual (ontogenia) de los organismos eucariotas. Las técnicas moleculares actuales, las -ómicas (la más conocida es la metagenómica), han permitido investigar la diversidad y actividad microbiana. La extrema variedad metabólica y ecológica del mundo microbiano representa un recurso amplio e inexplorado de biodiversidad de enorme valor para el futuro. El minúsculo tamaño de sus miembros no nos deja ver su papel esencial en la biosfera. La Primera Edad de Oro de la Microbiología fue la de los grandes descubrimientos sobre la etiología de las enfermedades infecciosas, de finales del siglo XIX y principios del XX. La Segunda, las décadas de los cuarenta a sesenta del siglo XX, con el descubrimiento de los antibióticos y el desarrollo de la biología molecular. La Tercera, la de la genómica, entre la década de los noventa y primera década del siglo actual. Gracias a los grandes descubrimientos sobre la omnipresencia de los microorganismos en todos los hábitats, y los análisis de su enorme e inesperada diversidad, podemos decir que estamos entrando en la Cuarta Edad de Oro, donde no se puede entender el mundo en que vivimos, nuestro cuerpo y toda la evolución biológica, sino a través del conocimiento que nos aportan los microorganismos.

**CM02. Molecular Epidemiology of the *Cryptococcus neoformans/C. gattii* points to a Latin American Connection**

Wieland Meyer\* and the members of the ISHAM working group on Genotyping *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*†

\*Molecular Mycology Research Laboratory, Centre for Infectious Diseases and Microbiology, Westmead Millennium Institute, Sydney Medical School-Westmead Hospital, Marie Bashir Institute for Infectious Diseases and Biosecurity, University of Sydney, Westmead, NSW, Australia, email: wieland.meyer@sydney.edu.au †[http://isham.org/WorkingGroups/Genotyping\\_neoformans\\_gattii/](http://isham.org/WorkingGroups/Genotyping_neoformans_gattii/)

The sibling species *Cryptococcus neoformans* and *C. gattii* are the cause of cryptococcosis, a life-threatening invasive infection that compromises the respiratory and/or central nervous systems. When caused by *C. neoformans*, cryptococcosis appears as an opportunistic infection mainly affecting HIV-positive patients, whereas cryptococcosis caused by *C. gattii* occurs more frequently in immunocompetent hosts. Seven haploid monophyletic lineages/major molecular types have been identified based on PCR fingerprinting, AFLP, MLMT and MLST (ISHAM consensus scheme: CAP59, GPD1, IGS1, LAC1, PLB1, SOD1 & URA5): *C. neoformans* (VNI [VNB], VNII and VNIV) and *C. gattii* (VGI, VGII, VGIII, VGIV) and a number of hybrids, indicating a continuing speciation process. The

genetic diversity found between the haploid monophyletic lineages indicates that they all warrant species status. These suggested “species” can be identified by a number of alternative techniques including e.g. URA5-RFLP analysis, Hyperbranched Rolling Circle PCR and MALDI-TOF. Although the majority of the cases of cryptococcosis worldwide are caused by *C. neoformans* molecular type VNI, *C. gattii* has emerged as a primary pathogen in recent years, by expanding its geographic distribution and environmental niche, and causing fatal infections in humans, domestic and wild animals.

To enable a global standardized epidemiological approach MLST databases were established for *C. neoformans* and *C. gattii* (accessible at <http://mlst.mycologylab.org/>) as the result of an international collaboration. The *C. neoformans* database contains 1143 strains with 40 allele types (ATs) for CAP59, 31 for GPD1, 67 for IGS1, 28 for LAC1, 27 for PLB1, 43 for SOD1 and 43 for URA5 amounting to 324 sequence types. The *C. gattii* database contains sequence data for 1029 strains with 78 ATs for CAP59, 51 for GPD1, 95 for IGS1, 55 for LAC1, 42 for PLB1, 108 for SOD1 and 45 for URA5 amounting to 333 sequence types. High genetic variation and the presence of recombination indicate South Africa and South America as origins for *C. neoformans* and *C. gattii*, respectively.

Population genetic analysis identified Brazil as the origin of outbreak strains due to certain VGII genotypes on Vancouver Island, Australia and other parts of the world. Whole population comparative genomics analysis highlight multiple dispersal events to North America and elsewhere, likely originating from South America, especially from Brazil and verified that Australia and other parts of the world are stepping stones in the global spread.

The identification of novel genes among and between the US Pacific Northwest populations provides evidence of genomic evolution that allowed for the recent expansion of its habitat.

**CM03. The Role of the Fungal Reference Laboratory in Public Health**

Mary E. Brandt\*

\*Chief, Mycotic Diseases Branch Centers for Disease Control and Prevention

The reference laboratory plays a central and pivotal role in maintaining public health. In outbreak investigations, the reference laboratory is required to provide definitive identification of the involved organism(s) as well as provide a resource for rapid detection methods to identify outbreak case-patients. When a particular environmental source is suspected of causing an outbreak, the reference laboratory may also be asked to compare patient and environmental isolates using molecular subtyping methods. Molecular methods might also be needed to recover the suspected organism or its DNA from environmental samples. In surveillance, where accurate disease prevalence estimates are required, the reference laboratory assists by providing species identification of causative agents. Reference laboratories also play a key role in developing and validating novel antifungal drug susceptibility testing methods, as well as performing drug susceptibility testing, especially for fungi where interpretive breakpoints have not been established. Many reference laboratories conduct robust programs to train practitioners in both classic and newly-developed methods for recognizing, detecting, and identifying fungal agents of disease. Some reference laboratories also conduct proficiency testing, or maintain isolate and serum banks where materials with unusual or interesting properties can be stored for future examination. The reference laboratory also is involved in applied research, centered on developing novel methods, assessing and validating new instruments and protocols, and applying updated taxonomic and phylogenetic analysis to epidemiologic investigations.

### 51. Aligning chemical ecology and drug discovery

Jon Clardy\*

\*Department of Biological Chemistry and Molecular Pharmacology  
Harvard Medical School. Boston, MA 02115.

My research focuses on how bacteria sense and respond to the world around them with small molecules, and we have used bacterial symbionts of insects – especially fungus growing ants – as an especially productive source. The bacteria in the ant system are highly specialized to depend on the ants for nutrition and to provide the ants with chemical defenses against specialized fungal pathogens and other microbial threats. It is possible that these same chemical defenses can be used by humans to provide therapeutic agents for fungal infections, cancer, and protozoal parasites.

### 52. The chemical ecology of bacterial development

Roberto Kolter\*

\*Microbiology. Harvard Medical School. Boston, MA 02115.

The molecular processes that become manifest as bacterial development are both fascinating and beginning to be well understood. The vast majority of this understanding has been derived from molecular genetic studies. Such studies have focused on analyzing development in the context of pure cultures of model bacteria, e.g. *Bacillus subtilis*, *Myxococcus xanthus* and *Streptomyces coelicolor*. But these processes have evolved in the context of multi-species communities. Yet, our understanding of how development of one species is affected by the presence of other species is rudimentary at best. Clearly, small molecules released by neighboring species can have dramatic effects on the overall physiology of bacteria, including their development. These released small molecules thus mediate the chemical ecology of bacterial development. We are applying the latest technological advances of mass spectrometry, including nano-scale desorption/ionization mass spectrometry and imaging mass spectrometry, to open new windows in order view the chemical interactions taking place between different species of soil bacteria. Our findings indicate that interspecies interactions trigger massive system-wide changes in the secreted metabolome of bacteria and that this secreted metabolome does indeed affect development. Our results illustrate that the chemical interactome of the terrestrial bacteriosphere is surprisingly vast and dynamic.

### 53. Aromatic polyketides mediate interactions between endophytic fungi isolated from *Smallanthus sonchifolius* (Yácon)

Mônica Tallarico P.\*

\*School of Pharmaceutical Sciences of Ribeirão Preto, USP.

Secondary metabolites produced by endophytic microorganisms can provide benefits to host plants, such as stimulating growth and enhancing the plant's resistance toward biotic and abiotic factors. During its life, a host plant may be inhabited by many species of endophytes within a restrictive environment. This condition can stimulate secondary metabolite production that improves microbial competition and may consequently affect both the neighboring microorganisms and the host plant. The interactions between the endophytes that co-habit the same host plant have been studied. However the current knowledge about natural products-mediated interactions among endophytes is still incomplete. In addition, the effect of these interactions on the host plant has remained neglected.

In this presentation I will show that in co-cultures experiments the endophytic fungus *Alternaria tenuissima* significantly increased the production of some polyketides, including antifungal stemphyrylenol, in response to the endophytic *Nigrospora sphaerica*. Biological activity assays revealed that stemphyrylenol can cause cytotoxic effects against *N. sphaerica*, although no phytotoxicity was observed in the host plant *Smallanthus sonchifolius*, even at concentrations much higher than those toxic to the fungus. The polyketides produced by *A. tenuissima* may be important for the ecological relationships between endophyte-endophyte and endophytes-host plants in the natural environment.

### 54. Fast Bacterial Identification by Laser Induced Breakdown Spectroscopy and Neural Networks

S. Manzoor\*, S. Moncayo\*, F. Navarro-Villoslada\*, J.A. Ayala†, R. Izquierdo-Hornillos\*, F.J. Manuel de Villena\*, J.O. Caceres\*

\*Facultad de Ciencias Químicas. Univ. Complutense, Madrid, Spain. †Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa", CSIC. C/Nicolás Cabrera.

A rapid bacterial identification is of high importance in medical diagnosis because of the tremendous losses brought by them in health and economic aspects. Reports show that bacteria are responsible for 95% of Hospital Acquired Infections (HAI). The more common and relevant bacteria among them are *Escherichia coli* (18.2%), *Staphylococcus* (18.1%), *Pseudomonas* (6.0%), *Enterococcus* (15.4%), *Klebsiella* (3.7%), *Acinetobacter* (0.8%), and *Salmonella* (2.8%). The economic and health aspects related to HAI have raised them to top-priority issue and a subject of various studies. Therefore, to avoid and deal with all these unwanted situations a method that is fast enough to identify bacteria in the clinical samples is highly needed. A method for rapid bacterial identification and discrimination of bacterial strains of same species exhibiting resistance to antibiotics using Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) and Neural Networks (NN) algorithm is reported. The methodology has been applied to identify strains of the bacterial samples. The study included strains of more relevant bacteria causing Hospital Acquired Infections (HAI), i.e., *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella pullorum*, *Salmonella salamae* and *Staphylococcus*. The strains analyzed included both isolated from clinical samples and constructed in laboratory that differ in mutations as a result of their resistance to one or more antibiotics. LIBS/NN methodology was evaluated for its capacity to discriminate different bacterial strains by detecting changes in their elemental composition occurring as result of genetic variations between them. Small changes in the atomic composition of the bacterial strains, as a result of their mutations and genetic variations, were detected by the LIBS-NN methodology and led to their identification and classification. This is of utmost importance because solely identification of bacterial species is not sufficient for disease diagnosis and identification of the actual strain is also required. NN models presented a rapid identification using the characteristic LIBS spectra of the bacterial samples. The bacterial samples were also measured for two different days to evaluate the time-dependent classification capacity of the methodology. The optimized NN models provided reliable bacterial strain identification with an index of spectral correlation higher than 95% for the samples analyzed, showing the potential and effectiveness of the method to address the safety and social-cost HAI-related issue.

### 55. Ecosistemas mínimos: análisis metagenómico de los tapetes microbianos de la Camarga

Mercedes Berlanga\*

\*Facultad de Farmacia de la Univ. de Barcelona, España.

Los tapetes microbianos son un excelente modelo de estudio de las interacciones entre comunidades y del funcionamiento de las relaciones ecológicas básicas. Además, nos permiten conocer los mecanismos ecológicos que se dieron en los primeros ecosistemas de la Tierra y, por tanto, en la evolución de los primeros organismos del planeta. Los restos litificados los tapetes microbianos, conocidos como estromatolitos, son muy antiguos. De hecho, los estromatolitos más antiguos conocidos datan de hace más de 3500 millones de años. Aunque pueden alcanzar un alto grado de complejidad en la actualidad, en el Eón arqueano habrían sido sistemas sencillos, lo que encajaría con el concepto de ecosistema mínimo. Los tapetes microbianos son biopelículas complejas y multi-laminares que constituyen ecosistemas bénticos autosostenibles que comprenden los principales ciclos de los elementos, niveles tróficos y cadenas alimentarias. Los tapetes microbianos presentan gradientes físico-químicos fluctuantes como resultado de las condiciones ambientales cambiantes y de las actividades metabólicas de los microorganismos. La variabilidad en la composición de la comunidad de los tapetes, tanto en términos espaciales como temporales, aún es poco conocida. Se ha utilizado el análisis metagenómico 454-pirosecuenciación para caracterizar la comunidad de los tapetes microbianos de la Camargue, Francia. Se analizó la variabilidad de las comunidades bacterianas durante tres años. Los grupos dominantes en estos tepetes fueron Proteobacteria,

Bacteroidetes, espiroquetas, Firmicutes, Actinobacteria, cianobacterias y *Chloroflexi*. Otros filos observado eran *Planctomycete*, *Deinococcus-Thermus*, SR1, OD1, Acidobacteria que representa cada uno  $\leq 1\%$  de la población total detectado. Los datos de metagenómica obtenidos confirman la importancia y predominio numérico de Proteobacteria como en otras esteras analizaron como Guerrero Negro. Entre las proteobacterias especialmente el Alfa y Gamma Deltaproteobacteria eran abundantes y en el nivel inferior Betaproteobacteria. Proteobacteria son importantes en el ciclo de azufre, especialmente las bacterias púrpuras del azufre pertenecientes a grupo Gamma y bacterias reductoras de sulfato pertenecientes al Delta. Las cianobacterias en estos tapetes esta representados en baja proporción, sin embargo pare son capaces de "mantener" un alto número de heterótrofos metabólicamente versátiles. Los resultados obtenidos mostraron que la microbiota de los tapetes de la Camargue no se ven afectados de manera significativa por los cambios estacionales. Parece que existe una correlación positiva entre biodiversidad y estabilidad del ecosistema, aunque en este caso la biodiversidad no se refiere tanto al individuo o "especie" determinados sino a la función (gremio) que realizan dentro del sistema, es decir que la estabilidad dependería de la "redundancia funcional", que asegura la presencia de un reservorio de especies que serían capaces de realizar la "misma" función ecológica. De esta manera el sistema permanecería estable frente a una perturbación aunque sus miembros (poblaciones) fueran distintos.

### S6. Marine hydrocarbonoclastic bacteria and their function in bioremediation of marine oil spills

H. J. Heipieper\*

\*Department of Environmental Biotechnology, Helmholtz Centre for Environmental Research-UFZ, Germany. Contacto: hermann.heipieper@ufz.de

Marine oil contaminations received public awareness due to the ongoing discussions of the environmental catastrophe of the Deepwater Horizon oil spill in 2010 where about 700,000 tons of crude oil were released into the Gulf of Mexico. Here and in other marine environments polluted by crude oil, marine hydrocarbonoclastic bacteria were detected as key players in bioremediation. These bacteria can only metabolize a few organic acids (acetate, pyruvate), and feed on a variety of aliphatic hydrocarbons instead. Several of these extraordinary marine bacteria such as *Cycloclasticus* sp., *Marinobacter* sp., *Thalassolituus* sp., *Nephtonomonas* sp., *Oleiphilus* sp., *Oleispira* sp. and *Alcanivorax* sp. have been discovered in the sea all over the world always occurring in very small abundance. In case of an oil spill, however, they show a kind of bloom and can represent up to 80%-90% of the bacterial community. Amongst the marine hydrocarbonoclastic bacteria, *Alcanivorax borkumensis* and *Oleispira antarctica* are the best investigated species. The functional genomics of both bacteria were characterised. In addition, detailed physiological studies regarding the adaptive strategies to their aliphatic substrates as well as to environmental stress conditions were carried out. These investigations revealed the enormous adaptive potential of marine hydrocarbonoclastic bacteria regarding catabolic genes, cell surface modifications, incorporation of fatty acid intermediates into membranes and regulation of several stress response genes. Acknowledgements. This work was partially supported by a collaborative project (BACSIN, Contract No. 211684) of the European Commission within its Seventh Framework Programme.

### S7. Estudio de la diversidad microbiana asociada a ambientes perturbados y evaluación de su bioprospección

Mariandrea García\*†, Viviana López R.\*†, Marco Antonio Márquez†, Claudia Ximena Moreno H.\*‡

\*Lab. de Biología Celular y Molecular. Grupo de Microbiodiversidad y Bioprospección (Microbiop). †Grupo de Mineralogía Aplicada y Bioprocesos (GMAB). Univ. Nal. de Colombia, Sede Medellín, Colombia. ‡Facultad de Ciencias. Univ. Nal. de Colombia, Sede Medellín, Colombia. Contacto: cxmoreno@unal.edu.co

El estudio de la ecología microbiana en áreas mineras, ha sido de gran interés para el grupo de investigación, ya que por medio de ella se puede llegar a dilucidar el papel fundamental de los microorganismos en estos ambientes con un interés dirigido a encontrar soluciones a problemas ambientales complejos o desarrollos biotecnológicos. Nuestro trabajo se ha centrado en el estudio de la diversidad y su posible bioprospección de bacterias asociadas a minas de beneficio de oro, usando herramientas de microbiología convencional y molecular.

El grupo está trabajando en dos proyectos, el primero relacionado con la biomineralización, proceso metabólico presente en la mayoría de los seres vivos, en el que se toman elementos para formar minerales. Específicamente, con bacterias asociadas a la precipitación o biomineralización de carbonatos de calcio, las cuales se han reportado como útiles en la recuperación de monumentos de caliza y mármol, reparación de concretos, estabilización de suelos, síntesis de carbonato de calcio micro y nanométrico, captura de CO<sub>2</sub> y remoción de metales pesados, entre otros. En Colombia, los estudios han estado encaminados en conocer la capacidad de las bacterias calcificantes para mejorar las propiedades físicas del suelo. De acuerdo a ello, uno de los proyectos se centra en reconocer la diversidad bacteriana presente en efluentes y espeleotemas calcáreos asociadas a las minas de beneficio de oro, así como también definir las características mineralógicas de los cristales de carbonato de calcio producidos. Adicionalmente, al ser la industria del oro una de las más importantes del país, en la cual se utilizan sustancias químicas como el cianuro, para disolver o lixiviar el mineral que lo acompaña, desarrollamos un proyecto para estudiar la diversidad bacteriana presente en los efluentes residuales de procesos de cianuración en las plantas de beneficio de oro y la evaluación de su potencial frente a la degradación de cianuro.

### S8. Characterization of Bacterial Diversity of a Wastewater Treatment Plant in Colombia

L.M. Silva B.\*, M.S. Sánchez P.†, G.E. Cadavid R.\*, C.X. Moreno H.\*

\*Univ. Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.

†Compañía Nacional de Chocolates SAS.

The operation of wastewater treatment technologies depends on a combination of physical, chemical and biological factors. Microorganisms present in wastewater treatment plants play essential roles in the degradation and removal of organic waste and xenobiotic pollutants. In Colombia, community studies have been focused on populations of cultivable nitrifying, heterotrophic and nitrogen fixing bacteria present in constructed wetlands. However, little information is known regarding microbial communities that inhabit these ecosystems. In this study a culture-dependent and molecular analysis approach was used to estimate lipase positive bacterial diversity and to monitor bacterial community changes in two sections from a wastewater treatment plant. Phylogenetic affiliation of predominant members was assessed by the determination of the 16S rDNA sequence. Affiliations to bacteria from the genera *Leclercia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* and *Escherichia* were found. Our results indicate that there is a wide diversity of aerobic lipase positive bacteria inhabiting the different sections of the WWTP, which possibly reflect the ecological condition, functioning and efficiency of the different wastewater treatment systems implemented in the WWTP in Colombia.

### S9. El rompecabezas del diagnóstico en dengue

Jaime E. Castellanos\*, Carolina Coronel-Ruiz\*, Myriam L. Velandia-Romero\*

\*Grupo de Virología, Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia.

La infección por el virus de dengue (DENV) es la enfermedad viral transmitida por insectos más importante del mundo, con un gran número de casos graves y más de 30.000 fallecidos cada año en el mundo, unas cifras que siguen creciendo en todos los países tropicales y generando grandes gastos a los sistemas de salud. En Colombia más de 600 municipios están en zonas de circulación del mosquito vector y se ha detectado la circulación de los cuatro serotipos del virus, haciendo previsible que la incidencia y prevalencia sigan aumentando. Aunque en los últimos años se han hecho grandes avances y desarrollos para entender la enfermedad, existen vacíos científicos y técnicos que dificultan el correcto diagnóstico de la enfermedad y que debilitan tanto la vigilancia en salud pública como la correcta atención en las instituciones prestadoras de salud. Para los profesionales del laboratorio, es necesario revisar los principios e interpretaciones de las herramientas disponibles para el diagnóstico de dengue, haciendo énfasis en las dificultades existentes para la correcta definición de los casos desde el laboratorio general y especializado. De igual manera, se exponen los fundamentos y limitaciones de las técnicas de Elisa de captura de anticuerpos IgM, serología para IgG, detección del antígeno viral NS1, aislamiento viral en cultivos celulares y las pruebas más recientes basadas en la inmunocromatografía (pruebas rápidas). La presentación se propone aportar a la discusión sobre las dificultades para el diagnóstico en dengue

y ofrecer una idea actualizada sobre cómo abordar el diagnóstico tanto en los laboratorios de salud pública como en los laboratorios especializados y contribuir así a mejorar los estándares de atención de los pacientes, reducir el impacto de la enfermedad y favorecer su control.

### S10. Los virus: más que patógenos

Juan Carlos Zapata J.\*

\*Institute of Human Virology, University of Maryland School of Medicine, Baltimore, Maryland, United States of America.

Desde su descubrimiento los virus siempre han estado asociados a enfermedad. Como parásitos intracelulares obligados han sido llamados "piratas" de la célula. Sin embargo, recientemente se han descubierto otras formas diferentes (a la parasítica) de interacción huésped-virus, entre las que tenemos comensalismo, mutualismo y simbiosis. Estas interacciones pueden conceder ventajas evolutivas al holosimbionte; además, su estudio ha derivado en el desarrollo de métodos para combatir enfermedades (ej. vacunas, viroterapia).

Adicionalmente, los virus pueden llegar a convertirse en parte de la herencia genética de la célula en la que se replica, e incluso llegar a confundirse (fusionarse) con su genoma. Se cree que el 45% del genoma humano esta compuesto por secuencias derivadas de virus cuya función apenas comenzamos a descubrir. En esta presentación analizaremos algunas de las interacciones virus-huésped y su impacto en la supervivencia de ambos.

### S11. Los virus como marcadores de contaminación del agua

María Fernanda Gutiérrez\*

\*Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.

Agua potable, no es agua segura. Qué le hace falta al proceso de potabilización para que el agua de consumo sea segura? Datos epidemiológicos muestran que entre el 17% y el 25% de la población mundial no cuenta con agua segura y en países en desarrollo, el 88% de las muertes por diarrea son por consumo de aguas contaminadas.

Históricamente, los enterococos y coliformes fecales han sido los indicadores de calidad del agua, sin embargo, estos no muestran la presencia viral, lo que llevó a implementar técnicas que detecten colifagos somáticos, bacteriófagos F-RNA+ y fagos de *Bacteroides fragilis*, como indicadores fecales, que no siempre se correlacionan con la presencia de virus entéricos, ni determinan el origen de la contaminación.

Buscar virus entéricos en agua "potable" es un reto. Primero por requerir herramientas que concentren el virus que se encuentra diluido en enormes volúmenes de agua, segundo por las técnicas de detección que deben ser muy sensibles para detectar el virus y tercero por seleccionar qué virus buscar puesto que allí pueden estar muchos de los virus entéricos pero en distintas épocas del año y en diversas cantidades. Aceptando que estas metodologías son complejas, costosas y no del todo suficientes, el reto para detectarlos es usar técnicas distintas a las conocidas y trabajadas en laboratorios de virología y pasar a trabajar herramientas de la física como lo es la nanotecnología.

En esta charla se presentarán las técnicas virológicas de última generación usadas para concentrar virus en el agua acompañadas de los resultados de trabajos realizados desde la Universidad Javeriana en los últimos 10 años, se propondrán otros tipos de virus como indicadores y mencionarán pruebas poco convencionales su detección.

### S12. Pensamiento social en salud: de los factores de riesgo a la determinación social

John Harold Estrada M.\*, Jay Allan Gil C.\*

\*Universidad Nacional de Colombia. Grupo de investigación "Salud Colectiva". †Contacto: jhestradam@unal.edu.co

En años recientes, en particular después de la publicación por la O.M.S del informe de la "Comisión sobre los determinantes de la salud", han aumentado las publicaciones en epidemiología social y al indagar por los aspectos epistemológicos desde donde son realizadas, en la gran mayoría no aparecen explícitamente, produciéndose una sensación de confusión teórica o percepción de eclecticismo en los lectores menos familiarizados o estudiantes en formación. El objetivo fue determinar los enfoques teóricos en epidemiología social en la literatura publicada en salud en la última década.

Un estudio hermenéutico que partió de una búsqueda de fuentes secundarias en las bases MEDLINE, SCIEDIRECT y SCIELO. Se obtuvieron artículos en texto completo, se consolidó información de cada artículo en archivo de Excel y en reunión de consenso de los investigadores se consiguó la postura teórica subyacente a cada uno de ellos.

El enfoque más utilizado en la literatura revisada fue el de los determinantes sociales de la salud, seguido por la teoría psicosocial, la teoría de la producción social de la enfermedad/teoría política de la enfermedad, la teoría eco-social y perspectivas dinámicas relacionadas multi-nivel. Los artículos realizados desde el enfoque de los determinantes provienen mayoritariamente de Brasil y Reino Unido. Las categorías más estudiadas son: nivel educativo, ingresos, raza/etnia, género, clase social, ocupación, redes sociales y estatus económico.

En conclusión la literatura publicada sobre "epidemiología social y salud" se sustenta en cuatro enfoques teóricos: Teoría psicosocial, Producción social de la enfermedad/economía política de la enfermedad, Teoría eco-social y perspectivas dinámicas multi-nivel, Enfoque de los determinantes sociales de la salud de la OMS. En síntesis, los determinantes estructurales (educación/ingresos/raza/género/clase/posición social) han demostrado en estudios empíricos ser contundentes para comprender el proceso de estratificación social, la distribución desigual de recursos y poder; por ende la generación del gradiente social, desigualdades e inequidades en salud.

### S13. Clase social y cultura de género, aspectos claves en el análisis del cáncer cervicouterino

Marleny Valencia A.\*

\*Grupo de Investigación Salud Sexual y Cáncer. Escuela de Microbiología de la Univ. de Antioquia. Medellín, Colombia.

Su objetivo es analizar la influencia de la clase social y la cultura de género en las vivencias de las mujeres y el afrontamiento de las neoplasias de alto grado y carcinoma cervicouterino en Medellín. Estudio de corte cualitativo con enfoque de clase social y cultura de género. Se realizaron entrevistas a profundidad a 19 mujeres de los regímenes contributivo y subsidiado y cuatro de sus compañeros. La clase social se operacionalizó mediante las condiciones socioeconómicas de la familia, régimen de salud, uso del tiempo libre, entre otros. Cultura de género: autonomía para decidir sobre su propio cuerpo dependencia o independencia económica, afectiva, roles dentro y fuera del hogar. Para el análisis de la información se realizó hermenéutica. Los textos fueron sistematizados a través del programa Atlas ti, se codificó la información y se realizó un análisis descriptivo e interpretativo.

La mayoría de las mujeres y compañeros se agruparon en la clase proletariado formal e informal, de acuerdo a la inserción en la estructura laboral y la tenencia de medios de producción. Aquellas mujeres que poseen mayor capital cultural, mayores ingresos y redes de apoyo relacionadas con personal de salud, tienen mejores condiciones para afrontar la enfermedad, contrario a las mujeres con menor nivel educativo y con mayor dependencia económica de su compañero. Aquellas mujeres con histerectomía como tratamiento por Cacú, refirieron el temor a no satisfacer a su compañero; mostrando mayor preocupación por su relación de pareja que por su enfermedad.

En conclusión La clase social y el género se solapan continuamente en la vivencia de esta enfermedad. En la división sexual del trabajo las mujeres de la clase social baja son las que sufren con mayor rigor las inequidades propias de ésta, aunque asumen las labores domésticas, el cuidado de los hijos y aportan económicamente en los hogares, no cuentan con autonomía sobre su propio cuerpo, ni aún sobre el uso del condón como medida preventiva para adquirir una ITS. Este trabajo es una presentación derivada de la tesis doctoral en Salud Pública: otra del cáncer cervicouterino: un análisis desde la clase social y la cultura de género.

### S14. ¿Determinantes sociales o determinación social de la salud?: Dos paradigmas en conflicto

Silvia Tamez G.\*

\*Universidad Autónoma de México.

En varios de nuestros países estamos presenciando el saqueo sin precedentes de nuestros recursos favoreciendo la acumulación por despojo, la entrega de nuestro gas y petróleo, la permisividad ante el fracking y se tolera y promueve complacientemente la destrucción de nuestro hábitat como ocurrió por ejemplo con la contaminación del río Sonora por

la Empresa Minera México, la cual sigue operando tras el pago de una mínima sanción económica. La proliferación de actividades económicas sumamente agresivas para la salud está también a la orden del día.

De acuerdo con Granda, nos encontramos ante riesgos sociales, políticos, ecológicos, económicos que “tienden cada vez más a escapar del monitoreo y protección de las instituciones” creadas para ello; y que éstas mismas instituciones “se constituyen en las productoras y legitimadoras de los peligros que no pueden controlar”. La tendencia excluyente y el desmantelamiento de nuestros sistemas públicos hacen parte de esta situación, lo que configura condiciones de vida y de salud muy desventajosas para la población. Hoy más que nunca la situación sanitaria de los países de la región Latinoamericana demanda la participación de trabajadores de la salud con un concepto amplio e integral sobre los procesos de enfermar y morir de las poblaciones, que dé cuenta de los complejos problemas que ha desatado el neoliberalismo a escala global y regional.

A través de esta ponencia se revisan los diferentes modelos de explicación de la salud-enfermedad, desde el biologicista pasando por el ecológico y posteriormente se discuten las afinidades y diferencias entre los modelos de determinantes sociales de la OMS y el de la determinación social propios de la medicina social y la salud colectiva.

### S15. Patotipos diarregánicos emergentes de *Escherichia coli* en Colombia

Ana E. Farfán-García\*, Monica Y. Arias-Guerrero\*,  
Chengxian Zhang†, Junaid Iqbal†, N. Tatiana Sánchez\*,  
Rikhil Niharika Malviya†, Oscar G. Gómez-Duarte‡

\*Programa de Bacteriología y Lab. Clínico, Grupo de Investigación en Manejo Clínico, CLINIUNDES, Facultad de Ciencias de la Salud, Univ. de Santander, UDES, Bucaramanga, Colombia. †Department of Pediatrics, Division of Pediatric Infectious Diseases, Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, TN, USA.

*E. coli* patógenas son causas frecuentes de enfermedad diarrea aguda (EDA) en niños menores de 5 años en países en vía de desarrollo. Siendo *E. coli* enterotoxigénica (ECET), enteropatogénica (ECEP) y enteroagregativa (ECEA) las cepas predominantes. Evidencia clínica y epidemiológica indica que cepas emergentes de *E. coli* con genotipos diferentes a las cepas clásicas se asocian a EDA moderada o severa, sin embargo, estudios sobre estas cepas son limitados y su frecuencia se desconoce en Colombia. El objetivo de este trabajo fue identificar cepas de *E. coli* emergentes en niños menores de 5 años con diarrea en Colombia.

Para evaluar el papel de *E. coli* emergentes en EDA se diseñó estudio un de casos con diarrea y controles sanos en niños menores de 5 años en Bucaramanga, Colombia. El estudio fue aprobado por los comités de ética de cada institución participante. Hece fecales de casos y controles se evaluaron para la detección de patotipos de *E. coli* y otros agentes diarregánicos, incluyendo virus, parásitos y bacterias.

Patotipos diarregánicos de *E. coli* fueron identificados en 58,6% (17/50) de casos y en 41,4% (12/49) de controles. Todos los patotipos de *E. coli* con excepción de la *E. coli* productora de toxina Shiga fueron detectados. Las diferencias entre los patotipos de *E. coli* de casos y controles no fue estadísticamente significativa. Se identificaron cepas de *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) con adherencia agregativa y formación de biopelículas similares a *E. coli* enteroagregativa (ECEA). Adicionalmente, Rotavirus, *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Cryptosporidium parvum*, *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia* se detectaron en 30% de casos y en 6,1% de controles ( $p < 0,01$ ).

En conclusión los patotipos diarregánicos de *E. coli* son frecuentes en niños con diarrea y sin diarrea. Se reportan ECEI emergentes con fenotipos de adherencia celular y formación de biopelículas similares a la ECEA.

### S16. Origen de las *Escherichia coli* uropatógenas y su epidemiología molecular

Teresa Estrada-García\*, Fernando Rodríguez-Pastrana†,  
Catalina Lopez-Saucedo\*, Alejandra Jimenez\*,  
Freddy Campos‡, Mussaret B. Zaidi‡§

\*Depto. de Biomedicina Molecular, CINVESTAV-IPN, México D.F. †Hospital Médico Tulancingo, Hidalgo, México. ‡Unidad de Inv. en Enf. Infecciosas, Hospital Regional de Alta Especialidad de la Península de Yucatán, México. §Lab. de Inv. en Microbiología, Hospital General O'Horan, Yucatán, México.

Las *Escherichia coli* uropatógenas (UPECs) son el principal agente causal de las infecciones de vías urinarias (IVUs) en el mundo, siendo las

mujeres adultas las más afectadas. El objetivo fue determinar el origen intestinal y la vía de infección de las UPECs.

Caracterizar las cepas *E. coli*, por su perfil de droga resistencia a 11 antibióticos por métodos tradicionales, determinar la prevalencia de 10 genes de virulencia de UPEC por dos PCR's multiplex y su clonalidad por campos pulsados ( $\geq 85\%$  de similitud genética).

Participaron por invitación (consentimiento informado) 58 mujeres adultas con historia de IVUs recurrentes ( $\geq 3$  episodios en un año), 8 presentaron IVUs de cuya orina se aisló *E. coli*. De las pacientes se obtuvieron un total de 30 aislados: 8 de orina (O), 14 de heces (H) y 8 de vagina (V). Se analizaron por campos pulsados 28 cepas (2 tuvieron actividad de endonucleasa). En cuatro pacientes se observó entre sus aislados una relación clonal del 96%: en el paciente 13 y 30 entre sus cepas de O-V-H, en el 6 entre las O-H y en el 7 entre las O-V. Las cepas de cada paciente mostraron un perfil de antibióticos y un patrón genético idéntico. Una relación  $>96\%$  se observó entre 8 cepas aisladas de cuatro pacientes (6-U-V, 7-U-V, 10-H, 13-U-V-H) cuyos perfiles genéticos fueron idénticos y resistentes a Ampicilina y Tetraciclina, menos las cepas 6-U-V que solo fueron resistente a Tetraciclina. Las cepas de los pacientes 10-O y 7-H, mostraron una relación del 92% ambas fueron sensibles a todos los antibióticos y tuvieron un patrón genético similar.

En conclusión las UPECs se originan de las heces, por arrastre llegan primero a la vagina y después pasan a las vías urinarias y hay clones de UPEC circulando en esta región.

### S17. An update on the microbiology and epidemiology of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) strains in Brazil 1998 and 2008

Isabel C. A. Scaletsky\*

\*Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina, São Paulo, Brazil.

Historically, classic enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) were a well-known cause of infantile diarrhea associated with morbidity and mortality in Brazil. The aim of this study was to provide an update on the prevalence of EPEC in children of socio-economic level that attended outpatient clinics and hospitals in different regions of Brazil, in different periods of time.

EPEC strains were identified by DNA hybridization using probes for EAF and the *eae* gene, serotyped, and tested for putative virulence genes and adhesion to biotic and abiotic surfaces.

EPEC strains were detected in 115 (10.1%) of 1,142 children with diarrhea and 62 (6.3%) of 975 children without diarrhea ( $P < 0.01$ ). Between 1998 and 1999, 11.3% [38/337] of samples from cases were typical EPEC positive compared to 2.1% [7/331] of the samples from controls ( $P < 0.01$ ), and 5.7% [19/337] of cases were atypical EPEC positive compared to 4.5% [15/331] of controls. In contrast, between 2002 and 2008, very few typical EPEC were detected in cases (0.1%) [7/805] or controls (0.1%) [1/644], and 6.3% [51/805] of cases were atypical EPEC positive compared to 6.0% [39/644] of controls. Few (9%) atypical EPEC strains had additional virulence factors correlated with enterohemorrhagic *E. coli*. Sixty-five (56.5%) atypical EPEC strains belonged to classical EPEC serogroups (32 strains were of serogroups O55 and O119); most of them showed a localized-like adherence pattern and were able to form biofilm on an abiotic surface, and presented the EAST1 gene. Classic atypical EPEC strains were more frequently found in children with diarrhea than in controls ( $P < 0.01$ ).

Our data indicate that classic EPEC strains are still an important cause of infantile diarrhea in Brazil.

### S18. Estudio de la capacidad funcional de las secuencias promotoras de la toxina Shiga en células eucariotas *in vitro* e *in vivo*

Leticia V. Bentancor\*, Marcos F. Bilen\*, María P. Mejías†,  
Manuel Del Cogliano\*, Pablo D. Ghiringhelli\*, Marina S. Palermo†

\*LIGBCM-Univ. Nacional de Quilmes, Bernal, Bs. As, Argentina. †Instituto de Medicina Experimental-CONICET-Academia Nacional de Medicina, CABA, Bs. As, Argentina.

La toxina Shiga (Stx) es el principal agente responsable en el desarrollo del Síndrome Urémico Hemolítico (SUH). Stx2 está formada por una subunidad A y cinco subunidades B. Mediante estudios *in silico* de las regiones promotoras de ambas subunidades, se encontraron dos fragmentos con

alta homología a secuencias promotoras de genes eucariotas (pr1 y pr7). Con el objetivo de evaluar la funcionalidad de estas secuencias en un contexto eucariota se realizaron ensayos *in vitro* e *in vivo*.

Se generaron construcciones plasmídicas en las cuales se clonó la secuencia codificante para GFP bajo el control de pr1 y pr7. Observamos expresión de GFP en células eucariotas transfectadas con ambas construcciones, mientras que los controles transfectados con Dpr-GFP no mostraron fluorescencia. Células con distinta susceptibilidad a Stx2 fueron transfectadas con el plásmido pGEMT conteniendo la secuencia codificante para Stx2 (pStx2). Al transfectar células Vero observamos efecto citotóxico similar al observado en células incubadas con Stx2 purificada. El efecto observado se neutralizó con anticuerpos anti-Stx2. Ratones Balb/c inoculados con el plásmido pStx2 por inoculación hidrodinámica desarrollaron las alteraciones patológicas típicas del SUH (daño renal y cerebral).

En conclusión las células eucariotas son capaces de expresar Stx2 funcionalmente activa. Este resultado sugiere que las propias células del huésped podrían ser fuentes alternativas de producción de Stx2. Estos hallazgos aportan una nueva mirada en los mecanismos patogénicos durante las infecciones por STEC con implicancias directas sobre el desarrollo de tratamientos preventivos frente al SUH.

### S19. ¿Cómo interpretar el aislamiento de las *E. coli* diarrogénicas en muestras de niños con diarrea o infección asintomática?

Theresa J. Ochoa<sup>\*†</sup>, Carmen Contreras<sup>\*‡</sup>, Erik Mercado<sup>\*</sup>, David Durand<sup>\*</sup>, Maribel Riveros<sup>\*</sup>, Francesca Barletta<sup>\*</sup>, Grace Velapatiño<sup>\*</sup>, Daniella de la Puente<sup>\*</sup>, Fulton P. Rivera<sup>\*</sup>, Susan Mosquito<sup>\*</sup>, Joaquim Ruiz<sup>§</sup>

<sup>\*</sup>Instituto de Medicina Tropical "Alexander von Humboldt", Univ. Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú. <sup>†</sup>Center for Infectious Diseases, University of Texas Health Science Center School of Public Health, Houston, USA. <sup>‡</sup>Depto. de Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Univ. Nacional Autónoma de México. <sup>§</sup>Centro de Investigación en Salud Internacional de Barcelona, España.

Las *E. coli* diarrogénicas (DEC) son causa importante de diarrea en niños; sin embargo pueden también encontrarse en muestras asintomáticas. El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de las DEC en niños Peruanos y determinar los factores asociados a infección sintomática.

Haciendo uso de un PCR multiplex a tiempo real se determinó la presencia de los 6 patotipos de DEC en 4243 muestras de diarrea en niños <5 años y en 3760 muestras de niños asintomáticos (control) de 8 estudios previos realizados en diferentes regiones del Perú. Tomando como prototipo a la *E. coli* enteropatogénica (EPEC) se determinó las características genotípicas y fenotípicas; la carga bacteriana en heces, haciendo uso de un PCR cuantitativo; y se analizaron algunos factores del huésped como la edad.

La prevalencia de las DEC fue similar: EAEC (9,9% vs. 10,4%), EPEC (8,5% vs. 10,9%), ETEC (6,9% vs. 4,7%), DAEC (4,8% vs. 2,3%), STEC (0,8% vs. 0,5%), EIEC (0,6% vs. 0,6%) en muestras de diarrea y control, respectivamente. En las cepas de EPEC se analizaron 17 genes de virulencia, no encontrándose diferencia entre muestras de diarrea y control. Sin embargo, se evaluó la capacidad de formar biofilm a 29°C, encontrando que la intensidad fue mayor en el grupo de diarrea que en el control (0,13 vs. 0,07, p<0,05). Así mismo, la carga bacteriana en heces fue significativamente mayor en las muestras de diarrea que en las de control (299 vs. 29 bact/mg, p<0,01). La prevalencia de EPEC en muestras de diarrea fue significativamente mayor con la edad: 4% (<6 m), 11% (6 a 12 m) y 15% (13 a 20 m), p<0,001.

En conclusión la interpretación del aislamiento de las DEC en muestras de diarrea e infección asintomática es compleja y está determinada por factores de la bacteria, del huésped, y del ambiente.

### S20. EHEC sings: pour some sugar on me

Vanessa Sperandio

Depts. of Microbiology and Biochemistry, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas TX, USA.

Gastrointestinal (GI) bacteria sense diverse environmental signals, including host hormones and nutrients, as cues for differential gene regulation and niche adaptation. Although the impact of carbon nutrition on the co-

lonization of the gut by the microbiota has been extensively studied, the extent to which carbon sources affect the regulation of virulence factors by invading pathogens has not been fully defined.

The enteric pathogen enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) gages sugar sources as an important cue to regulate expression of its virulence genes. Specifically, this sugar dependent regulation fine tunes the expression of the locus of enterocyte effacement (LEE) pathogenicity island, which encodes for a type three secretion system, effectors, and an adhesin necessary for the formation of attaching and effacing (AE) lesions on enterocytes. Glycolytic environments inhibit the expression of the LEE genes. Conversely, growth within a gluconeogenic environment activates expression of these genes. Part of this sugar-dependent regulation is achieved through two transcription factors: KdpE and Cra. Cra and KdpE interact to optimally directly activate expression of the LEE genes in a metabolite dependent fashion. This sugar dependent regulation is key during infection of the mammalian host, given that a *kdpE* mutant is attenuated *in vivo*. Additionally, a novel two component signal transduction system, named FusKR (where FusK is a membrane bound histidine sensor kinase, and FusR a response regulator) that senses fucose, controls expression of the LEE genes. This fucose-sensing system is required for robust EHEC intestinal colonization. During growth in mucus, the glycoprotein prominent member of the GI microbiota, *Bacteroides thetaiotaomicron*, supplies fucose to EHEC, modulating its virulence gene expression.

Our findings suggest that EHEC uses fucose, a host-derived signal made available by the microbiota, to modulate EHEC virulence and metabolism, and suggest a new layer of complexity in the inter kingdom signaling that underlies EHEC pathogenicity.

### S21. From Biomass-to-Bioproduction Application using Discovery-based Omics approaches

Fabio Squina<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup>Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol (CTBE), Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM).

Plant feedstocks are at the leading front of the biomass-to-bioproducts industries. These endeavors have the potential to promote economical, social and environmental development worldwide, through sustainable scenarios related to energy production and petroleum-based materials replacement. Enzymes are the key to unlock stored energy in plant biomass, providing effective means to convert the recalcitrant and insoluble feedstocks into simple sugars and further into products. In the past years, our group has combined metagenomics, proteomics and high-throughput screening approaches to develop a collection of enzymes that degrade or modify glycosidic bonds derived from diverse sources, such as fungi, termites, hyperthermophilic bacteria, soil metagenomes and synthetic (artificial) genes. Along with a comprehensive biochemical and functional characterization, we have assigned enzymes to specific biotechnological applications, as well as correlated function with structure to better understand the molecular features of biomass and enzyme interactions.

### S22. Systemic global analysis of genes encoding phosphatases in *Aspergillus fumigatus* reveals novel virulence determinants

Gustavo Henrique G. <sup>\*</sup>

<sup>\*</sup>Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, and Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol, Campinas, Brazil.

Phosphorylation/dephosphorylation reactions play important roles by regulating protein activity and subcellular localization. Protein phosphatases are key coordinators of diverse biological events. Protein phosphatases are divided into the three main groups: classical serine/threonine phosphatases, protein tyrosine phosphatases, and the aspartate based catalysis protein phosphatase. *Aspergillus fumigatus* is an important primary and opportunistic pathogen as well as a major allergen. Phosphatases can activate different programs for virulence and pathogenicity. We identified 32 *A. fumigatus* genes encoding phosphatases. We were able to construct null mutants for 26 of these genes and five of them encode essential protein phosphatases. Phenotypic analysis of these null mutants showed phosphatases involved in adhesion, iron assimilation, response to oxidative and cell wall stressing agents, and resistance to Hsp90 inhibitors. Some of these phosphatase null mutants showed avi-

ulence or attenuated virulence in a murine model of invasive pulmonary aspergillosis. The calcium-dependent phosphatase calcineurin is essential for *A. fumigatus* pathogenicity. Calcineurin activity is dependent on the transcription factor CrzA that becomes transcriptionally active after dephosphorylation by calcineurin. We used ChIP-seq (Chromatin Immunoprecipitation DNA sequencing) to explore CrzA gene targets in *A. fumigatus*. In total, 165 potential binding peaks including 102 directly regulated genes were identified, resulting in the prediction of the A[GT][CG]CA[AC][AG] CrzA-binding motif. The 102 CrzA putatively regulated genes exhibited a diverse array of functions. The phkB (Afu3g12530) histidine kinase and the sskB (Afu1g10940) MAP kinase kinase of HOG osmotic stress pathway were regulated by CrzA. Several members of the two-component system (TCS) and the HOG pathway were more sensitive to calcium. CrzA::GFP was translocated to the nucleus upon osmotic stress. Moreover, CrzA is important for the phosphorylation of the Saka MAPK in response to osmotic shock. The *ΔsskB* strain was more sensitive to CaCl<sub>2</sub>, NaCl, and paraquat stress, while being avirulent in a murine model of invasive pulmonary aspergillosis. The presence of CaCl<sub>2</sub> and osmotic stresses resulted in synergistic inhibition of *ΔcrzA* and *ΔsskB* growth. These results suggest there is a genetic interaction between the *A. fumigatus* calcineurin-CrzA and HOG pathway, which is essential for full virulence. Supported by: FAPESP and CNPq, Brazil.

### S23. Understanding how fungi sense and respond to the environment: an integrative phenomics, transcriptomics and proteomics approach

Luis F. Larrondo\*

\*Millennium Nucleus for Fungal Integrative and Synthetic Biology and Depto. Genética Molecular y Microbiología, Facultad Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

In order to cope with environmental challenges and stresses, fungi need to sense changes in the environment and mount fast and organized transcriptional responses to adapt to new conditions. Some environmental changes are cyclical (dark cool nights, hot bright days) and therefore can be predicted. Thus, the presence of circadian clocks allows organisms to anticipate these challenges (UV and osmotic stress etc), priming certain responses and mechanisms. In addition, as a direct response to light, acute and fast transcriptional changes occur.

Although responses to light have been deeply characterized in *Neurospora crassa* and a few other fungi, little is known in pathogenic fungi. On the other hand, even in *Neurospora*, not a lot is known regarding the ways circadian regulation impinges on gene expression.

In order to better understand the transcriptional mechanisms involved in environmental responses, we have adopted different strategies:

In the pathogenic fungi *Botrytis cinerea*, through comparative genomics and transcriptomics we are inquiring the direct effect of light on gene expression and pathogenic traits. Our results indicate that light affects gene expression in both canonical and non-canonical manners, modulating also pathogenicity.

In *Neurospora crassa* through a combination of functional genomics, phenomics, protein binding microarrays and high-throughput screens we are inquiring the underlying transcriptional networks that mediate coordinated oscillatory gene expression. Thus, we have identified new transcriptional regulators and cellular components involved in circadian gene expression. In the process, we have unveiled mutants with new unexpected phenotypes impacting *N. crassa* ability to respond to stress and to complex substrates. FONDECYT 1131030, MN-FISB NC120043.

### S24. *Pseudomonas veronii* 2E: una bacteria "multitask"

Diana L. Vullo\*

\*Área Química Ambiental- Univ. Nacional de General Sarmiento-CONICET, ASM Ambassador to Argentina, Miembro de la Comisión Directiva de la Asociación Civil de Microbiología General de Argentina (SAMiGe). Buenos Aires, Argentina. Contacto: [dvullo@ungs.edu.ar](mailto:dvullo@ungs.edu.ar)

Las actividades humanas generan desechos que al ser vertidos al ambiente provocan perturbaciones en los diversos ecosistemas. Afortunadamente la versatilidad de respuestas de las comunidades microbianas hace posible la recuperación de suelos y cuerpos de agua. *Pseudomonas veronii* 2E es una bacteria aislada a partir de sedimentos del río Reconquista, el curso de agua más importante de la zona noroeste del Área

Metropolitana de Buenos Aires, cuya cuenca recibe las descargas de las principales actividades industriales y agropecuarias de la zona. El objetivo de nuestro proyecto es explotar las estrategias adaptativas de *P. veronii* 2E para el desarrollo de sistemas de tratamiento de efluentes industriales. Estas estrategias aplicables a la biotecnología ambiental son: formación de biopelículas; reducción microbiana de Cr(VI); producción de biosurfactantes y producción de microróforos.

Se verificó la capacidad complejante de matrices exopoliméricas con metales tales como Cd(II), con lo cual se confirmó que la relación entre la matriz y la capacidad biosortiva observada en bioreactores de lecho fijo. Por otra parte, reactores construidos con microorganismos inmovilizados demostraron biotransformar el Cr(VI) en efluentes de procesos de cromado, llevando la concentración final de Cr total por debajo de las permitidas para la descarga según normas nacionales e internacionales. Los compuestos excretados como sideróforos forman complejos con Cd(II), Zn(II), Cu(II) y Ni(II), evidenciados por espectrofotometría, mientras que se ha detectado actividad tensioactiva relacionada con dos compuestos solubles diferentes a los ramnolípidos característicos de *Pseudomonas aeruginosa*. Estos surfactantes son útiles como potenciales complejantes de metales y como dispersantes de xenobióticos en suelos y aguas. Adicionalmente se estudió el desarrollo de biopelículas de *P. veronii* 2E sobre superficies conductoras como grafito para el diseño de biosensores o celdas de combustible.

Los resultados nos han demostrado que *P. veronii* 2E es una bacteria "multitask" en términos de sus aplicaciones en biotecnología ambiental.

### S25. Solving the paradox of nitrification in acid soils

James Prosser\*

\*Institute of Biological and Environmental Sciences, University of Aberdeen, Cruickshank Building, UK. [j.prosser@abdn.ac.uk](mailto:j.prosser@abdn.ac.uk)

Ammonia oxidation in soil was, until recently, thought to be dominated by autotrophic, chemolithotrophic proteobacteria. These organisms gain energy from oxidation of ammonia to nitrite and perform the first step in nitrification. All cultivated ammonia oxidising bacteria show no or very poor growth in liquid batch culture below pH 7. Paradoxically, nitrification occurs in acid soils at rates that are often faster than those in apparently more favourable neutral and alkaline soils.

Understanding acidophilic ammonia oxidation is important globally and economically. Approximately 30% of the world's soils are acidic (pH<5), including 50% of arable soils, and up to 70% of ammonia-based nitrogen fertiliser is lost through nitrification and leaching or denitrification of nitrate.

Potential mechanisms for acidophilic ammonia oxidation include urea hydrolysis, protection in biofilms and aggregates and heterotrophic nitrification, but could also be due to acidophilic or acidotolerant ammonia oxidisers. Assessment of selection for such groups in acid soils was impossible using traditional techniques and acidophilic ammonia oxidising bacteria have never been isolated. Molecular techniques enable cultivation-independent analysis of ammonia oxidisers and recently led to the discovery that archaea can also oxidise ammonia.

This talk will describe how a combination of molecular and cultivation-based techniques have identified a novel ammonia oxidiser that provides a solution to the paradox of nitrification in acid soils that applies at local, regional and global scales. It will also consider the degree to which niche specialisation, exemplified in these studies, can explain soil microbial community composition.

### S26. Estudios globales de RNAs no codificantes en la bacteria acidófila *Acidithiobacillus ferrooxidans*

Omar Orellana\*, Pamela Alamos\*, Andrés Castillo\*, Rodrigo Flores\*, Cynthia González\*, Paula Bustamante\*, Mario Tello‡, SchAmir maryahu†, Gloria Levican‡, Michael Daume§, Lennart Randau§

\*Programa de Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad de Medicina, Univ. de Chile. †Depto. de Bioinformática, Fundación Ciencia y Vida. ‡Depto. de Biología, Facultad de Química y Biología, Univ. de Santiago de Chile. §Lab. de RNA pequeños procariontes, Instituto Max Planck para Microbiología Terrestre, Marburg, Alemania.

En la biolixiviación de minerales participa un consorcio de microorganismos que están adaptados a proliferar en condiciones de alta acidez y en presencia de concentraciones elevadas de iones metálicos. Entre estos microorganismos, la bacteria Gram negativa, quimiolitotrófica, autotró-

fica *Acidithiobacillus ferrooxidans* es una de las más estudiadas. Es aerobia facultativa y en presencia de oxígeno puede utilizar tanto  $\text{Fe}^{2+}$  como compuestos de azufre reducido como dadores de electrones. En nuestro laboratorio estamos interesados en determinar las posibles funciones regulatorias de los RNA de transferencia (tRNA) y los RNA pequeños no codificantes (sRNA) en la expresión génica en *A. ferrooxidans*.

Respecto de los tRNA, mediante análisis bioinformático se detectaron 96 genes en el genoma de la cepa ATCC 23270, de los que 37 genes están codificados en un elemento integrativo conjugativo, escindible y posiblemente transferible por conjugación, denominado ICEAfe1. Los tRNA producto de los genes codificados en el ICEAfe1 se aminoacilan *in vivo* en *A. ferrooxidans*, sin embargo se transcriben en niveles muy bajos comparados con los del resto del genoma. Aún está por determinarse la función de los genes de tRNA presentes en el ICEAfe1.

En el estudio de los sRNA nos interesó identificar aquellos que responden al tratamiento de las células con peróxido de hidrógeno. Para este propósito se emplearon dos estrategias: 1, Se predijo bioinformáticamente los posibles promotores y terminadores de la transcripción presentes en las regiones intergénicas (RIG) del genoma de *A. ferrooxidans*. Las predicciones se compararon con los resultados de secuenciación masiva de RNA. Mediante esta estrategia se detectaron 10 posibles sRNA que variaron sus niveles en respuesta a tratamiento con peróxido de hidrógeno. 2, Como segunda estrategia se identificó los sRNA que interactúan con la chaperona de RNA HFQ (proteína facilita el apareamiento de los sRNA con los mRNA blanco). Actualmente estamos trabajando en la identificación de los mRNA blanco de acción de los sRNA identificados por ambas estrategias experimentales.

## S27. Biogeography and microdiversity of *Salinibacter ruber* by means of genomic and metabolomic studies

Ramon Rosselló-Móra\*, Josefa Antón†

\*Marine Microbiology Group, Department of Ecology and Marine Resources, Mediterranean Institute of Advanced Studies (IMEDEA CSIC-UIB), Esporles, Spain. †Department of Physiology, Genetics and Microbiology, University of Alicante, Alicante, Spain. †

The study aims at the understanding of the biogeographical distribution of members of the species *S. ruber*, the first extreme halophilic bacterium known with ecological relevance. Given the occurrence of members of this species in multiple and scattered hypersaline environments in the world, the understanding of the coexistence of different ecotypes or populations in the same location, and their genetic and metabolic relations with distantly located environments may reveal its speciation events.

To understand the genomic and metabolic relations among different isolates of *S. ruber*, the genome sequencing, pulsed field gel electrophoresis with whole genome restriction, MALDI-TOF and high resolution ICR-FT mass spectrometries were applied. The dataset comprised strains isolated in different locations in the world as Balearic Islands and Alicante, in Spain, and Maras in Peru.

Altogether the results indicate that despite *S. ruber* occurs as the most abundant and nearly unique bacterial species in most of the environments studied, the species is represented by a very diverse composite of ecotypes or populations with important genomic and metabolic differences. However, despite of this diversity, in different locations there is a metabolic pattern related to the origin of isolation and that may be a response to the environmental differences in each location.

*S. ruber* is the most successful bacterial species in hypersaline habitats. Given that is the nearly only bacterial species thriving in such environments, the composition of its members in a given environment show a large repertoire of genetic and metabolic traits to respond to the different environmental changes and guarantee their ecological success.

## S28. Determinación de la sensibilidad a los antifúngicos de hongos aislados de procesos fúngicos: Recomendaciones generales

Catalina de Bedout G.\*

\*Unidad de Micología Médica y Experimental, Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB). Medellín, Colombia.

Los hongos tienen la capacidad de volverse resistentes a los antifúngicos, como lo demuestran las especies de *Candida* en presencia de

la 5-fluorocitosina y del ketoconazol, hecho que era considerada infrecuente. Hace poco, el número de infecciones fúngicas invasoras (IFIs) era escaso y se disponían de pocos antifúngicos para combatir estas infecciones. Por tal razón, las pruebas de sensibilidad para hongos no eran consideradas como una prioridad. Este concepto cambió en la década de los 80 cuando se hizo aparente el aumento de IFIs debido a varios procesos patológicos, tales como la pandemia de sida, los trasplantes, la quimioterapia y los tratamientos con agentes inmunosupresores. Aparecieron, entonces, aislamientos resistentes y también nuevos antifúngicos, lo que ha generado la necesidad de disponer de pruebas de sensibilidad *in vitro* para guiar el tratamiento antifúngico y permitir un seguimiento más preciso de los pacientes que sufren estas infecciones.

A partir de 1997 se contó con un método de referencia (dilución en caldo), el cual fue estandarizado y aprobado por el Instituto de Estándares Clínicos CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute (antes NCLS) para levaduras (M27A) y en el 2002 también para mohos (M38A), métodos que se han modificado durante los últimos años. Estos cambios correspondieron a la inclusión de nuevos antifúngicos, diferentes diluentes y nuevos puntos de corte clínico. Paralelamente, el comité europeo (EUCAST) ha desarrollado métodos tanto para levaduras (E.DEF 7.2) como para mohos (E.DEF 9.1), métodos que si bien se asemejan bastante a los del CLSI, son muy laboriosos y por su alta complejidad requieren de personal entrenado.

Se han desarrollado, igualmente, una serie de técnicas disponibles comercialmente, las cuales tienen una buena concordancia con los métodos de referencia, son más sencillos, tienen un costo accesible, y pueden ser llevados a cabo en un laboratorio asistencial de microbiología. Éstos permiten determinar la concentración mínima de inhibición por dilución (VITEK® 2 y sensite Yeast ONE™) o la difusión en agar con tirillas (Etest®, MIC™) o con sensidiscos (BD BBL™ Discs, NEO-Sensitabs™). Las pruebas permiten establecer tratamientos más eficaces, además de conocer el comportamiento de los aislamientos resistentes a nivel local, regional y mundial.

## S29. El antibiograma en bacterias Gram negativas (MDR)

German Esparza\*

\*Miembro Comité de Consenso en Microbiología y en el Subcomité de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana; de CLSI. Microbiólogo Hospital Infantil Universitario de San José, Clínica Candelaria, Asesor del programa de aseguramiento de calidad en microbiología clínica de PROASECAL SAS. gesparza@javeriana.edu.co Contacto: gesparza@javeriana.edu.co

Los Gram negativos multidrogo resistentes (MDR) más prevalentes en la región de Latinoamérica son las Enterobacteriaceae resistentes a carbapenems (CREs), *P. aeruginosa* y *A. baumannii* MDR. Para evitar su diseminación es fundamental establecer políticas de uso apropiado de antibióticos y control de infecciones, sin embargo hay controversia sobre las pruebas de susceptibilidad para antibióticos de rescate. Para el tamizaje de Colistina en Enterobacteriaceae (excepto *Proteus*, *Serratia*, *Morganella*, *Providencia*) se sugiere microdilución en caldo ya que hay dificultades en la difusión del antibiótico cuando es probado por Disco-difusión ó E-test. Usar los puntos de corte de *Pseudomonas* (Sensible  $\leq 2$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) e incluir en el reporte una nota para recomendar el uso de este antibiótico en terapia combinada. Fosfomicina IV es otro antibiótico que puede ser un coadyuvante para el manejo de infecciones por gérmenes MDR. Para su tamizaje en Enterobacteriaceae puede usarse microdilución en caldo, disco-difusión y difusión en gradiente. El método de referencia dilución en agar es impráctico para los laboratorios de rutina. Se propone para este grupo de microorganismos un punto de corte de sensibilidad por MIC  $\leq 32$   $\mu\text{g}/\text{mL}$  y para *Pseudomonas aeruginosa* de  $\leq 128$   $\mu\text{g}/\text{mL}$ , en *Pseudomonas* se sugiere solo utilizar microdilución en caldo porque las mutantes resistentes observadas en los halos de inhibición y en las elipses de los E-test hacen imposible su lectura. Para Tigeciclina se recomienda su tamizaje en todos los Acinetobacter y en las Enterobacteriaceae principalmente MDR. De preferencia se sugiere utilizar microdilución en caldo, un punto de corte de sensibilidad  $\leq 2$   $\mu\text{g}/\text{mL}$  y evitar su reporte en *Proteus*, *Pseudomonas*, *Providencia* y *Morganella*, así como de aislamientos provenientes del tracto urinario. Los resultados resistentes por método automatizado deberán re-confirmarse por Disco-difusión. Incluir un pie de nota en infecciones como bacteremia y neumonía que recomiende su uso en combinación.



### S30. Resistencia en *Mycobacterium tuberculosis*

Gloria Isabel Mejía\*

\*Unidad de Bacteriología y Micobacterias, Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB). Escuela Ciencias de la Salud UPB. Medellín, Colombia. Contacto: gmejia@cib.org.co

La Tuberculosis (TB) sigue siendo un problema de salud a nivel mundial, la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el 2012 reportó 8,6 millones de casos nuevos, 1,3 millones de muertes y de estos alrededor de 500.000 son tuberculosis multidrogo-resistentes (TB-MDR), el mal uso de los agentes anti-tuberculosos, la interrupción y abandono del tratamiento, son la principal causa de la TB-MDR, definida como la TB resistente a los medicamentos de primera línea: isoniazida (INH) y rifampicina (RIF). El diagnóstico tardío de la TB-MDR y su mal manejo ha llevado a un problema mayor, la tuberculosis con resistencia extendida (TB-XDR), la cual no sólo es resistente a INH y RIF, sino también a los medicamentos más eficaces de la segunda línea, Fluoroquinolonas (levofloxacina, moxifloxacina, ofloxacina) y Aminoglicósidos (amikacina, kanamicina o capreomicina). El tratamiento de la TB-XDR es complejo y se acompaña de una alta morbi-mortalidad. En el 2012, a nivel mundial se estimó que 3,6% de los casos nuevos de TB y 20,2% de los previamente tratados eran MDR y 9,6% de los casos MDR eran XDR.

Los mecanismos de acción de los medicamentos anti-tuberculosos (anti-TB) han sido ampliamente estudiados y se dividen principalmente en tres categorías: (a) los que impiden la replicación del ADN, (b) los que evitan la síntesis de proteínas, y (c) los que inhiben los diferentes componentes de la pared celular. Esto ha permitido el desarrollo de diferentes pruebas fenotípicas y genotípicas para la rápida detección de resistencia.

Entre las nuevas herramientas que la OMS recomienda para la detección rápida de TB-MDR/XDR, están los métodos automatizados en medio líquido (BACTEC MIGHT 960®) y los moleculares (PCR en tiempo real: GeneXpert®, PCR con hibridación: GenoType® MTBDRplus/MTBDRsl), las cuales han demostrado ser altamente confiables para la detección de resistencia. Es un reto para los programas de Tuberculosis y los laboratorios de Micobacteriología fortalecer su infraestructura para poder detectar oportunamente la TB MDR/XDR, impactando de manera significativa el control de la enfermedad.

### S31. Molecular Typing Techniques for Surveillance and Epidemiology of Bacterial Infections

José Mediavilla\*

\*Research Public Health Research Institute, Rutgers, New Jersey Medical School.

Molecular typing techniques are indispensable for understanding transmission dynamics of bacterial pathogens, in healthcare as well as community settings. The resulting information can be used to address questions ranging from infection control and surveillance to molecular epidemiology and bacterial evolution, with the scale of resolution dictating the techniques used. Over the last few decades, several different methods have been elaborated which offer universal applicability to a wide range of bacterial pathogens, including pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), multilocus sequence typing (MLST), rep-PCR (DiversiLab), and multiple loci VNTR analysis (MLVA). In this workshop, we will explore both theory and practice of commonly-used techniques such as PFGE and MLST, using examples from clinically important pathogens such as methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE). Relatively simple and cost-effective methods will be emphasized wherever possible. If time permits, additional techniques specific to each pathogen may be discussed, including *spa* typing and SCCmec typing (for MRSA), and identification of carbapenemase-resistance genes such as KPC, NDM, OXA and VIM in *Enterobacteriaceae*.

### S32. Impacto de la resistencia de bacterias Gram negativas en Latinoamérica

María Virginia Villegas\*

\*Área de Resistencia Bacteriana e Infecciones Nosocomiales, Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas, CIDEIM, Cali, Colombia. Contacto: mariavirginia.villegas@gmail.com

Las *Enterobacteriaceae* y los Gram negativos no fermentadores Multi-drogo-resistentes (MDR), son una amenaza pública actual debido a la

limitación de antibióticos en el tratamiento de infecciones serias, que lleva a una mayor morbi-mortalidad.

Los antibióticos  $\beta$ -lactámicos son actualmente el pilar del tratamiento para este grupo de bacterias, las cuales siempre están presentes a nivel hospitalario. El mecanismo más común de resistencia contra esta familia de antibióticos, es la producción de  $\beta$ -lactamasas, especialmente las carbapenemasas. Se dividen en dos grupos grandes, las Serin-carbapenemasas y las metalo-enzimas, de las cuales, las KPC, las NDM y las VIM, son las más prevalentes en el mundo y Latinoamérica. La diseminación de estas carbapenemasas en elementos genéticos móviles, asociados a otros determinantes genéticos de resistencia, han llevado a la selección de bacterias Pa-resistentes (donde solo polimixina y en algunos casos Tigeciclina, pueden ser sensibles).

Es importante conocer la epidemiología, prevalencia e impacto clínico de las carbapenemasas para poder implementar acciones no solo para el tratamiento de los pacientes infectados sino para la contención de su diseminación. En esta charla discutiremos la epidemiología, diagnóstico, contención y tratamiento de las bacterias Gram negativas portadoras de carbapenemasas en Colombia y Latinoamérica.

### S33. Complejidad y funciones de la microbiota oral anaerobia

Adolfo Contreras\*

\*CEDETES - Escuela de Salud Pública, Facultad de Salud Universidad del Valle Cali - Colombia

El cuerpo humano posee 10 veces más células procarióticas que eucarióticas y la expresión de genes microbianos sobrepasa los humanos. De este complejo microbioma, hace parte el microbioma oral-compuesto por 700 especies y 19 mil filotipos + protozoos, hongos, y virus que influyen la salud del huésped. La boca provee el nicho ideal para ciertos microorganismos por su humedad, temperatura, y pH estableciéndose un comensalismo y mutualismo entre ellos y el huésped, pues el último provee nutrientes y un ambiente protector que resulta en un equilibrio entre diversas especies microbianas y el sistema inmune como ocurre en salud. La condición inmuno-genética parece conferir al huésped susceptibilidad-resistencia frente a los microorganismos. Hoy aceptamos que la caries, periodontitis, las dos más prevalentes enfermedades orales se desarrollan por disbiosis microbiana que es un desbalance entre las especies comensales y las patógenas en donde, se altera la composición microbiana en nichos susceptibles. Esta disbiosis se genera por fallas en los hábitos de higiene oral que facilitan, la acumulación de especies patógenas con supresión de especies benéficas. La virulencia de especies microbianas puede agravar la disbiosis y la respuesta inmune. El uso de técnicas moleculares modernas ha permitido reconocer nuevas especies del microbioma humano y hacer análisis comparativos entre la salud y la enfermedad. Así, ahora se reconocen 30 nuevos taxones anaerobios en periodontitis incluyendo arqueobacterias que complementen los complejos rojo y naranja de Socransky. *Dialister pneumosintes*, *D. invisus*, *Selenomonas noxia*, *S. sputigena*, *Fusobacterium fastidiosum*, *Fretibacterium* sp., *P. endodontalis*, *E. saphenum*, *Treponema leathinolyticum*, *M. timidum*, *Filifactor aloscis*, y los grupos *Synergistetes*, *Desulfubulbos*, TM7, parecen generar destrucción periodontal.

### S34. Aspectos clínicos, epidemiológicos y microbiológicos de la infección por *Clostridium difficile* en Colombia

Clara Lina Salazar G.\*

\*Grupo de Investigación en Bacteria Anaerobias-GIBA. Escuela de Microbiología, Univ. de Antioquia. Medellín, Colombia.

*Clostridium difficile* es un bacilo Gram positivo anaerobio esporulado que habita en forma no toxigénica en el medio ambiente y en el tracto gastrointestinal de animales y humanos. El previo suministro de antimicrobianos que disminuyen las bacterias que hacen resistencia a la colonización de potenciales patógenos, es uno de los factores que conllevan a la alteración de la microbiota intestinal; este fenómeno favorece que *C. difficile* toxigénico una vez es ingerido en su forma esporulada, germine y se multiplique en el intestino, y pueda dominar la microbiota intestinal y colonizar y/o producir la enfermedad asociada a *Clostridium difficile* (EACD). El rango de la EACD puede variar desde diarrea moderada hasta colitis pseudomembranosa, megacolon tóxico, sepsis y muerte. El daño es causado por la acción, a nivel intestinal, de las toxinas tcdA, tcdB, y la toxina binaria CDT; con efectos citopáticos caracterizados por ruptura de la barrera celular, así como por efectos enterotóxicos y el aumento exagerado de una respuesta inflamatoria.

Dentro de las Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS), la infección causada por *C. difficile* se mantiene en niveles históricamente altos en Norte América y Europa. En América Latina, se han reportado frecuencias del 6,5% en Argentina, del 27% en Brasil, del 28,2% en Chile y del 30% en Costa Rica. En Colombia, en la ciudad de Medellín, se ha reportado una frecuencia del 10%. Adicionalmente, en un estudio realizado en un Hospital Universitario de Colombia, se encontró que pacientes mayores de 65 años de edad, la estancia en unidad de cuidados intensivos y el uso de inhibidores de la bomba de protones eran factores que estaban asociados a la infección por *C. difficile*.

Los resultados preliminares de estudios realizados por nuestro grupo en tres instituciones hospitalarias de alta complejidad en la ciudad de Medellín entre el 2013 y 2014, indican que la frecuencia de la toxina A/B para *C. difficile* es del 9% (70/771). Un total de 91 aislamientos de *C. difficile* se han recuperado, y de ellos, todos se han comportado susceptibles a vancomicina y moxifloxacina, un solo aislamiento ha presentado susceptibilidad disminuida a metronidazol y un 52% de éstos han presentado resistencia a clindamicina.

La frecuencia de EACD establecida por la positividad de las toxinas A/B es inferior a lo reportado en otros países de América Latina, y los aislamientos de *C. difficile* se han comportado susceptibles a moxifloxacina y vancomicina y estamos reportando por primera vez un aislamiento con sensibilidad disminuida a metronidazol. Estos resultados, están aportando información importante no solo para conocer la epidemiología de ésta IAAS, sino también, permiten conocer el comportamiento en cuanto a la susceptibilidad de esta bacteria a los medicamentos de primera y segunda línea más comúnmente empleados, así como también permitirán proponer nuevas estrategias para el control de esta infección a nivel hospitalario.

### S35. Antimicrobial resistance in anaerobic bacteria

Ellie JC. Goldstein\*

\*RM Alden Research Laboratory, Santa Monica CA 90404 and David Geffen School of Medicine at UCLA, Los Angeles CA 90073, USA.

While world attention has focused on the emergence of resistance of aerobic bacteria, less attention has been paid to the even greater threat posed by the developing resistance in anaerobes. While  $\beta$ -lactamases and cephalosporinases are present in >80% of anaerobes, most attention has been placed on resistance in the *B. fragilis* group species. Despite a variety of surveys have noted that metronidazole resistance is rare, *nim* genes (A-I) may be found in up to 24% of studied isolates although they may not be expressed and other resistance mechanisms exist. There are an increasing number of reports from Asia and even the USA have noted multidrug resistance not only to metronidazole but also to carbapenems such as imipenem and ertapenem, piperacillin/tazobactam, as well as the expected high rate for clindamycin (>40%), moxifloxacin (>40%) and emerging in newer agents as tigecycline. CTnHyb, is a novel conjugative transposon which contains several efflux pump genes as well as several genes that confer resistance to multiple drugs including metronidazole. Some *B. fragilis* group species such as *B. thetaiotaomicron*, *B. distasonis* and *B. vulgatus* also exhibit increased rates of resistance to commonly used agents. Increasing resistance of *Prevotella*, and *Porphyromonas* species has been reported. Over and above the fecal microbiota, there is resistance in *Propionibacterium* species that has been associated with biofilms and prosthesis (joints, breasts, etc.) infections and resistance to anaerobic Gram-positive cocci from diabetic foot infections to fluoroquinolones and of course, metronidazole. Additionally, MIC creep to metronidazole and vancomycin have been reported with *Clostridium difficile*. We must be cognizant, recognize and limit the transfer of resistance elements in anaerobes in order to prevent a devastating disaster in our most predominant anaerobic human flora.

### S36. Histoplasmosis in the Americas

Mary E. Brandt\*

\*Mycotic Diseases Branch Centers for Disease Control and Prevention.

Histoplasmosis is a fungal infection caused by the environmental mold *Histoplasma capsulatum*. The disease is prevalent in the Americas, throughout portions of Canada, the United States, Central and South America. For many decades it was seen as a sporadic infection; however, with the increase of individuals infected with HIV, the prevalence of histoplasmosis has risen sharply. Many barriers have historically existed to the diagnosis of histoplasmosis in the Americas. The disease is sometimes confused with

tuberculosis, *Leishmaniasis*, and other febrile illnesses, due to lack of specific diagnostic tools. In many countries, invasive procedures such as bone marrow biopsy are required to make a diagnosis. These barriers have prevented determination of the true burden of histoplasmosis in many countries. The 21<sup>st</sup> century has seen the advent of novel tools to facilitate the diagnosis of histoplasmosis. EIA assays that can detect fungal antigens in human body fluids have become more widely available. The application of monoclonal antibodies in these assays shows promising improvements in sensitivity and specificity. Lateral flow ("dipstick") assays are under development. A number of PCR-based assays have been described for the detection of fungal DNA in human body fluids and tissues. The increased reliability of these fungal detection methods has driven the formation of research groups in French Guiana, Colombia, Guatemala, and Brazil for the purpose of measuring the burden of histoplasmosis in these countries. The marriage of rapid, reliable testing methods and availability of antifungal therapy will allow real progress to be made in control of this infection in the Americas.

### S37. *Candida albicans* como agente causal de enfermedad e interpretación de su susceptibilidad o resistencia *in vitro* a los antimicóticos: El reto que enfrentan la clínica y el laboratorio

Giovanni Rodríguez L.\*

\*Depto. de Salud Pública. Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud. Univ. del Rosario. Bogotá, Colombia.

*Candida albicans* es considerada globalmente como el principal patógeno oportunista causante de infecciones hospitalarias y, ocupa también un lugar predominante como agente de las micosis invasivas en los Estados Unidos de Norteamérica, siendo líder, a la par, de las infecciones oportunistas causadas por hongos en Latinoamérica. Los aspectos relacionados con el estudio y la aproximación terapéutica a las enfermedades debidas a este microorganismo tienen que ver, necesariamente, con su pronto diagnóstico y su oportuno tratamiento. Uno de los factores decisivos frente a la elección terapéutica se relaciona directamente con la determinación *in vitro* de la susceptibilidad de esta levadura a los antifúngicos.

A partir de los métodos disponibles para evaluar la susceptibilidad mencionada, se han señalado conceptos sobre la resistencia tanto *in vitro* como, a nivel molecular, y también con bases clínicas. Adicionalmente, la revisión de la literatura permite observar un movimiento progresivo para definir puntos de corte que faciliten la decisión entre susceptibilidad y resistencia, donde el punto de corte sería menor a medida que los resultados de las evaluaciones epidemiológicas y clínicas muestren fallas terapéuticas, o que en las evaluaciones moleculares, se encuentran mutaciones en rangos que anteriormente se interpretaban como susceptibles, por ejemplo en el caso de las equinocandinas. Aunque los mecanismos generales de resistencia cuentan con descripciones claras en su origen y funcionamiento, un hongo oportunista como *C. albicans* se presenta como reto dado su comportamiento dinámico, especialmente cuando se trata de ambientes hospitalarios, en los cuales tal comportamiento se integra con el concepto de resistencia por presión selectiva secundaria al uso de antifúngicos, hecho que exige de la comunidad científica interesada en el tema, una cuidadosa atención y la implementación de nuevas estrategias de abordaje para enfrentar este problema.

### S38. Molecular epidemiology of nosocomial *Pneumocystis jirovecii* infections – lessons learned from case clusters in renal patients

Wieland Meyer\*<sup>‡</sup>, Carolina Firacative\*, Sharon Chen\*, Brian J. Nankivell<sup>†</sup>

\*Molecular Mycology Research Laboratory, Centre for Infectious Diseases and Microbiology, Westmead Millennium Institute, Sydney Medical School-Westmead Hospital, Marie Bashir Institute for Infectious Diseases and Biorecognition, University of Sydney, Westmead, Australia. <sup>†</sup>Departments of Renal Medicine, Westmead Hospital, Australia. <sup>‡</sup>Contact: wieland.meyer@sydney.edu.au

*Pneumocystis jirovecii* pneumonia (PJP) is an important infection-related complication, whose mode of transmission remains uncertain. We encountered a cluster of fulminant PJP in 14 transplant recipients occurring 6.3±5.3 years (mean±SD) after transplantation, well beyond our 6-month trimethoprim-sulfamethoxazole (TMP-SMZ) prophylaxis period. Additional clusters then emerged in seven other Sydney hos-

pitals (n=30 patients), three distant regional hospitals (n=8), four large interstate transplant units (n=24) and seven other interstate hospitals (n=13) over 2 years, eventually controlled by reintroduction of blanket TMP-SMZ prophylaxis to potentially-exposed patients. Eight further cases presented following discontinuation of prophylaxis in our long-term patients (two hospitals), after being disease-free for 14 months. Prophylaxis was again restarted and continued indefinitely. A total of 96 PJP infections occurred in kidney (n=87), liver (n=4), liver-kidney (n=1), and kidney-pancreas (n=3) transplant recipients, and one lupus patient in 23 hospitals; resulting in 14 deaths and 10 kidney allograft failures. Four-loci MLST typing of known variable regions within the *P. jirovecii* genome was undertaken to define the outbreak's molecular epidemiology and an online MLST database was established at [mlst.mycologylab.org](http://mlst.mycologylab.org). MLST analysis of the concatenated DNA sequences revealed an initial outbreak genotype (sequence type 1 [ST1]), and two closely related genotypes differing only by a single nucleotide polymorphism in either the *mtLSU* (ST2) or *ITS1/2* region (ST9), while the *β-tub* and *DHPS* sequences were identical. The last genotype (ST10), which emerged 52 months after the index case, differed by 6 nucleotides. Meticulous contact tracing found co-localization of asymptomatic prodromal PJP patients within our clinic waiting areas, and inter-hospital transmission facilitated by travel of infected patients with local cross-infection in distant locations, suggesting person-to-person transmission. Minimal and maximal PJP incubation periods were 124±83 to 172±71 days, respectively. Oropharyngeal washes from outpatient staff and ambient air samples were negative for *P. jirovecii* DNA. Cohort analysis (14 exposed clinic cases versus 324 unaffected control patients) identified independent risk factors including prior CMV infection (OR=65.9, 95%CI=7.9-550, P<0.001), underlying pulmonary disease (OR=10.1, 95%CI=2.3-45.0, P=0.002) and transplant dysfunction (OR=1.61 per10 mls/min/1.73 m2, 95%CI=1.15-2.25, P=0.006). The outbreaks were controlled by extension of trimethoprim/sulphamethoxazole prophylaxis to 12 months in recent recipients and reintroduction to all clinic patients. Prompt recognition and pre-emptive blanket PJP prophylaxis to all exposed recipients after the second confirmed case are recommended to limit outbreak escalation. Most contemporary PJP cases actually represent a public health problem, rather than a reactivation of an intrinsic latent infection by reduced immunity. We suggest centralised genotyping of all isolates to identify related clusters, and mandatory reporting to allow appropriate preventative counter-measures.

### S39. Levaduras y enzimas en la producción de etanol de primera y segunda generación empleando yuca (*Manihot esculenta* Crantz)

Alejandro Acosta C.\*

\*Grupo de Biotransformación, Escuela de Microbiología, Univ. de Antioquia, Medellín, Colombia. Contacto: [alejandro.acosta@udea.edu.co](mailto:alejandro.acosta@udea.edu.co)

La necesidad de desarrollar nuevas estrategias que integren procesos enzimáticos con fermentativos conlleva al aumento en la productividad del etanol. La yuca (*Manihot esculenta* Crantz) como material rico en almidones fue el material empleado para este proyecto ya que hace parte de las materias primas agrícolas que cobran gran interés en para el bioetanol en Colombia. El objetivo es evaluar diferentes metodologías y modos de fermentación con enzimas y levaduras para la producción de etanol de primera y segunda generación la planta de yuca del Urabá Antioqueño.

*Etanol 1raG*. Evaluación de las condiciones de hidrólisis enzimática (Licuefacción y sacarificación), tolerancia de la levadura (*Ethanol Red*) a altas concentraciones de azúcares, proceso de Sacarificación y Fermentación Simultánea (SFS), Hidrólisis y Fermentación Simultánea (HEFS), Escalado (P/V y NDa). *Etanol 2daG*. Evaluación de pretratamientos (NaOH, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y H<sub>2</sub>O) del material lignocelulósico (hojas y tallos) de la yuca y producción a escala de 5 L.

En todos los casos se desarrollaron diseños experimentales por triplicado y los contenidos de azúcares y etanol por HPLC.

El resultado fue *Etanol 1raG*. Procesos de hidrólisis completa del almidón (0,48g etanol/g glucosa), fermentación de 2,42g/Lh, 118g/L de etanol a 5L. Los reactores presentaron igual similitud geométrica. Para 500L, se logró con el criterio Nda en SFS 0,51g/g, 3,17g/Lh, 126g/L de etanol. En HEFS a 5L se utilizó la enzima STARGEN, y se logró 0,48g/g, 2,5 g/Lh de etanol y 216L de etanol/ton yuca fresca. *Etanol 2daG*. El mejor pretratamiento en hojas y tallos fue con NaOH, con la enzima ACCELLERASE y la fermentación se logró 0,44 y 0,43 g/g, 1,32 y 0,68 g/Lh, con 11 y 8 g/L de etanol de hojas y tallo respectivamente.

En conclusión la yuca presenta una excelente alternativa en la producción de etanol, logrando 216 L de etanol/Ton de yuca fresca. El uso simultáneo de enzimas y levaduras mejoran las productividades del proceso.

### S40. Pilot Plant for the bioconversion of renewable feedstocks and (agri/food)-residues

Joachim Venus\*

\*Leibniz-Institute for Agricultural Engineering Potsdam-Bornim. Dept. Bioengineering. Contacto: [jvenus@atb-potsdam.de](mailto:jvenus@atb-potsdam.de)

Renewable feedstocks (e.g. lignocellulosics, green biomass, agri-residues, and food waste) are being used as raw materials for the production of microbial lactic acid. Lactic acid, its salts and esters have a wide range of potential uses and are extensively used in diverse fields, e.g. bioplastics. The goal is to develop a fermentation process based on the substitution of expensive nutrient supplements by cheaper materials from biomass due to their main proportion of the whole process costs.

For that purpose a multifunctional pilot plant was planned and built at the site of ATB to investigate different raw materials including waste & residues and products. The construction of a pilot facility for the production of lactic acid from renewable resources consequently fills a gap in the various phases of bioprocess engineering from applied fundamental through application research to the launch of biotechnological processes in practice. Selected results of lactic acid fermentation up to a 450-L-bioreactor will be presented. Depending on the further processing of the lactic acid the separation of impurities after fermentation is a major process cost too. Therefore an optimization is necessary to find a balance between the substitution of expensive nutrients and the limitation of interfering or undesirable components of natural raw materials respectively.

With the pilot plant a new biotechnological procedure is realized, allowing an efficient refinement of ingredients from plant biomass and residues into industrial products according to the process steps of a sugar-based fermentation technology. The entire processing chain has been implemented: from the feedstock, the pre-treatment/hydrolysis for releasing C5 and C6 sugars, the (continuous mode) fermentation to lactic acid and the downstream processing of fermentation broth to generate marketable L(+) and D(-)-lactic acid of high enantiopurity and quality.

### S41. Aislamiento y identificación de microorganismos nativos de Colombia para la producción de etanol Biocombustible

Pedro F. B. Brandão\*§, Iván R. López S.\*, Jaime A. Sánchez R.\*, Yina A. Cifuentes T.\*‡, Ángela M. García A.\*, Adelina del Pilar Melendez†, Mario E. Velásquez-Lozano‡

\*Grupo de Estudios para la Remediación y Mitigación de Impactos Negativos al Ambiente (G.E.R.M.I.N.A.), Lab. de Microbiología Ambiental y Aplicada, Depto. de Química, Facultad de Ciencias, Univ. Nacional de Colombia. †Depo. de Farmacia, Facultad de Ciencias, Univ. Nacional de Colombia. ‡Grupo de Investigación de Procesos Químicos y Bioquímicos, Lab. de Ingeniería Bioquímica, Depto. de Ingeniería Química y Ambiental, Facultad de Ingeniería, Univ. Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. §Contacto: [pfdeb@unal.edu.co](mailto:pfdeb@unal.edu.co)

El uso de microorganismos nativos de una determinada región geográfica, comparado con el de microorganismos comerciales, tiene el potencial de mejorar los rendimientos del proceso de fermentación debido a una mayor competencia y mejor adaptación a las materias primas utilizadas. En este sentido, es importante recuperar microorganismos de las zonas de cultivo y procesamiento de las materias primas para obtener los que puedan contribuir a un mejoramiento del proceso local de fermentación. La recuperación de microorganismos nativos eficientes comprende un extenso proceso de aislamiento en el cual pueden existir réplicas de una misma cepa. Las técnicas de diferenciación permiten identificar estas réplicas para así utilizar las que son únicas en los ensayos de fermentación. En esta ponencia se presentaron los resultados del aislamiento de microorganismos nativos de Colombia con potencial para la producción de etanol biocombustible y el establecimiento de metodologías moleculares para su identificación. Muestras ambientales de distintos lugares de Colombia, fueran recolectadas para el aislamiento de los microorganismos nativos mediante el uso de técnicas dependientes de cultivo. Los microorganismos recuperados fueran discriminados por métodos bioquímicos y de huella molecular los cuales permitieron seleccionar un grupo para identificación molecular y para posteriores ensayos de fermentación. El

bioetanol se ha convertido en una apuesta de Colombia como alternativa energética a la actual demanda nacional de combustibles y los microorganismos recuperados podrían tener un gran potencial para uso en procesos de fermentación para la producción de etanol biocombustible en el país.

#### S42. Leucemia Mieloide Crónica. Diagnóstico y monitorio de la respuesta terapéutica

Domingo Saavedra Ramírez

Médico Hematólogo Clínica Vida, Medellín, Colombia.

La Leucemia Mieloide Crónica (LMC) es un desorden mielo proliferativo crónico neoplásico, caracterizado por la translocación BCR/ABL 9/22. Al inicio del siglo XXI cambió la historia de esta hemopatía con los resultados del ensayo clínico IRIS con la terapia diana con un Inhibidor de Tirocina Quinasa (ITK). Previamente la historia natural era, fase crónica 3 a 5 años sin tratamiento, evolución a fases acelerada y blástica en poco tiempo y muerte. Actualmente se considera una hemopatía maligna potencialmente curable. El objetivo es actualizar el tema con el enfoque clínico, sobre el diagnóstico de laboratorio, la utilidad de las pruebas, su significado pronóstico y su importancia en el seguimiento de los pacientes. Informe de nuevos criterios para valorar falla a la terapia TKI, e indicación de estudio de mutaciones.

Se realiza una revisión de la literatura, guías NCCN y ELN, e historias clínicas de nuestra consulta cotidiana, como ejemplos de casos prácticos.

El resultado es presentar recomendaciones para realizar los protocolos aprobados de diagnóstico y monitorio vigentes que son la piedra angular para la obtención de buenos resultados para pacientes con periodos largos libres de enfermedad, opción de suspensión definitiva del medicamento, con posibilidad de curación y obviamente con incremento de la supervivencia global. En LMC los avances en los estudios de laboratorio y las terapias diana de TKI, han cambiado la historia natural de esta hemopatía maligna convirtiéndola en una patología dominable y es nuestra obligación conocer profundamente estos avances en favor de los pacientes.

#### S43. Dietary and genetic factors that affect HDL function

Christopher N. Blesso\*

\*Department of Nutritional Sciences, University of Connecticut, USA.

Serum high-density lipoprotein-cholesterol (HDL-C) levels are strongly negatively associated with future risk of coronary heart disease (CHD). Therapies aimed at increasing HDL-C are under intense investigation in the hope of preventing atherosclerosis and cardiovascular events. In addition to a well-described role in reverse cholesterol transport, HDL particles have shown diverse biological activities with antioxidant, anti-inflammatory, anti-apoptotic, anti-thrombotic and vasorelaxant properties. In chronic inflammatory disease states, HDL particles may become pro-atherogenic, and can explain residual CHD risk in those with high HDL-C. The identification of atherogenic HDL, associated with certain disease states, provides a greater appreciation of HDL metabolism and a potential therapeutic target. HDL cholesterol efflux capacity has emerged as a significant predictor of CHD status. Importantly, differences in cholesterol efflux capacity have been reported in humans with similar HDL-C levels, supporting the need to examine HDL metrics beyond HDL-C. Recent failures of HDL-C raising drugs to reduce CHD suggest that lifestyle changes or drug treatments that affect HDL functionality may prove to be a more effective approach. A novel target (procollagen C-endopeptidase enhancer 2) and dietary factors that affect HDL metabolism, including reverse cholesterol transport and antioxidant activity are discussed.

#### S44. Evaluación de los efectos del consumo de uvas en dislipidemias, hipertensión, disfunción endotelial, inflamación y estrés oxidativo en hombres con síndrome metabólico

Jacqueline Barona A.\*

\*Escuela de Microbiología, Univ. de Antioquia. Medellín, Colombia.

El síndrome metabólico (SMet) es un grupo interrelacionado de factores asociados con resistencia a la insulina que predispone a diabetes tipo 2

(DM2) y enfermedad cardiovascular (ECV). Es caracterizado por obesidad abdominal, dislipidemia [triglicéridos aumentados, colesterol HDL (HDL-c) disminuido], hiperglicemia e hipertensión arterial. Un estado pro-inflamatorio y disfunción endotelial vascular son también característicos del SMet. Estrategias terapéuticas que modulen estos múltiples factores de riesgo son importantes para prevenir tanto DM2 como ECV. Intervenciones dietarias que puedan modificar los biomarcadores del SMet representan una opción práctica. Las uvas especialmente, contienen numerosos polifenoles que han mostrado tener efectos cardioprotectores. El propósito de este estudio fue evaluar los efectos del consumo de uva sobre los biomarcadores del SMet, disfunción endotelial, inflamación y estrés oxidativo. Veinte y cinco hombres (de 30 a 70 años) fueron enrolados de acuerdo a los criterios revisados del ATP-III. Siguiendo un diseño cruzado doble ciego, los participantes fueron asignados a consumir un liofilizado de uva (UVA) o placebo por 4 semanas. Después de 3 semanas sin consumir ningún liofilizado, los voluntarios fueron cambiados al tratamiento alternativo. Mediciones antropométricas, muestras de sangre y células mononucleares fueron obtenidas al final del período de UVA y placebo.

Los participantes disminuyeron su presión arterial sistólica ( $P < 0,025$ ), mejoraron su función endotelial aumentando la respuesta vasodilatadora mediada por flujo ( $P < 0,001$ ) y disminuyeron niveles de moléculas de adhesión circulantes ICAM-1 ( $P < 0,025$ ) después de consumir UVA comparado con placebo. Cambios en los metabolitos del óxido nítrico se correlacionaron negativamente con cambios en la presión sistólica ( $r = -0,44$ ;  $P < 0,05$ ). Estos efectos benéficos se observaron sin cambios en el peso corporal, dieta y actividad física de los participantes. Los participantes fueron también analizados en dos grupos: con dislipidemia (triglicéridos aumentados + HDL-c disminuido) y sin dislipidemia. Cambios en niveles de adiponectina plasmática ( $P < 0,05$ ) e IL-10 ( $P < 0,005$ ) y en la expresión de la sintasa de iNOS ( $P < 0,025$ ) fueron mayores después de UVA comparado con placebo, sólo en aquellos sin dislipidemia. Estos resultados sugieren que el consumo diario de uva puede proteger contra la disfunción vascular en individuos en SMet. Adicionalmente, las uvas mostraron propiedades anti-inflamatorias y anti-oxidantes en ausencia de dislipidemias.

#### S45. Estudio del efecto del aceite de oliva y sus componentes sobre el metabolismo lipídico y enfermedad cardiovascular y sus posibles aplicaciones clínicas

Sergio Acín Martínez\*

\*Genética Molecular (GENMOL) – Univ. de Antioquia, Medellín, Colombia. Centro de Investigación Biomédica en Red y Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (Ciberobn), España.

La baja incidencia de enfermedades cardiovasculares en los países de la cuenca mediterránea, donde el aceite de oliva es la principal fuente de grasa en la alimentación, ha motivado un mejor conocimiento de su composición química y el desarrollo de aceites enriquecidos en sus componentes minoritarios.

El trabajo realizado en nuestro grupo pone de relieve los efectos de diferentes preparaciones del aceite de oliva sobre el desarrollo de la aterosclerosis y el valor pronóstico para la enfermedad de los parámetros plasmáticos mediante el empleo de un ratón modificado genéticamente en el que ésta se desarrolla espontáneamente. Las limitaciones del modelo por sus diferencias morfológicas y fisiológicas con el hombre se minimizan ante la similitud de ambos genomas y el avance de conocimiento que posibilita, ya que efectuar en humanos las intervenciones realizadas habría requerido 400 años.

Confirmando la tradición de los pueblos mediterráneos, se ha verificado la eficacia del aceite de oliva virgen consumido prudentemente y en dietas con bajo contenido en colesterol por la relativa escasez de productos de origen animal. Además, la exploración con herramientas de genómica ha identificado nuevos marcadores de respuesta al aceite.

Igualmente, nuestras investigaciones han permitido un mayor conocimiento sobre el efecto en el desarrollo de la aterosclerosis y esteatosis de dos componentes importantes de la fracción insaponificable del aceite de oliva: el escualeno, molécula intermediaria en la biosíntesis de colesterol, siendo el aceite de oliva el que contiene la mayor cantidad del mismo dentro del mundo vegetal y el hidroxitirosol, el principal compuesto fenólico antioxidante presente en el aceite de oliva.

#### S46. Cambios en la ecología microbiana del intestino de individuos infectados con Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH)

Homero Gabriel San Juan V.\*

\*Profesor Titular de la Universidad del Norte, Barranquilla, Colombia.

Con el advenimiento de las tecnologías de secuenciación de próxima generación se ha empezado a explorar de manera profunda la microbiota de muchos nichos en humanos. De hecho, estos estudios han mostrado que alrededor del 80% de la microbiota está compuesta por microorganismos no cultivables. Algunos de éstos potencialmente pueden ser microorganismos oportunistas, constituyendo una seria complicación para la salud de los individuos infectados por el VIH. El contenido de la microbiota intestinal resulta de una relación de interdependencia con el huésped y su sistema inmunitario. Algunos microorganismos pueden ayudar en la diferenciación del sistema inmunitario asociado a mucosas e inclinar la balanza hacia un estado pro-inflamatorio o anti-inflamatorio. En consecuencia, es de interés conocer si la infección por el VIH puede impactar la composición de la microbiota intestinal y en particular si favorece aquellas especies microbianas proinflamatorias conllevando a un estado de hiperactivación de la respuesta inmunitaria y a un agravamiento del estado de inmunodeficiencia. En esta conferencia, se presentarán los resultados de los cambios en la estructura de la población microbiana que coloniza los intestinos de individuos infectados con VIH sin tratamiento anti-retroviral viviendo en dos ciudades de la costa Colombiana y como estos cambios se correlacionan con la severidad de la disregulación del sistema inmune.

#### S47. Actinobacterias de sedimentos marinos del Pacífico Sur: bioprospección para nuevos productos naturales bioactivos

Beatriz Cámara\*

\*Depto. de Química. Univ. Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile. Contacto: beacamara@yahoo.com

La persistencia de patógenos microbianos multi-resistentes a compuestos terapéuticos generan la necesidad de descubrir nuevos antibióticos. Las actinobacterias marinas han demostrado ser un recurso interesante para diversos metabolitos secundarios nuevos con diversas actividades biológicas. La mayoría de estos metabolitos son sintetizados por vías que contienen policétido sintetas (PKS) y/o sintetas de péptidos no ribosomales (NRPS). En este estudio, se aislaron actinobacterias de sedimentos marinos del fiordo Comau patagónico y de la bahía de Valparaíso, Chile, y se evaluó su potencial biotecnológico. La identificación de los aislados obtenidos se realizó mediante la secuenciación del gen rRNA 16S. El análisis comparativo de la secuencias permitió identificar aislados pertenecientes al orden *Actinomycetales* con afiliaciones genéticas a 20 géneros, y una cepa perteneciente a la familia *Nocardiopsaceae*. Paralelamente, se investigó la producción de metabolitos secundarios evaluando su actividad antimicrobiana con cepas modelos. La actividad inhibitoria observada demuestra que muchos de los aislados inhiben el crecimiento de cepas bacterianas Gram positivas y/o Gram negativas. Adicionalmente, se analizó la presencia de genes biosintéticos PKS y NRPS, donde la mayoría de los aislados resultó ser positiva con al menos uno de los genes analizados. En conclusión, es estudio demuestra una amplia biodiversidad de actinobacterias cultivables asociados al Pacífico sur con un gran potencial para la producción de compuestos biológicamente activos. El Pacífico sur representa un recurso notable para la bioprospección de nuevas actinobacterias marinas.

#### S48. Bacterias en acuicultura: ¿Enemigas o aliadas?

Luisa Villamil\*

\*Consultor Independiente Acuicultura y Sanidad Animal. Santa Marta, Colombia.

El comercio de organismos acuáticos provenientes de pesca y acuicultura representa aproximadamente un 0,3% de la economía mundial, con un valor que excede los US\$250 B. La principal amenaza a este negocio son las pérdidas económicas causadas por agentes infecciosos.

Para mantener la rentabilidad, las granjas invierten en medidas preventivas y en alternativas de tratamiento. En Colombia la mayor par-

te lo los organismos cultivados, son exportados a la Unión europea y a USA y allí son pocos los quimioterapéuticos que han sido registrados y avalados dados los costos y los efectos adversos en el ambiente y en los consumidores. El uso de inmunoestimulantes y bacterias seleccionadas como probióticos, constituye una alternativa valiosa para la reducción del uso de antibióticos. Los probióticos son células microbianas administradas en agua o en la dieta para incorporarse al tracto gastrointestinal de los organismos cultivados y causar un beneficio generalmente asociado al balance microbiano. Su uso ha generado beneficios como incremento de supervivencia y crecimiento; a través de mecanismos de acción como la producción de sustancias antimicrobianas, competencia por sitios de adherencia, producción de enzimas y vitaminas, y de sustancias estimulantes del sistema inmune.

En Colombia se han efectuado pruebas con bacterias del ácido láctico, con diversas especies del género *Bacillus* y otros géneros asociados a sistemas de cultivo de tilapia, cobia y camarón. Los resultados encontrados hasta ahora, generan una esperanza para el sector en la prevención solamente de algunos patógenos. Por otra parte, los requerimientos biológicos de cobia hacen que la evaluación de las bacterias seleccionadas *in vivo* sea complicada a pequeña escala y la producción masiva de bacterias seleccionadas un reto. Hasta el momento todos los probióticos usados en el país son importados y se cuestiona la viabilidad técnica y económica de generar un producto nacional para uso exclusivo en acuicultura.

Entre las medidas profilácticas más eficientes está la vacunación, con efectos positivos destacables como la reducción de las mortalidades y del uso de antibióticos. Sin embargo, en Colombia no ha sido aplicada a escala comercial, ya que no hay vacunas aprobadas para peces por las autoridades sanitarias nacionales.

#### S49. Brazilian biodiversity as source for new compounds against bacterial adhesion

Alexandre José Macedo\*

\*Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil.

Once bacterial adhesion has taken place, on implanted medical devices or on injured tissue, microorganisms may undergo specific molecular changes to become pathogenic and to establish biofilms. Biofilm-associated infections are difficult to eradicate and contribute to disease chronicity. Our research group search for molecules able to inhibit the adhesion of pathogenic bacteria and the biofilm formation from the Brazilian biodiversity. In this talk, I'm going to emphasize some of these bioresources niches. In this context, we isolated a steroidal molecule - named *boophiline* - present in egg wax of the cattle tick able to inhibit the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. After evaluation of 14 genes by qRT-PCR, we found that two genes (*fliC* and *cdrA*) were strongly repressed by boophiline. The *fliC* gene is involved in the formation of the bacterial flagellum, an organelle important for the motility, and also in initial steps of biofilm formation. *CdrA* is a structural protein of the biofilm, participating in the maintenance of its integrity. In addition, endemic plants from the Caatinga (Region in Northeast of Brazil) were investigated and tannins were found to be responsible to inhibit bacterial adhesion and biofilm formation. In this last case we achieved to coat polymeric surface, in order to simulate a biomaterial, using a spin coater process. The modified surface was characterized and challenged against bacteria and the eukaryotic Vero cells adhesion, including co-culture. The coated surface demonstrated ability to prevent biofilm formation, according to *Scanning Electron Microscopy* (SEM) and CLSM analysis and biocompatibility with Vero cells. These are some examples of the ongoing research developed in our lab and we are permanently looking for environmental niches that can bring us bioactive molecules against microbial biofilms.

#### S50. Mechanisms of staphylococcal biofilm-associated infection

Michael Otto\*

\*Laboratory of Human Bacterial Pathogenesis. NIAID, NIH 9000 Rockville Pike Bethesda, MD 20892. Contacto: motto@niaid.nih.gov motto@niaid.nih.gov

*Staphylococci*, including *S. aureus* and coagulase-negative species such as *S. epidermidis*, are by far the most frequent causes of infections on indwelling medical devices. These commonly proceed with the involvement of biofilms, severely diminishing the efficacy of antibiotic

treatment and mechanism of host defense. Research over the last decades has identified a specific cationic exopolysaccharide, extracellular DNA, teichoic acids, and several proteins as components of the extracellular matrix that surrounds staphylococcal cells in a biofilm. In more recent studies, the factors that allow channel formation and dispersal of clusters from the biofilm were identified. These mechanisms are crucial for the development of a vital, structured biofilm and for the *in vivo* dissemination of biofilm infection. The structuring/dispersal factors are a family of amphipathic, alpha-helical peptides, the phenol-soluble modulins (PSMs), which work by disrupting non-covalent interactions between molecules of the biofilm matrix. Absence of these peptides leads to excessive biofilm growth, less biofilm structuring, and inability of biofilm infection to spread systemically. PSMs are under strict control of quorum-sensing, a regulatory mechanism previously identified to have a major impact on biofilm development. These findings identify PSMs as the effector molecules of quorum-sensing dependent biofilm structuring and dispersal in staphylococci and give important new insight into biofilm development, an important prerequisite for potential avenues to develop anti-biofilm drugs.

### 551. QseC inhibitors as a novel anti-virulence therapy

Vanessa Sperandio\*

\*Departments of Microbiology and Biochemistry,  
UT Southwestern Medical Center, Dallas, TX, USA.

Many bacterial pathogens exploit cell-to-cell signaling between the microbial flora and the host as a means to gage and recognize the host environment. This inter-kingdom signaling is predicated upon hormonal communication, and utilizes the host epinephrine and/or norepinephrine (NE) stress hormones and a bacterial aromatic hormone-like signal named autoinducer-3 (AI-3). This communication relies on a conserved membrane sensor, QseC, to sense and respond to these signals to initiate a complex signaling cascade to promote expression of virulence factors. Of note this signaling cascade is widespread in bacteria. We have also shown that inhibition of this signaling pathway, specifically the QseC sensor, by small molecules constitutes a novel and exciting approach to develop therapeutic strategies to hamper bacterial infections. Because QseC is clearly essential for the activation of the virulence in many bacterial pathogens, and mammals do not harbor HKs, inhibitors of bacterial HKs are attractive potential novel therapeutics due to their selective toxicity. We have screened UT Southwestern's 150,000 small molecule chemical library and, from the initial hits, developed a remarkably potent small molecule antagonist to QseC (lead compound LED209). This compound is highly selective for the bacterial QseC receptor, not acting in mammalian adrenergic receptors, and is non-toxic to mammalian cells. LED209 (at a concentration of only 5pM) effectively blocks QseC recognition of epinephrine and norepinephrine, successfully blocks virulence gene expression and pathogenesis in EHEC, *S. typhimurium* and *F. tularensis* *in vitro* and *in vivo* (during animal infections), but do not interfere with pathogen growth, which leads to a milder evolutionary pressure towards development of drug resistance. This is a novel approach to antimicrobial drug development, QseC antagonists confuse or obfuscate signaling between bacteria and the host, and unlike antibiotics, do not kill or hinder bacterial growth. Hence, QseC antagonists should be viewed as blockers of pathogenicity (anti-virulence drugs) rather than as antimicrobials. There is an imminent need for development of novel treatments for infectious diseases, given that one of the biggest challenges to medicine in the foreseeable future is the emergence of microbial antibiotic resistance. The rapid mutation rate of bacteria allows them to develop resistance to virtually all known antibiotics. This threat to humans and their food sources is immediate, global and potentially catastrophic.

### 552. Potentially pathogenic nontuberculous mycobacteria (NTM): Their occurrence in food and their putative role inside macrophages

Jorge A. González-y-Merchand\*

\*Depto. de Microbiología, ENCB, Instituto Politécnico Nacional.

Recently human illness due to nontuberculous mycobacteria (NTM) have increased worldwide, but the sources of transmission have not been well established. Furthermore, the mechanisms that these species use to infect and persist inside their host are not well characterised. As the street food industry plays an important role in developing coun-

tries like Mexico and other Latino-American countries, where up to 20 to 25% of household food expenditure is acquired outside the home and some segments of the population depend entirely on street food, the aim of this study was to determine the frequency of occurrence of NTM in ready-to-eat (RTE) food in Mexico City, taking as the framework of reference, the microbiological quality of those samples.

In parallel, we conducted a study using different NTM species to elucidate their ability to infect, persist, and proliferate inside their main host cell, the macrophage. To gain insight concerning this process we used human macrophages infected with *M. abscessus*, *M. fortuitum*, and *M. celatum* and found that slow-growing mycobacteria gained entrance into these host cells with more efficiency than fast-growing mycobacteria. In contrast, fast-growing mycobacteria destroyed the cells and induced high levels of ROS. In some cases, the intracellular survival of mycobacteria and the immune response that they induce in macrophages could be related to their growth rate.

On the other hand, we evaluated the microbiological quality and the occurrence of NTM in several kinds of chilli sauces, salads and sprouts, and found that most of samples had unsatisfactory microbiological quality and some harbored NTM associated with illness, such as *M. fortuitum*, *M. avium*, and *M. abscessus*, among others. Furthermore, no correlation between the presence of coliforms and NTM was found. These results suggest that RTE-sauces, RTE-salads and RTE-sprouts might function as vehicles for NTM transmission in humans.

### 553. Desafío de las pruebas moleculares en la identificación de micobacterias

Marcela Salazar\*, Juan Manuel Anzola†, Clarissa Granja\*

\*ADN Análisis LTDA Bogotá Colombia.  
†Corporación CorpoGen, Bogotá, Colombia.

Non Tuberculous Mycobacterium (NTMB) are a group of environmental acid-fast bacilli that can infect immunocompetent and immunocompromised humans and animals. NMTB are prevalent in post-surgical and catheter-related infections. Identification of the specific agent is important to determine their appropriate treatment, to evaluate their prognosis and for epidemiological studies. Diagnosis of NTMB is still mainly based on culture and biochemical tests. Although molecular commercial tests and several publications are available, most of the methods are too expensive for routine testing. Moreover, their sensitivity decreases by extracting DNA directly from clinical samples and, in some cases, the result interpretation is challenging. To develop PCR-based tests for the diagnosis of NMTB we have to consider: (i) that diverse affected tissues, such as bone, fluids, sputum, biopsies, lymphoid tissue, skin, suppurative lesions and granulomas among others, will prevent the use of a universal protocol for DNA extraction; (ii) that more than 150 NTMB species were described and, at least, 100 of them were isolated from human tissues, and (iii) that several targets, such as 16S rRNA gene, heat shock protein 65 (hsp65) gene, the b subunit of the RNA polymerase (rpoB) gene and the 16S-23S internal transcribed spacer (ITS) have been used for diagnostics, there is not a single molecular target that discriminate among the NTMB species. The design of a PCR based method for the detection and genotyping of NTMB must be based on these two premises; the first is to determine whether the sample is positive or negative for the NMTB and the second one, is genotyping the positive NTMB samples. By using this approach, we can reduce the diagnostic cost, in comparison with commercial kits, and make it available for developing countries.

### 554. Perspectivas, retos y oportunidades de nuevas tecnologías en el diagnóstico microbiológico

Patricia Del Portillo\*

\*Corporación CorpoGen. Bogotá, Colombia.

Nuestra visión del mundo microbiano incluido el de los patógenos humanos ha cambiado radicalmente en los últimos años. El concepto tradicional de un determinado microorganismo causante de una enfermedad determinada ha sido reevaluado gracias al desarrollo de nuevas tecnologías que han mostrado la complejidad del mundo microbiano. Las ciencias conocidas como OMICAS: genómica, transcriptómica, proteómica y más reciente metabolómica, unidas con avances tecnológicos en otras disciplinas, como física e ingeniería, han dado paso a nuevos campos como la

nanotecnología, abriendo nuevas posibilidades en el desarrollo de diagnósticos microbiológicos. Estos nuevos desarrollos presentan grandes oportunidades y grandes retos no solo a los microbiólogos clínicos sino a los sistemas de salud, especialmente en los países en vías de desarrollo.

Durante esta conferencia abordaremos algunas de las nuevas tecnologías como son: secuencia masiva y su utilidad en identificación, resistencia y epidemiología; paneles multi-diagnóstico basados en PCR; desarrollos en nanotecnología, microfluídica y MALDI-TOF, entre otras. Sin embargo, también se pondrá de manifiesto durante la charla una de las grandes preocupaciones de varias entidades dedicadas a salud global, quienes han mostrado que las herramientas diagnósticas actuales no cumplen con las necesidades de los países menos desarrollados y han iniciado un movimiento para mover el diagnóstico hacia una plataforma tecnológica común, tipo Point of Care, que pueda ser utilizada no solo por grandes laboratorios y personal capacitado, sino que pueda llegar a lugares remotos sin una sofisticada infraestructura y personal de apoyo. Este llamado de las grandes agencias representa una gran oportunidad para los investigadores de nuestros países. El conocimiento acumulado por años en enfermedades prevalentes en nuestra región como por ejemplo, tuberculosis o malaria, puede llevar a la identificación de biomarcadores específicos que posteriormente puedan ser empleados en diagnósticos tipo POC. Para lograrlo, nuestros países necesitan aunar esfuerzos, invertir en proyectos en red y brindar las condiciones para que estas nuevas tecnologías no sean solamente importadas sino que nuestros científicos sean parte de estos desarrollos.

### 555. Progress Toward a Human Vaccine Against Coccidioidomycosis

Chiung-Yu Hung\*, Garry T. Cole\*

\*Department of Biology and South Texas Center for Emerging Infectious Diseases, University of Texas at San Antonio, San Antonio, Texas, USA.

Coccidioidomycosis (San Joaquin Valley fever) is a human respiratory disease caused by a soil-borne mold and is recognized as an intransigent microbial infection by physicians who treat patients with the potentially life-threatening, disseminated form of this mycosis. Results of epidemiological studies based on surveys of skin-test reactivity of people who reside in the endemic regions of Southwestern United States estimate that at least 150,000 new infections occur annually. Escalation of symptomatic infections and increased cost of long term antifungal treatment warrant a concerted effort to develop a vaccine against coccidioidomycosis. Recent data suggest that a vaccine against pulmonary *Coccidioides* infection should be designed to induce Th17 cells. Studies of the signal pathways required for T-cell immunity have revealed that induction of both MyD88- and Card9-mediated Th17 responses are essential for vaccine immunity against coccidioidomycosis. We seek to enhance Th17-cell response with glucan particles (GPs) as a subunit vaccine adjuvant and delivery platform. GPs activate Dectin-1/Card9-mediated signal pathways and the alternative pathway of complement that leads to deposition of opsonic C3 fragments. Our results have shown that a subunit vaccine plus CpG entrapped in GPs induces a more potent Th1 and Th17 immune response compared to antigen admixed with CpG. Our current effort is to explore a formulation of adjuvant incorporated into the GP delivery system which can augment Th17 immunity and enhance the protective efficacy of a subunit vaccine against *Coccidioides* infection.

### 556. Nuevas tecnologías para el desarrollo de vacunas antivirales

Juan Carlos Zapata J.\*

\*Institute of Human Virology, University of Maryland School of Medicine, Baltimore, Maryland, United States of America.

Desde su uso inicial en China, once siglos atrás, pasando por su redescubrimiento en occidente ocho siglos después, y hasta la fecha, las vacunas han sido una de las medidas epidemiológicas de prevención más exitosas contra las enfermedades infecciosas. Mediante la utilización de microorganismos completos (vivos o atenuados), partes de ellos, o modificaciones de sus componentes, aprendimos a entrenar el sistema inmune contra la invasión de agentes patógenos. Las primeras vacunas consistían de preparaciones virales bastante crudas. Luego, a medida que fuimos descubriendo la naturaleza de los microorganismos, su manera de producir enfermedad y como responde el cuerpo humano a ellos, se ha ido perfeccionando la manera de producir vacunas.

Las nuevas herramientas para el estudio de los virus, la biología molecular y la bioinformática, permiten ahora proponer formas tan novedosas de construir vacunas que parecen sacadas de la ciencia ficción. El objeto de esta charla es mostrar algunos de los sistemas más novedosos para la fabricación de vacunas contra virus. Entre ellos discutiremos los virus recombinantes, el uso de codones poco frecuentes, la construcción de antígenos en su conformación nativa y virus suicidas. Aunque han sido desarrolladas para combatir enfermedades virales, estas tecnologías también pueden ser aplicadas para la inmunoprevención de otras enfermedades incluyendo aquellas de origen no infeccioso como el cáncer por ejemplo.

### 557. Predicción de nuevos medicamentos para Leishmaniasis empleando métodos computacionales

Carlos Muskus L.\*

\*Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales. PECET. Univ. de Antioquia. Medellín, Colombia.

Nuevas opciones terapéuticas para el tratamiento de la *Leishmaniasis* son una necesidad urgente debido a los efectos severos que pueden ocasionar. Estos pueden ir desde leves a moderados incluida la muerte, y además por la incrementada resistencia de los parásitos al medicamento de primera opción. Varias estrategias computacionales se han establecido en nuestro laboratorio que van desde la generación de redes de interacción para mapear proteínas esenciales del parásito, hasta el empleo de docking masivo e inteligencia artificial y predicción de medicamentos basado en análisis de homología y estructural.

Empleando redes de interacción logramos detectar 136 proteínas esenciales en el proteoma de *Leishmania* y varias de estas fueron usadas para la predicción de medicamentos empleando herramientas de inteligencia artificial. Basado en inteligencia artificial se predijeron 39 compuestos con potencial actividad anti-*Leishmania*. Adicionalmente, empleando docking logramos evaluar 600.000 moléculas contra 583 estructuras correspondientes a proteínas de *Leishmania*. Mediante docking hemos logrado identificar más de 50 compuestos con buena afinidad predicha por la proteína blanco y que podrían tener acción contra proteínas esenciales en el metabolismo de *Leishmania*. Finalmente, empleando análisis de homología mediante Blastp logramos predecir 147 medicamentos con potencial actividad anti-*Leishmania* en los tres proteomas de *Leishmania* evaluados, y posterior análisis estructural permitió depurar aún más estos medicamentos. Varias de estas moléculas o medicamentos están siendo probados *in vitro* y algunos ya *in vivo* en modelos animales.

### 558. A computational approach for the identification and analysis of transcription factor genes in Stramenopiles

Diego Mauricio Riaño-Pachón\*, Francisco Buitrago†, Silvia Restrepo†

\*Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol (CTBE), Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM), Campinas/SP, Brazil. †Depto. de Ciências Biológicas, Univ. de los Andes, Bogotá D.C., Colombia.

The Stramenopiles are a very diverse ensemble of organisms, including multicellular seaweeds and tiny unicellular species, and also many ecologically important autotrophic (e.g., diatoms, brown algae), and heterotrophic (e.g., oomycetes) groups. In this study we were interested in analysing the evolutionary patterns of transcription associated proteins (TAPs) in Stramenopiles. TAPs are of interest as it has been shown many times their importance in the generation of new body plans, i.e., biodiversity. In other words we were particularly interested in understanding how TAPs may contribute to the observed diversity in Stramenopiles.

We have applied a computational approach that exploits the domain architecture of protein sequences in order to identify and classify 74 TAP families, of which 63 are transcription factor (TF) families, i.e., they interact with the DNA in a sequence specific manner, and additional 11 families belong to the superclass "Other transcriptional regulators" (TR), that participate in the regulation of transcription but do not bind to DNA in a sequence specific manner. We detected families that were positively correlated with phenotypic traits such as number

of flagella and number of cell types during the life cycle, or that were enriched in autotrophic or heterotrophic species, thus revealing distinct patterns of TAP evolution that paved the way to develop these features.

### S59. Explorando la estabilidad de proteínas de parásitos a través de Dinámica Molecular

María Luisa Serrano\*

\*Unidad de Química Medicinal, Facultad de Farmacia, Univ. Central de Venezuela, Caracas 1040, Venezuela. Contacto: maria.serrano@ucv.ve

Los métodos de Dinámica Molecular (DM) se utilizan como parte integral en el estudio de la estructura y función de biomoléculas, en conjunto con técnicas experimentales y teóricas como el modelado de proteínas por métodos comparativos.

En este estudio, se ha abordado el modelado por homología y DM, a saber: la caracterización estructural de proteínas de *Leishmania*, entre ellas la 6-fosfogluconato deshidrogenasa (6PGDH). Recientemente reportamos su inestabilidad; el análisis del modelo preliminar (obtenido por homología con Tb6-PGDH) permitió sugerir su potencial como blanco terapéutico. Análisis de la estructura 3D de las enzimas de *T. cruzi* y *T. brucei* y el modelo de Lm6-PGDH muestra diferencias significativas en la región C-terminal, involucrada en las interacciones de puente salino que mantienen unidas ambas unidades del dímero, forma activa de la enzima y, además, se pudo relacionar los puentes salinos con su inestabilidad cinética.

Utilizamos DM, para verificar la presencia (o ausencia) de los puentes a partir del seguimiento en el tiempo de distancias entre los átomos involucrados. Se pudo verificar que dos de ellos, los pares 3 y 4, son un par iónico de largo alcance; cabe esperar que esta enzima pierda estabilidad pues son estos pares iónicos los que se ubican cerca del sitio activo. La caracterización estructural de proteínas de *Plasmodium*, una helicasa DEAD box de *P. vivax* con el propósito de realizar la búsqueda de inhibidores, empleando estrategias computacionales. Se obtuvo un modelo preliminar de la helicasa por homología con la DEAD box DDX3X humana, refinado con DM en condiciones periódicas de contorno con solvente explícito. Se analizaron diez conformeros de la trayectoria con el propósito de seleccionar el que se utilizara para el tamizado virtual.

### S60. Updates on the mechanism of induction of class C betalactamase in *Pseudomonas*. Role of the LMW-PBPs

Alaa Ropy\*, Gabriel Cabot†, Irina Sánchez-Diener†, Cristian Aguilera\*, Bartolome Moya†, Juan A. Ayala I, Antonio Oliver†

\*Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa", CSIC-UAM, Madrid, Spain. †Servicio de Microbiología and Unidad de Investigación. Hospital Universitario Son Espases, Instituto de Investigación Sanitaria de Palma (IdISPa), Palma de Mallorca, Spain.

This study aimed to characterize the role of *Pseudomonas aeruginosa* Low Molecular Mass- penicillin-binding proteins (LMM-PBPs), PBP4 (DacB), PBP5 (DacC) and PBP7 (PbpG), in peptidoglycan composition,  $\beta$ -lactam resistance and *ampC* regulation. For this purpose, we constructed all single and combined mutants of *dacB*, *dacC*, *pbpG* and *ampC* in PAO1 strain which were tested for their peptidoglycan composition by HPLC analysis, *ampC* expression by RT-PCR, their PBPs patterns by Bocillin-FL binding test and their antimicrobial susceptibility through the determination of the MICs for a panel of  $\beta$ -lactams. Microscopy and growth rate analysis revealed no apparent major morphological changes for any of the mutants compared to wild-type PAO1. Of the single mutants, only *dacC* led to significantly increased pentapeptide levels, showing that PBP5 is the major DD-carboxypeptidase in *P. aeruginosa*. Moreover, our results indicate that PBP4 and PBP7 play a significant role as DD-carboxypeptidase when PBP5 is absent together with their inferred DD-endopeptidase activity. As expected, the inactivation of PBP4 lead to a significant increase in *ampC* expression (around 50-fold), but, remarkably, the sequential inactivation of the three LMM-PBPs produced a much further increase (1000-fold) which correlated with peptidoglycan pentapeptide levels. Finally, the  $\beta$ -lactam susceptibility profiles of the LMM-PBPs mutants correlated well with *ampC* expression data. However, the inactivation of *ampC* in these mutants evidenced as well a role of LMM-PBPs, especially PBP5, in intrinsic  $\beta$ -lactam resistance. In summary, in addition to assessing for the first the effect of *P. aeruginosa* LMM PBPs

in peptidoglycan structure, our results represent a step forward in understanding the impact of LMM PBPs in  $\beta$ -lactam resistance, driven by the interplay between their effects on AmpC induction,  $\beta$ -lactam trapping and DD-carboxypeptidase/ $\beta$ -lactamase activity.

### S61. Resistencia antimicrobiana en el género *Klebsiella* y *Acinetobacter* en Cuba: Una lección para aprender

Dianelys Quiñones\*

\*Depto. de Bacteriología-Micología. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", Cuba. Contacto: diany.quinones@infomed.sld.cu

La resistencia bacteriana a los antibióticos crece de forma global aumentando los costos del tratamiento de las enfermedades infecciosas. Mayor dificultad se observa en el ambiente hospitalario donde la ocurrencia de brotes incrementa la transmisión de patógenos resistentes, con mayores implicaciones para el control de infecciones. *Klebsiella pneumoniae* y el Complejo *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* constituyen un desafío clínico terapéutico en la actualidad por lo que se impone una vigilancia sostenida para el control de los mismos. Se realizó un estudio descriptivo en 676 aislamientos de *Acinetobacter* spp. y 567 de *Klebsiella* spp. procedentes de 40 hospitales de Cuba, aislados durante el período 2010-2013. Se determinaron las especies mediante pruebas bioquímicas. Se evaluó la susceptibilidad a diferentes antimicrobianos por el método de E-test según las recomendaciones del CLSI. La detección de BLEE, AmpC plasmídica, metalobetalactamasas se evaluó mediante pruebas fenotípicas y se aplicó la PCR para la detección de los genes blaESBL, blaOXA, blaIMP, blaVIM, blaNDM-1, blaKPC. Se realizó secuenciación de ADN correspondiente a los genes blaNDM-1 y blaKPC. Se constató una elevada prevalencia de *K. pneumoniae* productora de BLEE con predominio de CTX-M sin un clon dominante. Se notificó la emergencia de un nuevo clon mundial (ST1271) productor de KPC-2 en dos provincias del país. *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* (92% de los aislamientos) circula con elevada resistencia a cefalosporinas y carbapenémicos mediada esta última por oxa-23, oxa-24 y oxa-58. La mayor susceptibilidad se muestra para colistina, doxiciclina y tetraciclina. La detección genotípica de metalobetalactamasas reveló el hallazgo de la enzima NDM-1 en una especie inusual del género *Acinetobacter* (*A. soli* causando infección en el humano). Se requiere de acciones inmediatas a niveles nacionales, regionales y de forma global ante la diseminación de patógenos portando fenotipos emergentes de resistencia y la carencia de nuevos antibióticos lo que conducirá a una posible era post-antibiótica.

### S62. Evolución de mecanismos de resistencia en bacterias Gram negativas y su relación con las diversas plataformas "ómicas": Definición del promiscuoma y el adictoma, una perspectiva personal

Gabriel O. Gutkind\*

\*Facultad de Farmacia y Bioquímica-Univ. de Buenos Aires, Argentina. Contacto: ggutkind@ffyb.uba.ar

La resistencia a drogas antibacterianas ha alcanzado niveles en los que se ha transformado en un problema sanitario de alcance global. Históricamente hemos seguido la evolución de la frecuencia con la que diferentes resistencias afectan a nuestras poblaciones de pacientes, en función de las predicciones de éxito o fracaso terapéutico de cada paciente en particular.

Este análisis ha llevado a minimizar el impacto original de mecanismos de resistencia hasta que su frecuencia es considerada significativa, y comienza a tener impacto directo sobre cada institución. Esta minimización hizo que no pueda controlarse efectivamente la penetración, establecimiento, emergencia y endemización de los genes responsables de los hoy reconocidos como mecanismos más relevantes.

Entre los factores que afectan el éxito de un mecanismo de resistencia - o nuestro fracaso en su contención - resulta frecuente su no detección inicial con los métodos recomendados, siendo paradigmática la diseminación de las CTX-M o de diferentes carbapenemasas, donde los métodos inicialmente utilizados consideraban a los microorganismos productores como sensibles.

Es fácil reconocer la importancia de una eficiente hidrólisis del antibiótico para conferir resistencia significativa, pero ésta solo se logra si los niveles de expresión de los genes responsables proveen cantidades suficientes de la enzima en el espacio periplásmico.



A su vez, considerando que la mayor parte de las enzimas clínicamente significativas son de codificación plasmídica, el éxito en el reclutamiento inicial de los genes en plataformas en las que la expresión resulte seleccionable, la incorporación a estructuras más complejas en las que la selección no implique su seleccionador, y la estabilización en plásmidos que no pueden ser perdidos aun en ausencia de agentes seleccionadores (donde los sistemas de adición o "adictoma" parece jugar un papel importante) son cruciales, especialmente en el medio ambiente.

A su vez, muchos plásmidos epidémicos muestran zonas que permiten una amplia recombinabilidad (el "promiscuoma" plasmídico), y la resolución de problemas de incompatibilidad mediante la integración de marcadores para diferentes grupos de incompatibilidad.

### 563. Enterobacterias productoras de BLEE y carbapenemas: Situación en hospitales de Chile

Gerardo González-Rocha\*

\*Laboratorio de Investigación en Agentes Antibacterianos. Facultad de Ciencias Biológicas, Univ. de Concepción, Chile. Barrio Universitario S/N, Concepción. Chile. Contacto: ggonzal@udec.cl

Las cepas productoras de BLEE en hospitales de Chile y el mundo han incrementado considerablemente en las últimas décadas, por lo que habitualmente las infecciones que producen son tratadas con carbapenémicos. Sin embargo, esto ha facilitado la selección de cepas resistentes a estos compuestos, cuyo principal mecanismo de resistencia es la síntesis de carbapenemasas, especialmente en *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, dificultando el tratamiento de las infecciones que ellas producen, ya que además corresponden a cepas multiresistentes.

En los hospitales de Chile las principales especies productoras de BLEE son cepas multiresistentes de *K. pneumoniae* y *E. coli*, y en menor frecuencia *Proteus mirabilis* y *Enterobacter* spp. En la década de los '90 estas enzimas correspondían principalmente a TEM y SHV; sin embargo, esto ha cambiado considerablemente en los últimos años y, actualmente, las BLEE predominantes corresponden a enzimas de la familia CTX-M. El gen *bla*<sub>CTX-M</sub> se ha informado en 96% de las cepas de *K. pneumoniae* y *E. coli*, siendo *bla*<sub>CTX-M-2</sub> el alelo prevalente en *K. pneumoniae* y *bla*<sub>CTX-M-15</sub> en *E. coli*, situación epidemiológica concordante con la realidad Latinoamericana. En todas las cepas de *P. mirabilis* productoras de BLEE, se detectó *bla*<sub>CTX-M</sub> principalmente del grupo 1 y en el 59% de las cepas de *Enterobacter* spp. se detectó este gen.

Hasta el año 2012, en Chile no se había descrito enterobacterias productoras de carbapenemasas, y la resistencia a carbapenémicos, principalmente a ertapenem, se debía a la producción de CTX-M o AmpC asociada a la alteración de una porina. En abril de 2012, se describe el primer aislamiento de *K. pneumoniae* productora de KPC, en un paciente proveniente de Italia, y a la fecha el Instituto de Salud Pública de Chile ha confirmado 26 aislamientos de enterobacterias productoras de carbapenemasas, principalmente *K. pneumoniae* productoras de KPC-2, y en dos cepas NDM-1 y OXA-370, respectivamente. En las cepas productoras de KPC, *bla*<sub>KPC</sub> se encuentra localizado en plásmidos no conjugativos y, en la mayoría de ellas, en la plataforma genética variante 1a Argentina de Tn4401.

### 564. Why we use EUCAST breakpoints to perform antimicrobial susceptibility testing of *Klebsiella pneumoniae* in São Paulo, Brazil?

Jorge Luiz Mello S.\*

\*Hospital Universitario-USP, Faculdade de Ciências Farmacéuticas, USP, Brazil. Contacto: sampaio@usp.br

During the last five years we have seen a continuous rise in the number of infections caused by carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in São Paulo, Brazil, mostly due to KPC-2 production. In 2011 the carbapenem resistance rate of *Klebsiella pneumoniae* isolated from blood culture was 8% and in 2013 it raised to 41%. Unfortunately this trending was also observed with polymyxin B. In 2011 the resistance rate was 1% while in 2013 the resistance rate raised to 11%. Currently, fosfomicin for intravenous use, tigecycline and colistin interpretative criteria far are only available in EUCAST documents. What would we do if EUCAST documents were not available to guide *in vitro* tests for these alternative drugs for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*?

### 565. Diseminación de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) y Resistencia Transferible a Quinolonas (RTQ) en *Klebsiella pneumoniae* y *E. coli* en Uruguay

Rafael Vignoli\*, Virginia García\*, Nicolás F. Cordeiro\*, Inés Bado\*, Verónica Seija†§, Gabriela Algorta||, Lucía Araujo\*, Cristina Babetz||, Gabriel Gutkind\*\*, Alejandro Chabalgoity†

\*Depto. de Bacteriología y Virología. †Depto. de Desarrollo Biotecnológico Inst. de Higiene, Facultad de Medicina, Univ. de la República, Montevideo, Uruguay. ‡Sección Bacteriología, Lab. Central, Hospital Pasteur, Administración de los Servicios de Salud del Estado, Montevideo, Uruguay. §Depto. de Lab. Clínico, Área Microbiología, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Univ. de la República, Montevideo, Uruguay. ||Lab. de Microbiología, Cooperativa Asistencial Médica del Este de Colonia, Uruguay. \*\*Cátedra de Microbiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Univ. de Buenos Aires, Argentina.

La diseminación de genes de resistencia en bacilos Gram negativos es un problema preocupante a nivel mundial. La propagación de clones exitosos, y la presencia de sistemas de adición (SA) en plásmidos de resistencia podría favorecer este fenómeno. Su objetivo es caracterizar las BLEE y RTQ en aislamientos de *E. coli* y *K. pneumoniae*. Analizar la relación clonal de dichos aislamientos. Determinar los grupos de incompatibilidad y SA de los plásmidos conjugativos portadores de BLEE.

Se estudiaron 40 aislamientos clínicos de *K. pneumoniae* + 72 de *E. coli* portadores de BLEE obtenidos de tres centros hospitalarios de adultos y uno de niños y 33 aislamientos de *K. pneumoniae* y 12 de *E. coli* de colonización orofaríngea de una UCI en Uruguay, entre 2009 y 2011. Identificación bacteriana, sensibilidad a antibióticos y detección de BLEE se realizó mediante Vitek2 System. La detección de BLEE y RTQ se realizó por PCR y secuenciación. La relación clonal se llevó a cabo mediante PFGE y MLST de aislamientos seleccionados por pulso tipo.

Resultado: 105/157 (66,8%) aislamientos fueron *bla*<sub>CTX-M-15</sub><sup>+</sup>, 23 *bla*<sub>CTX-M-27</sub>, 30 otras CTX-M y 11 otras BLEE, en 12 casos se detectaron 2 BLEE.

En 100/157 (64%) se detectó al menos un gen de RTQ. El 75% de las cepas portadoras de *bla*<sub>CTX-M-15</sub> pertenecieron a los secuenciotipos ST258, ST48, ST14 de *K. pneumoniae* y ST131 y ST405 de *E. coli*.

La presencia de CTX-M-14 y 15 se asociaron a SA (p=0.03), la primera a *pndAC* (p<0.001) en plásmidos IncI1 y la segunda a *ccdAB* (p<0.001) en plásmidos sin grupo de incompatibilidad identificado. CTX-M-2 se asoció a plásmidos IncA/C (p<0.001) sin SA (p=0.004).

En conclusión la diseminación de *bla*<sub>CTX-M-15</sub> podría entre otros factores relacionarse a la diseminación de clones exitosos y a la asociación a SA, mientras que *bla*<sub>CTX-M-14</sub> se diseminaría de forma policlonal asociada a plásmidos IncI1 portando *pndAC*.

### 566. *Acanthamoeba* el nuevo Caballo de Troya del mundo microscópico

C. del Aguila\*, A. Magnet\*, MS. Fenoy\*

\*Laboratorio de Parasitología, Facultad de Farmacia, Univ. San Pablo CEU, España.

Las Amebas de Vida Libre (AVL) como *Naegleria*, *Acanthamoeba* o *Balamuthia mandrillaris* se consideran como patógenos humanos emergentes, en los que la transmisión hídrica juega un papel fundamental aunque no exclusivo. Las AVL son cosmopolitas, encontrándose en ecosistemas muy diversos debido a su elevada resistencia ambiental y a los desinfectantes que presentan sus quistes.

Entre ellas destaca *Acanthamoeba* como agente causal de la Encefalitis Granulomatosa Amebiana (EGA) en población con algún tipo de debilitamiento, y de la Queratitis Amebiana (QA), fundamentalmente en individuos portadores de lentillas. Sin embargo, desde su implicación en salud humana en 1972, su popularidad ha aumentado de forma exponencial apoyada tanto en el cada vez más frecuente diagnóstico de casos de QA, como en el descubrimiento en 1980, de su capacidad para actuar como reservorio de diferentes microorganismos incluyendo *Legionella pneumophila*. De esta forma se ha producido un incremento exponencial en el número de publicaciones relacionadas con *Acanthamoeba* y recogidas en PubMed que han pasado de 10 en 1972, a 40 en 1980 y a más de 200 en 2013.

Actualmente existen numerosas evidencias de la interacción de *Acanthamoeba* con otros organismos entre los que se encuentran virus, bacterias, hongos e incluso protozoos, cuyo resultado puede ser simbiótico o llevar a la destrucción de *Acanthamoeba* o del otro organismo.

De hecho *Acanthamoeba* se describe como un protozoo bacteriófago capaz de controlar las poblaciones bacterianas del suelo encontrándose fundamentalmente en la interfaz aire-agua donde puede alimentarse de una gran variedad de bacterias. Dentro de los endosimbiontes de *Acanthamoeba* se han descrito bacterias relacionadas con *Archea*, con *Chlamydia* e incluso con *Rickettsias* tanto en muestras ambientales como clínicas. Destacando la detección incluso de bacterias no cultivables y de alto poder patógeno para el hombre como *Legionella*. En este caso hay que mencionar que se ha observado que las bacterias que han sido capaces de crecer dentro de las amebas han aumentado su patogenicidad para el hombre y son más resistentes a los agentes biocidas.

Adicionalmente se ha observado que hongos como *Cryptococcus neoformans* son capaces de sobrevivir y reproducirse en *Acanthamoeba*, llegándose a sugerir que la virulencia de este hongo en las células de mamífero que infecta es una consecuencia de su adaptación previa a los depredadores ambientales como *Acanthamoeba*. En lo que respecta a los virus, esta ameba se ha comportado como reservorio de adenovirus, enterovirus y mimivirus con posibles implicaciones en salud humana. Así por ejemplo el virus *Coxsackie* es capaz de sobrevivir tanto en el interior del quiste como del trofozoito de esta ameba y puede ser productor de meningitis, miocarditis y otras infecciones en el hombre.

Por todo ello, y debido fundamentalmente a su capacidad de aumentar la patogenicidad de diferentes microorganismos incluyendo *Legionella*, así como de facilitar su entrada en diferentes hospedadores ha hecho que se reconozca a esta ameba como el "Caballo de Troya del mundo microbiano", ya que su presencia puede dar lugar a infecciones mixtas o bacterianas/fúngicas o víricas secundarias a la patología protozoaria. Agradecimientos. Este trabajo ha sido soportado por el Proyecto: PI12/02725 del FIS, FEDER, Fundación Universitaria San Pablo CEU. AM por la beca FPU AP2009-0415.

### S67. Aplicación de la genómica y transcriptómica en parásitos no modelo: Estudio de un protozoo y un helminto

Juan Fernando Alzate R.\*

\*Depto. de Microbiología y parasitología. Facultad de Medicina. Univ. de Antioquia. Contacto: juanfar4@yahoo.com

La genómica ha permitido avanzar muy rápidamente en el estudio detallado de los seres vivos gracias a los constantes desarrollos en estas tecnologías y la acelerada disminución en sus costos. Lo anterior ha facilitado su aplicación en muchos países y a un sinnúmero de problemas biológicos. En Latinoamérica igualmente esta tecnología ha ganado terreno y países como Brasil y México lideran este tema. Uno de los aspectos más importante a resaltar es que estas tecnologías se han podido aplicar regionalmente a parásitos endémicos que no son modelos tradicionales de investigación, aquellos que por ejemplo no son cultivables *in vitro*. En este trabajo se presenta el estudio genómico completo de *Cryptosporidium hominis* aislado directamente de las heces de un humano infectado en Colombia y el transcriptoma por RNAseq de las larvas L2 de *Toxocara canis* aislados igualmente en Colombia. En el primer trabajo se obtuvo el genoma completo (454/illumina) de un aislado humano colombiano de *C. hominis* en 124 contigs ensamblados *de novo* con un N50 de 153.969 bases y una profundidad media de 68X. Posteriormente se ordenaron los contigs (scaffolding) según el genoma de referencia de *C. parvum* obteniendo un total 9.1 Mb en los 8 cromosomas reportados del parásito. Se lograron anotar un total de 3.777 CDS y se identificaron un total 10.398 SNPs con el genoma de referencia de *C. hominis* (TU502) y 151.964 con el de *C. parvum* (lowall). Igualmente se identificaron múltiples inserciones y deleciones que llegaron hasta los 16 kbp y 19kbp, respectivamente.

En el segundo trabajo presentamos los resultados preliminares del estudio del transcriptoma por RNAseq de larvas L2 de *Toxocara canis* obtenidos a partir de huevos eclosionados *in vitro* y que a su vez fueron obtenidos de una hembra fecundada aislada de un perro en la ciudad de Medellín. Los 714.128 reads (454) obtenidos fueron ensamblados en un total de 53.313 contigs con una media de 742 bases y un máximo de 10.918b. El total de bases en contigs es del 39,6 Mb y su contenido de GC es de 42.8%. Preliminarmente hemos logrado identificar alrededor de 15.000 CDSs los cuales muestran altas frecuencias de dominios tipo tirosina kinasa y lectinas C-type. Resultados que coinciden con estudios previos mas superficiales hechos sobre librerías de cDNA y secuenciamiento capilar.

Esta información nos permite avanzar en el entendimiento de las poblaciones de estos parásitos en nuestros países y sus adaptaciones a nuestras condiciones biogeográficas. Asimismo, es de gran valor biológico

el hecho de que ambas muestras biológicas provengan directamente de parásitos circulantes en los hospederos naturales. En el caso de *C. hominis*, la cepa de referencia TU502 fue aislada de un niño infectado en Uganda pero ha sido propagada en cerdos y terneros antes de ser secuenciada. Esta condición podría afectar la cepa aislada ya que se pudieron seleccionar adaptaciones para favorecer la infección en estos otros mamíferos.

### S68. Molecular epidemiology of *Blastocystis* subtypes in Latin-America

Juan David Ramírez\*

\*Unidad Clínico-Molecular de Enfermedades Infecciosas (UCMEI). Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas. Univ. del Rosario. Contacto: juand.ramirez@urosario.edu.co

*Blastocystis* is a common enteric protist colonizing probably more than 1 billion people along with a large variety of non-human hosts. This protist has been linked to symptoms and diseases such as abdominal pain, constipation, diarrhea, flatulence and irritable bowel syndrome (IBS). Remarkable genetic diversity has been observed, leading to the subdivision of the genus into multiple subtypes (ST), some of which are exclusively found in non-human hosts. Today, at least 17 genetically distinct SSU rRNA clusters are known, 8 of which have only been found in non-human hosts (Alfellani et al., 2013). In humans, subtypes 1 through 9 occur with varying frequency. STs 1, 2, 3 and 4 are all common in Europe. While ST1, ST2 and ST3 seem to be equally prevalent in patients with diarrhea and healthy individuals, ST4 appears to be linked to diarrhea and/or irritable bowel syndrome (IBS) in Europe (Stensvold et al., 2011 and Alfellani et al., 2013). There is only limited data on *Blastocystis* STs in South America. Human colonization with STs 1, 2 and 3 appears common (Santín et al., 2011 and Malheiros et al., 2011), while ST4 has not been detected in humans so far. The finding of ST4 in non-human primates in Colombia suggests that ST4 exists in South America, at least in sylvatic cycles. To provide more information about the distribution of *Blastocystis* STs in Colombia. We obtained fecal samples positive for *Blastocystis* by microscopy from 277 humans, 52 birds, and 117 mammals (25 cattle, 40 opossums, 40 dogs, 10 rats and 2 howler monkeys). The samples were submitted to DNA extraction, PCR and sequencing using primers targeting the small subunit rRNA gene, and ST identification was performed according to DNA barcoding. We observed the occurrence of ST1 (34%) and ST2 (23%) and lower proportions of STs 3 (11.4%), 4 (0.8%), 6 (19.8%) and 8 (10.5%). Domesticated mammals shared the same STs as those usually seen in humans (ST1, ST2, ST3), while birds and marsupials had STs, which are usually rare in humans (ST6, ST8). To provide more information about the distribution of *Blastocystis* subtypes in Latin-America, we sampled humans from Colombia, Bolivia, Ecuador, Peru, Brazil and Argentina. The samples were submitted to DNA extraction, PCR and sequencing using primers targeting the small subunit rRNA gene, and ST identification was performed according to DNA barcoding. We observed the occurrence of ST1 and ST2 and lower proportions of STs 3, 4, 6 and 8. Further studies implementing high-resolution molecular markers are necessary to understand the phylogenetics of *Blastocystis* transmission and the role of this stramenopile in health and disease in Colombian populations, and to expand on the phylogeographic differences observed so far with a view to exploring and understanding host-parasite co-evolution.

### S69. Microbiology of hydrogen producing reactors: Who drive the process?

Claudia Etchebehere\*

\*Laboratorio de Ecología Microbiana, Depto. Bioquímica y Genómica Microbiana, Instituto Clemente Estable, Montevideo, Uruguay. Contacto: cetcbehere@iibce.edu.uy

Hydrogen is a new source of clean energy that can be produced via anaerobic digestion during the treatment of wastes. To produce hydrogen it is necessary to inhibit the hydrogen consuming processes (methanogenesis and homoacetogenesis) and select the hydrogen producing fermenters. For that, several sources of inocula and different pretreatment (thermal shock, addition of acid or base, addition of inhibitors or biokinetic control of the population) have been used. The microbial community also depends of the reactor operation conditions as configuration, biomass concentration, pH, temperature, type and concentration of substrate, organic loading rate (OLR) and hydraulic re-

tention time (HRT). Although the process is feasible, the yields obtained are far from optimum and the process has low stability.

In order to find solutions to these problems we study the microbiology of hydrogen producing reactors operated under different conditions. We apply different molecular approaches (16S rRNA T-RFLP and pyrosequencing and q-PCR) to understand how the communities evolve. We also isolate the predominant microorganisms and study their physiological role.

Our results showed that, in general, three groups of organisms are selected in the reactors: the high yield hydrogen producers as *Clostridium* and *Enterobacter*, the low yield hydrogen producers as propionic producing bacteria and the competitors or inhibitors as lactic acid bacteria. The interaction between the three physiological groups is the key to understand the stability of these reactors.

In an effort to deepen understand the microbiology of the hydrogen production process researchers from four different countries from Latin America decided to analyze the microbiology of lab scale bioreactors operated in different conditions which presented different performances. 30 samples were selected and the microbial populations were studied using 454 pyrosequencing of 16S rRNA genes. The microbial populations were compared and related to the different reactors operational conditions, hydrogen yield, metabolite compositions and process stability. Acknowledgements. Project ANII FSE 6437, project ANII FCE 7062.

### 570. Anaerobic sulfate-reducing bacteria in a copper filter treatment system

Marta Alejandra Polti\*

\*Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI), CONICET. Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo, Univ. Nacional de Tucumán, Argentina. Contacto: mpolti@proimi.org.ar

Remediation technologies involve any operation that decrease toxicity, volume, or mobility of hazardous waste or pollutants by the use of physical, chemical and/or biological processes. Bioremediation has advantages over conventional treatments, allowing mineralization or conversion into harmless substances of a variety of contaminants; also, it can be applied at the affected site, has low installation and operating costs, is easy to use and technologically effective. Different microorganisms, viable or not, and/or cellular components may be used in these processes.

The metallurgical and mining industries are the main source of heavy metal pollution of rivers and lakes. It is imperative to remove metals from their effluents.

Microorganisms can change the redox state of metals such as Cu, by direct (enzyme) or indirect processes (through reduction of iron sulfate reduction/sulfur or sulfur oxidation), therefore, a key factor that decides applying bioremediation strategies is the bioavailability of an electron donor that can be used in metal reduction.

Sulfate reducing bacteria are able to catalyze, under anaerobic conditions, the sulfate reduction using organic compounds as electron donors, producing the bioprecipitation of metal as sulfides, which generally are stable solids. However, this process is influenced by the presence of other pollutants, metals or organic, in watercourses, which affect the acidity of the medium. In addition, sulfate-reducing bacteria are strictly anaerobic and usually are very sensitive to environmental oxygen, dying after exposition. In oxygenated environments, like the surface of water bodies and neighboring sediments, aerobic microorganisms can be used to complement the process. Actinobacteria are aerobic prokaryotic organisms. Their metabolic diversity and particular growth characteristics, mycelial form and relatively rapid colonization of selective substrates, indicate them as well suited agents for bioremediation of metal and organic compounds. They can reduce or uptake metals. A combination of treatments will ensure a successful process.

### 571. A biotecnologia no Brasil

Adalberto Pessoa Junior\*

\*FCF/USP, Brasil.

A biotecnologia no Brasil possui algumas áreas de destaque, como a agricultura e a produção de etanol. No entanto, ainda há importantes desafios a serem atingidos, sobretudo criar modelos de financiamento que possam suprir a demanda por pesquisas e projetos e formar uma estrutura que dê suporte para o processo pesquisa/produto. Setor financeiro, de marketing, de patentes, contratos, assuntos regulatórios e pesquisa devem estar des-

envolvidos, firmes, estáveis no país. No Brasil, há apenas 1 patente para cada 1,8 milhão de habitantes. Além de etanol, o Brasil tem investido em biotecnologia na área da saúde, que vem se concentrando na criação de pequenas empresas. Outra característica da biotecnologia brasileira é a concentração da indústria nas regiões sudeste e sul, sobretudo nos Estados de São Paulo (40,5% do total) e Minas Gerais (24,5%). Temos que 39,7% das empresas são voltadas para saúde humana, 14,3% para saúde animal, 9,7% para agricultura e 14,8% para bioenergia e ambiente. A maioria das indústrias são jovens, pois 63% foram fundadas após o ano de 2000. As empresas de biotecnologia contratam profissionais altamente especializados, sendo 40% com doutorado e 20% com mestrado. Outro dado importante é que 95% das empresas possuem vínculos com universidades ou centros de pesquisa e 78% utilizam recursos públicos. O crescimento da área de Biotecnologia Microbiana pode ser medido pelo número de patentes que vem sendo depositadas. Processos de fermentação ou que utilizem enzimas representam um total de 25,62% do total de patentes em biotecnologia, enquanto que processos de medição ou ensaio envolvendo enzimas ou micro-organismos representam 18,15%. Concluímos, portanto, que o Brasil possui áreas de destaque como a de bioenergia e agricultura. Além disso, as outras áreas da biotecnologia (saúde humana e animal) têm mostrado grande potencial de crescimento. Agradecimento. FAPESP (2013/08617-7).

### 572. Multirresistencia en bacilos Gran negativos una alerta de Salud Pública Mundial

Marcelo Galas\*

\*Bacteriología. INEI-ANLIS Dr. C. Malbrán. Ministerio de Salud. Argentina.

La resistencia a los antimicrobianos es un fenómeno inevitable asociado al uso de antibióticos y a la extraordinaria capacidad bacteriana para evolucionar hacia la resistencia. El uso de los antimicrobianos en la actualidad no se restringe solo al tratamiento de infecciones en humanos sino que se utilizan, además, en cantidades iguales o superiores en la producción de alimentos, especialmente de origen animal. Esto último conduce a la emergencia de resistencia en bacterias animales que se transmiten al ser humano a través de la cadena alimentaria. Los bacilos Gran negativos especialmente las enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* spp., representan cerca del 60% de las infecciones en humanos además de estar ampliamente distribuidas en el medio ambiente. Las últimas décadas fueron marcadas por un alarmante aumento de la resistencia en estos patógenos a los distintas clases de antimicrobianos disponibles. La situación se ve agravada por la disminución del desarrollo de nuevos antibióticos por parte de la industria. Esto compromete seriamente la resolución de procesos infecciosos y aumenta la morbi-mortalidad en la población. Los mecanismos de mayor impacto son los que afectan a los antibióticos betalactámicos (penicilinas, cefalosporinas, monobactams y carbapenems), fluoroquinolonas, aminoglucósido. Entre los mecanismos de resistencia a los antibióticos betalactámicos están la producción de betalactamasas de espectro extendido, betalactamasas tipo AMP-C y carbapenemasas. En el caso de las fluoroquinolonas, las mutaciones en las ADN girasas, inactivación enzimática de la droga, protección de las ADN girasas de la acción de las quinolonas y las bombas de eflujo. Para los aminoglucósidos, las enzimas inactivantes y las metilasas ribosomales son los mecanismos más importantes. Para disminuir el impacto de esta situación es imprescindible contar un diagnóstico clínico rápido y de calidad así como la aplicación de los conceptos de farmacocinética y farmacodinamia de los antibióticos para la optimización del tratamiento de los procesos infecciosos.

### 573. Efecto de los contaminantes ambientales y la biorremediación sobre las comunidades microbianas del suelo

Michael Seeger\*, Sebastián Fuentes\*, Patricia Aguila\*,  
Valentina Méndez\*, Bárbara Barra\*, Luis Rojas\*,  
Fabiola Altamira\*, Guillermo Bravo\*, Myriam González\*

\*Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental,  
Centro de Biotecnología & Center of Nanotechnology and Systems  
Biology & Depto. de Química, Univ. Técnica Federico  
Santa María, Valparaíso, Chile. michael.seeger@usm.cl

El crecimiento económico de América Latina y el Caribe en las últimas décadas ha promovido un mayor desarrollo y bienestar, pero también una creciente contaminación ambiental. La contaminación ambiental

es un desafío relevante para un desarrollo sustentable. La biorremediación ofrece una alternativa *in situ*, eficiente y económica (fuentes *et al.* 2014. AMB 98:4781). Para poder mejorar la biorremediación se requiere conocer el rol de las Comunidades Microbianas (CM). En este trabajo, se estudiaron los efectos de la contaminación y de la biorremediación sobre las CM de suelo. En un primer estudio, se analizó la biorremediación de hidrocarburos (HC). Se aislaron y caracterizaron bacterias degradadoras de HC y productoras de biosurfactantes, y se utilizaron procesos de bioaumentación y de bioestimulación con biosurfactantes. Se analizó el efecto de la contaminación por HC y procesos de biorremediación sobre las CM. Se establecieron procesos eficientes de biorremediación de HC. Asimismo, se estudiaron las CM por técnicas de secuenciación masiva mediante Illumina, análisis por la plataforma QIIME y por técnicas cultivo-dependiente. Estos estudios permitieron revelar cambios de diferentes grupos taxonómicos y el florecimiento de una población bacteriana (*Alkanindiges*) en suelos contaminados con HC y sometidos a bioaumentación. En un segundo estudio, se abordó el desarrollo de la biorremediación de metales pesados (MP). En una primera etapa, se estudió el efecto de cobre sobre las CM por técnicas cultivo-independiente y cultivo-dependiente. En una segunda etapa, se estableció un proceso de biorremediación de MP. Para esto se diseñó y generó una bacteria modificada metabólicamente, que posee una elevada resistencia a compuestos de mercurio y otros MP (Rojas *et al.* 2011. PLoS ONE 63:e17555). Se determinó que la bioaumentación con esta cepa removió eficientemente mercurio desde aguas. Este proceso de biorremediación se está implementando a mayor escala. Agradecimiento. Proyectos FONDECYT 1110992, FDI-RIABIN, USM131342, CN&SB, CONICYT-BMBF y becas CONICYT.

#### S74. Aeromicrobiología de ambientes extra intradomiciliarios de Medellín

Alvaro Rúa-Giraldo\*

\*Grupo de Microbiología Ambiental, Escuela de Microbiología, Univ. de Antioquia, Medellín, Colombia. Grupo de Aerobiología, Instituto de Ciencia y Tecnología Ambientales, Univ. Autónoma de Barcelona, España.

La aerobiología estudia el comportamiento de partículas biológicas en la atmósfera y su repercusión en el entorno. Los hongos son un componente importante de la microaerobiota, tanto por su concentración y diversidad, como por los efectos que tiene su distribución por el aire. Aunque no existen valores de hongos en la atmósfera considerados "normales", se han establecido niveles merecedores de atención; adicional a esto, el predominio de un taxón o la presencia de especies "peligrosas" son tenidos en cuenta al dar un informe sobre la calidad micológica del aire.

Los hongos aerotransportados suelen asociarse con desórdenes de hipersensibilidad (en individuos alérgicos o expuestos a ambientes ocupacionales inadecuados), procesos infecciosos (principalmente en inmunocomprometidos confinados a ambientes hospitalarios no controlados), contaminación de materias primas e insumos (industria alimentaria, papelería y textil) y daños del patrimonio histórico-cultural de una región (obras de arte, archivos, fachadas de edificaciones), entre otros problemas. El estudio de la flora micótica de un ambiente puede servir como indicador del nivel de contaminación, permite identificar las posibles fuentes emisoras del contaminante, determina la eficiencia de los sistemas de purificación del aire y facilita el seguimiento de programas de limpieza y control.

En Medellín (Colombia), desde 1989 se iniciaron los estudios aerobiológicos con la determinación de la emisión de contaminantes microbiológicos en la zona del relleno sanitario Curva de Rodas como parte del Plan de Manejo Ambiental que buscaba minimizar los efectos de este gran vertedero de basuras sobre la población del Valle de Aburrá. Posteriormente, se comienza con la valoración de la calidad del aire interior en diferentes edificaciones, incluyendo oficinas administrativas de importantes empresas públicas y privadas de la región como EPM, Metro de Medellín, Centro Administrativo La Alpujarra, Bolsa de Valores de Medellín, entidades financieras, entre otras. También, con el propósito de implementar medidas preventivas que disminuyeran el riesgo de la población trasplantada en el Hospital San Vicente de Paúl, se llevaron a cabo varios estudios en salas de trasplante de médula ósea y renal y en áreas de hospitalización de pacientes con malignidades hematológicas y de diálisis renal (sedes antigua y actual), lo que permitió el diseño del sistema de alta eficiencia de filtración del aire que actualmente funciona en la sede hospitalaria y el establecimiento de un régimen de visitas controlado, observándose una disminución dramática en número y severidad de las infecciones de origen aéreo en estos pacientes. De igual manera, con el fin de determinar la flora microalérgica de la ciudad, se trabaja en la creación de una estación de monitoreo aerobiológico permanente, del cual existen datos del estudio

piloto realizado en 2010. Con respecto al cuidado del patrimonio cultural, se han ejecutado los análisis del aire interior de la Sala Botero del Museo de Antioquia y la zona de archivos del Palacio de la Cultura.

Los avances científicos implican la actualización tecnológica y la validación de las metodologías empleadas, además de la implementación de técnicas moleculares avanzadas, retos que se están asumiendo con la formulación de proyectos de investigación en el área.

#### S75. Evidencia de *Alternaria* en el aire: Conidias y alérgenos

Concepción Linares F.\*

\*Department of Animal Biology, Plant Biology and Ecology and Institut de Ciència i Tecnologia Ambientals (ICTA). Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra (Cerdanyola del Vallès), Spain. Contacto: concepcion.delinares@uab.cat

*Alternaria* es un hongo perteneciente a la familia Pleosporaceae presente en ambientes urbanos y rurales. Está considerado un fitopatógeno oportunista que causa severos daños económicos en una gran variedad de cultivos y un importante factor de riesgo para la salud humana debido a sus estructuras reproductivas en la fase anamórfica o conidias, que se dispersan a través del aire.

Los datos aerobiológicos de este hongo se han convertido en un elemento de referencia de gran valor para prevenir los daños que podría ocasionar. Los diversos métodos aplicados para modelar la presencia y concentración de conidias en la atmósfera (modelos de dispersión atmosférica, análisis estadístico y redes neuronales) han mostrado, con un elevado porcentaje de acierto, que la presencia de conidias de *Alternaria* está influenciada por la meteorología, siendo abundantes en zonas templadas y húmedas, mientras que el frío (ya sea del período invernal o asociado a la altitud) provoca un descenso en sus concentraciones.

*Alternaria* también está comúnmente relacionada con problemas de salud pública. Sus conidias tienen importancia clínica por la producción de metabolitos secundarios tóxicos implicados en la osteomielitis e infecciones pulmonares y cutáneas o queratomycosis, pero probablemente el problema más importante a tener en cuenta es la alergia respiratoria. Su incidencia varía entre 3,6% y 66,0% de la población atópica dependiendo de la zona climática analizada. Hasta el momento se han identificado 13 alérgenos presentes tanto en las hifas del hongo como en las conidias, el más importante Alt a 1. La evaluación de la carga alérgica aerovagante de este alérgeno como complemento a los estudios aerobiológicos clásicos constituye un avance en prevención, ya que se ha demostrado que pueden haber diferencias notables entre los niveles de alérgeno y las concentraciones de conidias.

#### S76. Implicaciones de los aeroalérgenos en el paciente alérgico

Ruth Helena Ramírez G.\*

\*Univ. de Antioquia. Medellín, Colombia.

Los seres humanos estamos expuestos a una gran cantidad de sustancias extrañas tanto en el ambiente doméstico como extra-domiciliario. El término alérgeno es usado para describir cualquier sustancia capaz de estimular la producción de anticuerpos de tipo inmunoglobulina E (Ig E) principalmente, pero también puede ser IgG, IgM ó Ig A. Cada alérgeno puede tener un número determinado de epítopes que se unen a las regiones hipervariables formando parte del fragmento Fab de la inmunoglobulina o regiones análogas sobre el receptor en el linfocito T. La mayoría de los alérgenos son proteínas ya sean enzimas o inhibidores de enzimas, proteínas de unión a ligandos o transportadoras, sin embargo, existen datos que sugieren que la Ig E puede ser producida contra glicanos presentes en algunas glicoproteínas a las cuales está expuesto el huésped. La exposición a los alérgenos ocurre a través de inhalación, ingestión, a través de la piel, por picaduras de insectos o iatrogénico. Los aeroalérgenos constituyen la causa más común de enfermedades alérgicas y son derivados de granos de polen, esporas de hongos, ácaros del polvo casero, epitelios de animales y heces de insectos y ácaros. La exposición puede ser perenne durante todo el año como los ácaros o estacional como los granos de polen. Los síntomas están determinados por varios factores como la concentración de polen, la polución y el clima. La exposición a alérgenos de hongos y ácaros es a menudo perenne en forma de partículas fecales y esporas acumuladas en el polvo casero aun-

que puede ser estacional debido a los efectos del microclima doméstico sobre los procesos reproductivos y la dieta. La exposición a alérgenos de epitelios así como aeroalérgenos ocupacionales puede ser perenne a menos que la fuente sea retirada. Los alérgenos implicados en enfermedades alérgicas como asma, rinitis, dermatitis atópica y otras necesitan ser identificados y demostrados para tomar las medidas adecuadas de acuerdo a la sensibilización y la relevancia clínica del paciente.

### 577. El reto de clasificar bacterias y su importancia para la agricultura

Camilo A. Ramírez\*

\*Instituto de Biología, Univ. de Antioquia, Medellín, Colombia.

La bacteriología agrícola, como toda subdisciplina dedicada al estudio de las bacterias, se enfrenta a la necesidad y reto constantes de clasificarlas. Estudios básicos y aplicados con bacterias asociadas a plantas requieren sistemas de clasificación que ayuden a explicar y predecir la respuesta de las plantas a su interacción con determinadas poblaciones bacterianas. Por tal razón, la práctica e investigación en bacteriología agrícola usan sistemas que tratan de dar cuenta de dicha necesidad. Algunos de estos son particulares de la subdisciplina, como es la diferenciación de razas y patovares de bacterias fitopatógenas, o la clasificación de bacterias benéficas de acuerdo con su ecología y el fenotipo que producen en la planta, e.g. rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal, bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno, etc. No obstante, de forma paralela, se emplean también los sistemas jerárquicos y filogenéticos usados para clasificar el resto del mundo biológico: el sistema linneano y la sistemática filogenética. Sin embargo, los procariotas presentan particularidades biológicas que hacen mucho menos consistente la aplicación de estos sistemas en ellos, en comparación con los eucariotas. Todos estos sistemas, sin lugar a dudas, han hecho una contribución significativa, pues no hubiera sido posible el desarrollo de la subdisciplina sin clasificaciones que permitieran extender explicaciones y elaborar predicciones. Sin embargo, las contradicciones e inconsistencias entre y dentro de cada uno de esos sistemas son abundantes y llevan con frecuencia a conclusiones erróneas. Tener claridad sobre el origen e implicaciones de esas inconsistencias es de suma importancia, pues permitirá ponderar las limitaciones y alcances de aplicarlos. En esta charla se presentará un panorama de esta situación y se tratará de resaltar su importancia para la bacteriología agrícola básica y aplicada, por sus implicaciones directas en el diagnóstico y manejo de bacterias fitopatógenas y la prospección y optimización de bacterias benéficas.

### 578. The origin of ecological diversity in bacteria

Frederick M. Cohan\*

\*Wesleyan University, CT, USA.

We have attempted to discover the most newly divergent, ecologically distinct populations of *Bacillus* in the soils of Death Valley and *Synechococcus* in Yellowstone hot springs, with the aim of characterizing the dynamics of speciation in bacteria. We define an "ecotype" as a phylogenetic group of ecologically homogeneous bacteria, where any ecological distinctness within an ecotype is insufficient to foster coexistence; however, different ecotypes are ecologically distinct enough to be able to coexist indefinitely as a result of their ecological distinctness. We consider speciation to be the origin of ecotypes. We have attempted to identify the species-like properties (other than ecological distinctness) that apply to newly divergent ecotypes. In the case of *Synechococcus*, we provide evidence in some cases for the stable ecotype model, where the ecotypes are characterized by all the principal species-like properties, including ecological distinctness, irreversible separateness, cohesion, and identification as sequence clusters. In the case of *Bacillus*, we provide evidence for the nano-niche model, where new ecotypes are only quantitatively divergent in their ecology and are not irreversibly separate, and cohesion extends beyond a single ecotype. Also, we have explored the ecological dimensions of speciation in *Bacillus* along a geochemical gradient in Death Valley, to discover whether speciation is primarily by changes in adaptations to physical conditions versus changes in the organic resources that can be consumed. Speciation events by change in adaptations to physical conditions appear extremely frequent. Finally, we have begun investigating ecological speciation with respect to rhizosphere adaptations, and have found evidence of frequent evolution of rhizosphere adaptations in Death Valley *Bacillus*.

### 579. Prospección de bacterias benéficas para el cultivo de banano

Valeska Villegas E.\*

\*Grupo de investigación CIBIOP, Univ. EAFIT, Medellín, Colombia.

El cultivo del banano en Colombia representa el tercer producto agrícola de exportación después del café y las flores convirtiéndose en un factor clave en nuestra economía. Dicho cultivo enfrenta diversos problemas fitosanitarios y requiere grandes aplicaciones de fertilizantes, que generan altos costos de producción y en algunos casos problemas ambientales. Por tal motivo, se han explorado nuevas alternativas más amigables con el medio ambiente, dentro de las cuales se encuentra la prospección de bacterias benéficas para el control biológico de diversos fitopatógenos y para la biofertilización. En esta presentación, se recopilará en primer lugar la experiencia de 7 años de investigación. Se abordarán y responderán algunas preguntas claves de la investigación como: ¿Dónde realizar la búsqueda de bacterias benéficas?, ¿Cómo seleccionarlas a nivel *in vitro* o *in vivo*?, ¿Cómo optimizar su producción para un mejor desempeño en campo?, ¿Qué dosis de aplicación son efectivas y económicamente viables para ser utilizadas por el agricultor?, ¿Cuál es el mecanismo de acción de las bacterias benéficas seleccionadas? Finalmente, después de obtenidos y analizados estos resultados, se describirán las nuevas tendencias para la prospección de bacterias benéficas.

### 580. El efecto del manejo agrícola sobre la comunidad microbiana edáfica

Johan Sebastián Sáenz\*, Fabio Roldan\*, Howard Junca\*, Molina CH.\*, Molina E.\*, Ziv Arbeli\*

\*Unidad de Saneamiento y Biotecnología Ambiental (USBA). Depto. de Biología. Pontificia Univ. Javeriana. Bogotá, Colombia.

\*Contacto: zarbeli@javeriana.edu.co

La actividad agropecuaria desplaza la flora y fauna natural y modifica las propiedades fisicoquímicas del suelo y las comunidades microbianas, alterando la función del suelo. El presente estudio analizó los cambios en la comunidad microbiana edáfica en sistemas agroecológicos y convencionales.

Se tomaron muestras de suelo (n=3) de sistemas de pastoreo convencional, sistemas silvopastoriles intensivos, caña de azúcar convencional y caña de azúcar con manejo agroecológico de 2 regiones de Valle del Cauca: Reserva Natural El Hatío (El Cerrito) y Hacienda Lucerna (Bugalagrande) y a sus alrededores. Adicionalmente, se muestrearon suelos de un bosque seco tropical (la reserva natural El Hatío) como referencia de un sistema no intervenido. Las comunidades microbianas edáficas fueron caracterizadas mediante secuenciación masiva (MiSeq de Illumina) de amplicones de la región V4 del gen 16SrRNA obtenidos a partir del ADN metagenómico de cada suelo.

Se encontró que las comunidades microbianas de los mismos sistemas productivos (caña de azúcar o pastoreo) se agrupan entre sí, mientras que el manejo agronómico (convencional vs. agroecológico) y la distancia geográfica o propiedades fisicoquímicas del suelo asociados a cada región (El Cerrito vs. Bugalagrande) tenía un efecto menor. Además, las comunidades microbianas edáficas de los sistemas agropecuarios presentaron mayor similitud entre sí comparado con las comunidades edáficas del bosque. De las propiedades fisicoquímicas evaluadas, el pH, la concentración de amonio y potasio tienen un efecto significativo sobre la estructura y composición de las comunidades microbianas. La mayor diferencia entre los suelos se debe a cambios de la abundancia ( $p < 0,05$ ) de las fila WS3, *Chlamydiae*, *Firmicutes*, *Acidobacteria*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria* y *Crenarchaeota*.

El sistema productivo (pastoreo vs. caña de azúcar) es el factor principal que determina las comunidades microbianas por encima del tipo de manejo (agroecológico vs convencional) y la zona geográfica o las propiedades fisicoquímicas del suelo asociadas a cada zona.

### 581. Aproximación a las zoonosis en Colombia

Salim Mattar\*

\*Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico, Univ. de Córdoba, Colombia.

En Colombia las Enfermedades Transmitidas por Vectores (ETV) y las zoonosis virales, bacterianas y parasitarias, constituyen un problema de

salud pública y generan altos costos económicos para los sistemas de salud. En Colombia el aumento o re-emergencia de estas enfermedades es favorecido por algunas variables como las condiciones geo-climáticas, urbanización excesiva, invasión de espacios naturales, aumento de la población, explotación intensiva animal y desplazamiento de personas por el conflicto armado entre otros. Adicionalmente, factores sociales y económicos como la pobreza, el hacinamiento, la falta de saneamiento básico y dificultad del acceso a sistemas de atención en salud contribuyen al incremento de la morbilidad y mortalidad de este tipo de enfermedades, lo que se implica que muchas de ellas sean consideradas como enfermedades desatendidas. Entre las zoonosis virales, la rabia es una enfermedad altamente infecciosa que afecta a animales domésticos (caninos, gatos, bovinos) y silvestres (murciélagos, zorrillos, etc.) y es transmitida a humanos por mordeduras de animales infectados. A continuación se describen las zoonosis y ETV recientemente reportadas en Colombia. Entre las transmitidas por roedores, están las fiebres hemorrágicas con alta letalidad como la leptospirosis, hantavirus y arenavirus. La leptospirosis después del dengue es la fiebre hemorrágica más prevalente en Colombia. De otro lado, entre las ETV la Rickettsiosis, Ehrlichiosis, anaplasmosis y babesiosis que afectan animales domésticos y silvestres, son transmitidas a humanos por la picadura de garrapatas y otros ectoparásitos todas ellas han sido detectadas hace poco en el Caribe colombiano. *Coxiella burnetii* que también puede ser transmitida por garrapatas, fue detectada hace unos meses por vez primera en leches y secreciones de bovinos de Montería. Entre las parasitosis la malaria produce una fiebre hemorrágica importante en algunas zonas endémicas, la toxoplasmosis también es importante por su impacto en la gestante. Finalmente, las enfermedades zoonóticas en su mayoría comparten muchos síntomas que dificulta o retrasa el diagnóstico en humanos.

### S82. Influenza aviar y porcina en Sudamérica

Ariel Pereda\*

\*Instituto de Virología INTA - CONICET - OIE/FAO Network of expertise on animal influenza (OFFLU). Contacto: pereda.ariel@inta.gob.ar

La vigilancia de los Virus de la Influenza Aviar (AIV) y de la Influenza Porcina (SIV) ha sido escasa en la mayoría de países de América Latina y el Caribe. Hasta hace poco, los virus influenza A de las aves acuáticas silvestres en América del Sur rara han sido aisladas y/o caracterizadas. En Argentina, el análisis genético y filogenético de los segmentos de los genes internos del virus reveló una estrecha relación con los virus de influenza de América del Sur que forman un único clado que apoya la idea de la evolución independiente de los virus de la gripe A en otras latitudes. También se ha observado la presencia de HAs y NAs con poca relación con virus circulantes en América del Norte y Eurasia, con la excepción del gen de la HA de una cepa que estaba más estrechamente relacionado con el linaje de América del Norte, lo que sugiere posibles interacciones entre linajes de América del Norte y del Sur. Los estudios en animales utilizando aislamientos argentinos H6 sugirieron que estos virus podrían replicar y transmitir de manera ineficiente en los pollos, indicando una adaptación limitada a las aves de corral. Nuestros resultados destacan la importancia de la vigilancia continua de la influenza en aves silvestres en América del Sur, sobre todo teniendo en cuenta la singular evolución de estos virus.

Respecto de SIV, Argentina ha informado recientemente de la presencia de virus humanos de linaje distintos de los subtipos H1N1 y H3N2. Los virus argentinos son distinguibles de los subtipos similares en América del Norte y representan eventos de transmisión independiente de humano a los cerdos. A finales de 2008 un H3N2 completamente humano fue aislado de cerdos con signos clínicos de enfermedad respiratoria y fiebre típica. La infección experimental mostró que el virus transmitido de manera eficiente entre los cerdos, y que los cerdos inoculados presentaron lesiones características de la influenza, lo que sugiere que este virus fue completamente adaptado a los cerdos y posee el potencial de mantener subtipos en la población porcina que pueden ser un factor de riesgo a futuro en Salud pública. En 2009 se aisló por segunda vez en el mundo, un virus pandémico en cerdos. Luego en 2009 y en 2010 Argentina reportó el aislamiento de virus reordenados con genes internos del virus pandémico (H1N1pdm) y con genes de superficie (HA y NA) de cerdos con origen humano. En 2011 otro virus reagrupado se aisló con los genes de superficie del virus H3N2 completamente humano aislado por primera vez en 2008 y todos los genes internos del virus pandémico. Los signos clínicos observados en todos estos casos eran las típicas de la gripe. Se postula que la ausencia de vacunas y las

características de la producción porcina de Argentina pueden contribuir a la aparición de estos nuevos reagrupamientos, siendo la vigilancia de esta población una actividad que debe sostenerse para reconocer las posibles adaptaciones y/o recombinaciones que estos virus pueden realizar y tornarse de riesgo para la Salud Pública.

### S83. Historia epidemiológica de la presencia de *Escherichia coli* productor de Shigatoxina en Chile

Roberto Vidal\*

\*Instituto de Ciencias Biomédicas. Univ. de Chile. Contacto: rvidal@med.uchile.cl

*Escherichia coli* productores de Shigatoxina (STEC) constituyen un grupo de patógenos emergentes a nivel mundial, con importantes factores de virulencia que facilitan la infección en el hombre. Es agente etiológico de diarrea aguda, diarrea con sangre y Síndrome hemolítico urémico (SHU) en niños. Estudios previos realizados en Chile han demostrado que cepas de serogrupos No-O157 son la causa más importante de infecciones en humanos (64%). Dentro de los factores de virulencia que caracterizan las cepas de STEC está la producción de dos citotoxinas denominadas *Shiga-like*, Shigatoxinas o Verotoxinas (Stx1 y Stx2) y una proteína asociada con la adherencia íntima entre la bacteria y la membrana de la célula epitelial, responsable del borrado de las microvellosidades del epitelio, denominada íntima (fenotipo A/E, *attaching/effacing*). Estudios internacionales describen que el principal reservorio de STEC lo constituyen bovinos y porcinos y que Chile sería uno de los países con mayor frecuencia de aislamiento de STEC en porcinos (69%). En Chile, el Ministerio de Salud incorporó como agente de vigilancia a *Escherichia coli* productor de Shigatoxina a contar del año 2000. Si bien la presencia de STEC es endémica en Chile, la tasa de SHU se ha reducido de un 3,2 a 0,9 por 100.000 habitantes en un periodo de 10 años (2002-2012). Se mostrarán resultados de la frecuencia de aislamiento de STEC desde heces de bovinos y cerdos faenados en planteles PABCO (Planteles animales bajo control oficial), un estudio recientes de la frecuencia de aislamiento de STEC desde carnes selladas al vacío de origen nacional y extranjera para consumo en cadenas de supermercados en Santiago. Finalmente, utilizando sueros de pacientes pediátricos que hicieron un cuadro de SHU por STEC, nuestro grupo ha podido identificar antígenos de membrana externa presentes en las cepas STEC O26:H11, O103, O113:H21 y O157:H7 y auyentes cepas comensales de *E. coli* incluida la cepa HS. Hemos logrado identificar 7 proteínas serorreactivas y su perfil inmunogénico sugiere que son candidatos para ser estudiados como potenciales vacunas. Financiado. Proyecto FONDECYT 1110260.

### S84. *Campylobacter*: Aspectos epidemiológicos y resistencia a los antimicrobianos. Una perspectiva desde América Latina

Heriberto Fernández\*

\*Instituto de Microbiología Clínica - Facultad de Medicina. Univ. Austral de Chile. Valdivia, Chile. Contacto: hfernand@uach.cl

El género *Campylobacter* agrupa especies zoonóticas, siendo las más relevantes *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* y *C. upsaliensis*, consideradas termotolerantes por crecer a 42°C.

Según MEDLINE y LILACS, en América Latina (AL) se ha generado abundante información sobre estas bacterias, aún no justipreciada por la comunidad científica internacional.

*C. jejuni* y *C. coli* son las especies más frecuentes, produciendo diarrea en todos los grupos etáreos de ambos sexos, cursando como un cuadro exudativo, expresando capacidad invasora. Estudios de invasión y producción de citotoxinas se han realizado en México, Brasil y Chile. Para su aislamiento, en varios países de AL han sido desarrolladas fórmulas selectoras y medios de transporte y enriquecimiento, optimizándose tinciones para su diagnóstico presuntivo.

En varios países de AL existen cepas resistentes a eritromicina, tetraciclina, cloranfenicol y ampicilina. Más recientemente, aparecen cepas resistentes a ciprofloxacina, constituyendo un relevante problema emergente.

*Campylobacter* ha sido aislado de una gran variedad de animales domésticos y salvajes, representando un reservorio de importancia. También se ha aislado de agua, alimentos de origen animal y se demost-

tró su asociación con amebas de vida libre, por las que es transmitido a reservorios animales. Su frecuencia en humanos fluctúa entre 0,6% en Cuba a 23% en Perú. Los portadores asintomáticos fluctúan entre 2% en Costa Rica y 14,3% en Brasil.

En AL *C. lari* ha sido aislado de seres humanos, terneros, aves acuáticas y domésticas y aguas servidas. *C. upsaliensis*, cuyo reservorio natural es el perro, ha sido aislado de otros animales, de diarrea y de infección neonatal.

El género *Campylobacter* debe ser considerado un importante problema de salud pública en AL donde, contrariamente a la valiosa información generada, ésta no ha sido suficientemente valorada por especialistas, sociedades científicas y autoridades de salud. En AL urge realizar estudios colaborativos para conocer mejor el problema que representa la campylobacteriosis y para colaborar con las autoridades en el diseño de estrategias de control de *Campylobacter*. Financiamiento. Este trabajo contó con el financiamiento de los proyectos FONDECYT 1980920 y 1110202; DID SE-1-2009 y DID S-2007-37.

### 585. La transmisión inter-especies y la evolución de la virulencia en patógenos emergentes

Patricio Retamal\*

\*Facultad de Ciencias Veterinarias, Univ. de Chile. Contacto: pretamal@uchile.cl

La transmisión inter-especies constituye una propiedad esencial en la emergencia de patógenos zoonóticos, existiendo una relación directa entre la multiplicidad de hospederos y la probabilidad de un agente de convertirse en un agente emergente. En este sentido, virus y bacterias tienen la mayor potencialidad de cruzar la barrera inter-especies en vista de su plasticidad genómica, con tasas de mutación que les permiten la rápida adquisición o modificación de mecanismos de virulencia y adaptación a nuevos hospederos. La evolución de la virulencia ha estado clásicamente relacionada a la transferencia horizontal de genes, y entre estos, la transferencia de genes de resistencia a los antimicrobianos que explican la rápida aparición de cepas multi-resistentes a estos compuestos, dificultando el abordaje terapéutico en las enfermedades que estos causan. Sin embargo, otros mecanismos de virulencia también evolucionan en el curso de una enfermedad, generando variaciones en la patogenicidad de los agentes biológicos y por lo tanto en las consecuencias clínicas en una población de individuos susceptibles.

Los factores epidemiológicos que determinan este proceso de modificación de la virulencia, es la tasa de contactos y la proporción de individuos susceptibles. Niveles altos en estos valores, permiten la selección de cepas de mayor virulencia, por cuanto la transmisión es independiente de la sobrevivencia de los hospederos. Por el contrario, en condiciones de baja tasa de contactos o baja proporción de individuos susceptibles, se seleccionan con mayor éxito aquellas cepas de menor virulencia, que permiten a sus hospederos mantener una condición de salud lo suficientemente larga para diseminarse e infectar a nuevos individuos. Evidencias microbiológicas a nivel de laboratorio y de campo, sugieren que los patógenos se encuentran en constante evolución de sus mecanismos de virulencia, constituyendo un fenómeno adaptativo a los escenarios epidemiológicos poblacionales en los que se diseminan los agentes biológicos.

### 586. Materiales de referencia en laboratorios de ensayo

Celia Puglisi\*

\*Metrología Científica e Industrial. Instituto Nacional de Tecnología Industrial. Buenos Aires, Argentina.

La demanda de cultivos microbianos de referencia correctamente caracterizados se ve incrementada como consecuencia de que se requiere cada vez mayor exactitud y más confiabilidad de los datos en las disciplinas científicas y tecnológicas.

Para asegurar la calidad de los materiales de referencia microbiológicos, los proveedores de los mismos debieran implementar un sistema de gestión de la calidad que les permita demostrar competencia en el tema y asegurar la calidad de las cepas que hoy en día circulan de un país a otro.

Para este fin se deben definir criterios que permitan asegurar la trazabilidad en materiales de referencia microbiológicos (cultivos microbianos) Este tema es crítico para poder asegurar la comparabilidad de las

mediciones, es decir que si se envía la misma muestra a dos laboratorios distintos se obtendrá el mismo resultado.

La Norma ISO 17034 describe el sistema de calidad que debiera implementar un productor de materiales de referencia, pero para poder aplicar estos conceptos a materiales de referencia microbiológicos es necesario adaptarla al lenguaje microbiológico y uno de los mayores problemas se presenta al tratar de definir la trazabilidad de las cepas.

Existen organizaciones que gozan del reconocimiento internacional por la actividad que ellos desarrollan como "referentes", pero no existía hasta hace poco tiempo una organización internacional que les permita demostrar este carácter ni tampoco establecer una "diseminación" de la trazabilidad tal como se estableció para las mediciones físicas o las químicas.

En la presentación se describirá como se está tratando de encarar este problema a nivel internacional.

### 587. Como garantizar la trazabilidad metrológica en laboratorios de ensayo

Huber Quintero M.\*

\*Red colombiana de laboratorios, Instituto Nacional de Metrología, Colombia.

La trazabilidad metrológica, la cual es una propiedad de un resultado de medida por la cual el resultado puede relacionarse con una referencia mediante una cadena ininterrumpida y documentada de calibraciones, cada una de las cuales contribuye a la incertidumbre de medida (VIM).

Dentro de los principales retos de la metrología es lograr la comparabilidad de los resultados de medición como un componente indiscutible que propicie armonización y confianza. En las mediciones químicas se requiere de pautas que permitan establecer y asegurar los resultados por medio de los elementos que conforman la cadena de trazabilidad.

Demostrar la trazabilidad al Sistema Internacional de Unidades (SI) de las mediciones químicas, fisicoquímicas, bioquímicas y biológicas las cuales inevitablemente precisan la implementación de algún método primario de medición química que permita lograr una articulación con las unidades del SI.

La mayoría de los materiales de referencia que se utilizan en los laboratorios analíticos se basan en acuerdos o aceptación internacional y en numerosos casos se usan unidades que no son reconocidas por Sistema Internacional de Unidades (SI), como unidades internacionales WHO/OMS u otras.

La importancia de la trazabilidad por medio de los materiales de referencia certificados en las mediciones químicas, fisicoquímicas, bioquímicas y biológicas, es evidente; no obstante, no siempre se logra contar con todos los materiales de referencia certificados (MRC) o materiales de referencia (MR) trazables al Sistema Internacional de Unidades (SI) para todas las sustancias químicas que son medidas, por lo que se dificulta evidenciar la trazabilidad de una medición si no se cuenta con material de referencia certificado (MRC).

Los requisitos de trazabilidad metrológica establecidos en ISO/IEC 17025:2005 e ISO 15189: 2012, se constituyen en el referente para asegurar los resultados de los laboratorios; los organismos de acreditación implementan políticas ILAC, los cuales se apoyan de documentos guías con lo cual se propicia la confiabilidad y armonizado de los criterios de acreditación, convirtiéndose en el aspecto más importante en la determinación de resultados técnicamente válidos.

### 588. Implicaciones ambientales, sociales y biológicas del uso de cianobacterias para el proceso de biorremediación de aguas contaminadas del Valle de Aburrá

Mauricio Corredor\*

\*Univ. de Antioquia, Instituto de Biología, Grupo GEBIOMIC (A, Colciencias). Medellín, Colombia.

El rescate de los ríos contaminados es un gravísimo problema para Latinoamérica, que nuestros países aún con los recursos que obtienen e invirtiéndolos en un gran porcentaje se demorará todavía muchos años para recuperarlos por los métodos convencionales. Ríos como el Orinoco, el Paraná, el Magdalena deberán esperar ya no décadas sino siglos. En el Valle de Aburrá, el problema de descontaminación ya ha comenzado, pero ello sin integrar siempre la comunidad e incluso aún todos los afluentes de la cuenca y todas las poblaciones no hacen parte

del proceso de descontaminación empleado por las empresas municipales. Algunas poblaciones prefieren seguir cobrando impuestos por contaminar sus ríos.

Los métodos convencionales requieren de una infraestructura que poblaciones con recursos importantes no pueden pensar en descontaminar sus ríos-cloacas. Retirar los metales pesados, los compuestos orgánicos tóxicos, requiere de análisis fisicoquímicos y microbiológicos continuos para poder saber si tal sustancia o patógeno se eliminó. Sin embargo, las cianobacterias extremófilas capaces de vivir en condiciones adversas de osmolaridad y tóxicos se presentan como alternativa para descontaminación: hemos logrado recuperar una flora autóctona, capaz de degradar tóxicos como el cianuro, propagarse satisfactoriamente y producir un efecto biótico en el agua permitiendo la propagación y asentamiento posterior a tratamiento, de peces, molusco e invertebrados. Hemos integrado incluso estudiantes de un colegio de Itagüí, donde la quebrada Doña María es tal vez la más contaminada. Los estudiantes del colegio han desarrollado un trabajo con la comunidad involucrándose con la población rivereña de la quebrada, afluente del río Medellín. El efecto social de esta investigación y el uso de cianobacterias ha dado esperanzas en la gente y ha ayudado a que los estudiantes se involucren en nuestra investigación, aprendiendo microbiología y biorremediación, haciendo eco en la comunidad del beneficio que puede representar el recuperar las aguas contaminadas, usando cianobacterias.

### S89. Impact of inocula and operating conditions on the microbial community structure of anammox reactors

Juliana Calabria A. \*

\*Department of Sanitary and Environmental engineering, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Brazil. Contact: Juliana@desa.ufmg.br

The microbial community structure of the biomass selected in two distinctly inoculated anammox (anaerobic oxidation of ammonium) reactors was investigated and compared with the help of data obtained from 454-pyrosequencing analyses. The anammox reactors were operated for 550 days and seeded with different sludges: sediment from a constructed wetland (reactor I) and biomass from an aerated lagoon part of the oil-refinery wastewater treatment plant (reactor II). The anammox diversity in the inocula was evaluated by 16S rRNA gene cloning analysis.

The diversity of anammox bacteria was greater in the sludge from the oil-refinery (three of the five known genera of anammox were detected) than in the wetland sludge, in which only *Candidatus Brocadia* was observed. Pyrosequencing analysis demonstrated that the community enriched in both reactors had differing composition despite the nearly similar operational conditions applied. The dominant phyla detected in both reactors were *Proteobacteria*, *Chloroflexi*, *Planctomycetes*, and *Acidobacteria*. The phylum *Bacteroidetes*, which is frequently observed in anammox reactors, was not detected. However, *Acidobacteria* and *GN04* phyla were observed for the first time, suggesting their importance for this process. Our results suggest that, under similar operational conditions, anammox populations (*Ca. Brocadia sinica* and *Ca. Brocadia* sp. 40) were selected in both reactors despite the differences between the two initial inocula. Taken together, these results indicated that the type of inoculum and the culture conditions are key determinants of the general microbial composition of the biomass produced in the reactors. Operational conditions alone might play an important role in anammox selection. Keywords. Anaerobic ammonium oxidation (anammox); constructed-wetland sludge; oil-refinery wastewater treatment plant sludge; microbial community structure; pyrosequencing.

### S90. Cost-effective controlled bioreactor based on open-source technologies

Oliver Peric<sup>\*†</sup>, Laurent Hafiz<sup>\*†</sup>, Gabriel Laupre<sup>\*†</sup>, Gael Grosch<sup>\*†</sup>, Quentin Cabrol<sup>\*†</sup>, David Lambelet<sup>\*†</sup>, Raffael Tschui<sup>\*†</sup>, Samuel Benketaf<sup>\*†</sup>, Philémon Järman<sup>\*†</sup>, Daniel Kostro<sup>‡</sup>, Janeth Sanabria<sup>‡</sup>, Luc Patiny<sup>‡</sup>, Julien Wist<sup>\*</sup>

\*Chemistry Department, Univ. del Valle, Cali, Colombia. †Environmental Microbiology and Biotechnology Laboratory, Univ. del Valle, Cali, Colombia. ‡Institute of Chemical Sciences and Engineering, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, Lausanne, Switzerland.

Microorganisms adapt to their environment by selecting more appropriate metabolic routes depending on the availability of nutrients. The ability to precisely control experimental conditions over long period of time, i.e., to artificially create adequate environments, enables growing microorganisms in axenic conditions or consortia thereof and simultaneously selecting metabolic pathways of interest. Although promising, this approach suffers from the costs of the required setup and from the long experimental times that makes replications impractical if not run simultaneously. Therefore we present a fully automated bioreactor based on open-source technologies that is affordable and can be easily replicated, the designs of the boards and the source code is shared on Github (<https://github.com/bioreactor>).

The reactor presents the following functions: Filling, emptying and stirring liquids in the container, control of the temperature and the pH value and finally control of the gas inputs and outputs. Currently a change in the desired pH can be reached within a few minutes, which is sufficient for this kind of applications. Also, very weak gas inflows can be measured and locked to a desired precisely (the resolution is around 1cm<sup>3</sup>/sec), allowing to define the concentration of different gases and to maintain a constant positive pressure inside the vessel. Long test runs are in process to address remaining calibration and stability issues.

Based on an atmega32u4, the platform is compatible with Arduino libraries and can be programmed with Arduino IDE software, despite all its hardware parts are custom designs. It also includes a zigbee wireless module, which allows for connecting multiple reactors to a nearby server (such as a Raspberry Pi board) granting access from any point of the world as shown in the figure below.

Acknowledgments. Part of this project was supported by the Biennial plan between Univalle and EPFL. All the authors thank Norman Pelleret for designing the platform that enables graphical online monitoring for the bioreactor.

### S91. Microbial ecology and engineering in the real world

Thomas P. Curtis\*

\*School of Civil Engineering and Geosciences. Newcastle University. Newcastle, NE1 7RU. United Kingdom.

Microbes are one of the greatest forces of power in Nature in the world today, or indeed at any time since the dawn of biological time. They affect our industrial and agricultural productivity, health and well being, global and local cycle and of course my own speciality: environmental protection. However, Engineers are still unable to fully and predictively exploit the power of microbe for the use and benefit of humanity. This is in part at least because of the size and complexity of the microbial world. For there are more microbes in single treatment plant or lake than there are stars in the galaxy and more species than might be found in. We can however understand the stars and microbial technologies better by using ecological principles in conjunction with the best microbial technologies. Simple ecological principles can explain and help us to understand and eventually manipulate microbial systems. We have used this approach to make anaerobic treatment work better at lower temperatures and to explain why bio-augmentation fail so often. We can also use such models to understand the long term dynamics of such systems and will soon be able to anticipate performance in the coming days and perhaps weeks. However, the greatest challenge for those pursuing the fundamental principles governing microbial systems is to change the rate of change. To be able to conceive and test new technologies *in silico*. This may soon be possible by using a synthesis of multi-scale models, microbial ecology and large scale computing. Perhaps only then will we really be able to make Engineering Biology meet the pressing needs of the Real World.

### S92. Identificación y tipificación molecular de microorganismos en Colecciones de Cultivo

Rosa Aznar\*

\*Colección Española Cultivos Tipo, Univ. de Valencia, Paterna, España. Depto. de Microbiología y Ecología, Univ. de Valencia, Burjassot, España.

La misión principal de las Colecciones de Cultivo es mantener convenientemente y a largo plazo cepas de microorganismos, garantizando no sólo



la viabilidad, sino también la pureza, la autenticidad y la estabilidad genética del material conservado. Para facilitar dichas tareas es esencial contar con técnicas de identificación y tipificación de microorganismos rápidas y fiables, siendo a su vez asequibles. En las últimas décadas las técnicas moleculares, especialmente las basadas en el DNA, han revolucionado la práctica microbiológica imponiéndose como herramientas rutinarias en identificación y/o tipificación de microorganismos.

El objetivo es la aplicación de las técnicas moleculares para identificación y tipificación, en la rutina de laboratorio de una Colección de Cultivos microbianos, para garantizar la autenticidad de las cepas conservadas y asegurar en lo posible su fidelidad respecto a las originales depositadas.

Se presenta como ejemplo la aplicación en bacterias lácticas (BAL) de las siguientes técnicas moleculares: Secuenciación de genes de rRNA; Perfiles de amplificación del DNA por PCR (ISR, RAPD), proteínas (MALDI-TOF), ácidos grasos (MIDI).

El resultado es en BAL los perfiles ISR facilitan la identificación a nivel de género y combinando con los perfiles de restricción de dichos amplicones, se consigue la identificación a nivel de especie. Los perfiles RAPD diferencian a nivel intraespecífico facilitando la discriminación entre clones. Los perfiles de MALDI y MIDI pueden identificar a nivel de género e incluso especie, en algunos de los grupos de BAL.

En conclusión de las técnicas consideradas, la secuenciación del gen de rRNA 16S es la más ampliamente utilizada en Colecciones de Cultivos para la identificación inequívoca a nivel de especie. Los perfiles RAPD son muy útiles para discernir entre cepas relacionadas y/o corroborar diferentes morfologías coloniales. MALDI y MIDI son alternativas para la autenticación rápida y económica de cultivos si se dispone de la correspondiente base de perfiles generada previamente.

### S93. Drug resistance on nontuberculous mycobacteria

Erica Chimara\*

\*Instituto Adolfo Lutz, Nucleo de Tuberculose e Micobacterioses, Sao Paulo, Brasil.

Nontuberculous mycobacteria are organisms naturally resistant to drugs used in the tuberculosis treatment. To proper treatment is necessary to know the correct identification, since each species exhibits a different antimicrobial susceptibility pattern. *Mycobacterium abscessus* is the most remarkable and intriguing, as it is considered the most resistant species to antibiotics used among all rapidly growing mycobacteria (RGM) potentially pathogenic. *M. abscessus* is the most common etiological agent of pulmonary disease among RGM. The species account for 80% of lung infections caused by RGM. Some studies reported resistance to clarithromycin, a major drug used in the treatment. Two resistance mechanisms are described, a mutation at position 2058 or 2059 of the 23S rRNA gene, conferring intrinsic resistance, and a polymorphism in erm(41) gene at position 28, conferring induced resistance. Despite resistance mechanisms have been described, little is known about the resistance profile of the *M. abscessus* population. The recommended susceptibility test is based on Clinical and Laboratory Standards Institute protocol that performs a three day reading. Induced resistance can only be detected in an extended incubation for 14 days and therefore this mechanism is not detected routinely. Our study suggest the need of an adjustment in susceptibility test, due to the high percentage of induced resistant isolates and the usefulness of the erm(41) gene as a tool for identification and detection of clarithromycin resistance.

### S94. Diseño inteligente de cursos para la educación en microbiología

Martha J. Vives-Flores\*

\*Depto. de Ciencias Biológicas, Univ. de los Andes, Bogotá, Colombia. Contacto: mvives@uniandes.edu.co

Los profesores de nivel universitario se caracterizan por contar con la mejor capacitación en su área de experticia, es decir, doctores en áreas particulares del conocimiento, investigadores reconocidos en su campo, pero que han recibido poco o ningún entrenamiento formal que los prepare para las actividades docentes que los académicos deben asumir. Sin más herramientas que el modelo de enseñanza con

el que cada uno fue educado, se perpetúan prácticas que pueden no ser las más adecuadas, especialmente para los jóvenes de las nuevas generaciones. En esta charla se presentará la estrategia de Diseño Inverso, que propone como punto de partida la reflexión y definición de los desempeños que se esperan del estudiante que aprueba el curso; una vez definidos los desempeños, se diseñan las actividades necesarias para lograrlos, así como las evaluaciones acordes con los mismos. Con el diseño inverso se logra una coherencia en el curso que va más allá del logro de los objetivos tradicionales, ya que está centrado en las competencias que el estudiante desarrolla; esto es posible mediante esfuerzos cuidadosamente diseñados y ejecutados por el profesor para facilitar el proceso de enseñanza-aprendizaje, y evaluados de una forma justa y conocida abiertamente por todos los actores. La claridad en las reglas del juego favorece a su vez la toma de conciencia de parte de los estudiantes de su responsabilidad en su propio proceso de formación.

### S95. Desafíos en la enseñanza. Rompiendo barreras geográficas

Juana Ortellado-Canese\*

\*Microbiología Clínica y Microbiología y Parasitología de Facultad de Ciencias Médicas y Ciencias Químicas de la Univ. Nacional de Asunción (UNA), Paraguay. Contacto: juanaortelladopy@gmail.com

Las nuevas tecnologías de la información y comunicaciones han dado un nuevo espacio para las relaciones humanas y el área de la Educación. Para ser activos en este entorno, que cada día adquiere más importancia, y poder adquirir nuevos conocimientos y destrezas, se requiere crear un nuevo proceso educativo a distancia y en red.

El nuevo espacio virtual requiere una adaptación, no se basa en recintos espaciales, depende de redes electrónicas cuyos nodos pueden estar diseminados por distintos países. Por eso, es necesario proponer políticas educativas relacionadas con este nuevo entorno, diseñando nuevas acciones, capacitando a los docentes para que puedan actuar competentemente y que los estudiantes aprendan a moverse e intervenir en este nuevo escenario. El aprendizaje es significativo, pues el estudiante construye su propio conocimiento y sólo se le proporciona las herramientas para que lo construya. Esta forma de enseñar y aprender tiene sus ventajas y desventajas. No son guiadas o controladas directamente por un profesor en el aula, pero se beneficia de la planeación y guía de los tutores a través de un medio de comunicación que permita la interrelación profesor-alumno, facilitan formas novedosas y más eficientes de comunicación e intercambio de información con independencia absoluta de la geografía, eliminando las barreras geográficas. Lograr que el alumno tenga un papel activo, que no se limite a recibir información, sino construya su propia formación es uno de nuestros mayores desafíos como formadores de los futuros líderes de la Ciencia y la Tecnología, para que puedan aportar las soluciones de las sociedades de nuestra región y de este mundo globalizado.

### S96. Utilizando artículos científicos como una herramienta de enseñanza

Diana L. Vullo\*

\*Área Microbiología, Depto. de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Univ. de Buenos Aires. Área Química Ambiental- Univ. Nacional de General Sarmiento-CONICET. J. M. Buenos Aires, Argentina. Contacto: dvullo@ungs.edu.ar

La estimulación del desarrollo de las habilidades cognitivas necesarias para el análisis crítico de los artículos científicos es un objetivo a cumplir en la enseñanza de las ciencias. En nuestra experiencia, utilizamos artículos científicos como recurso didáctico para favorecer la participación activa de los estudiantes en la construcción del conocimiento. Los papers son la herramienta que permite a los estudiantes familiarizarse con la naturaleza de la investigación científica y su comunicación, y si bien se espera que un científico sea capaz de comprender y discutir el trabajo realizado por sus colegas, muchos graduados universitarios suelen tener al principio ciertas dificultades a la hora de interpretar artículos relacionados con la temática de su actividad profesional o de sus estudios de posgrado. Uno de los principales obstáculos con el que se encuentran los estudiantes en sus primeras lecturas de papers es su estilo, el cual es muy diferente al de los libros de texto. En estos últimos se hace, por lo general, poco hincapié en los diseños experimentales que permitieron arribar a una conclusión

o dilucidar un determinado proceso. Por otra parte, los artículos suelen estar destinados a personas conocedoras de la temática, por lo tanto, si bien es importante introducir la lectura de artículos tempranamente en la planificación curricular de una determinada carrera, la selección de los textos debe ser cuidadosa y tener en cuenta principalmente los conocimientos previos de los estudiantes. El análisis del desempeño de los estudiantes luego de la utilización de este recurso nos mostró que estas clases no sólo ayudan a desarrollar destrezas cognitivas superiores sino que también constituyen una muy buena herramienta para la integración de los contenidos teóricos y prácticos del curso dictado.

### 597. Articulando conteúdos específicos como o lúdico e a afetividade no processo de ensino da microbiologia

Bruno Severo G.\*

\**Micologia Médica, Universidade Federal de Pernambuco, Brazil. Contacto: severogomes@gmail.com*

Na busca de saber a importância do afeto na relação entre aluno-professor, sabe-se que a afetividade é considerada como um dos fatores a ser desenvolvido nessa relação, pois é através das interações sociais que se constrói a aprendizagem. O professor pode ter uma postura de facilitador, estimulando o processo de aprendizagem ou bloquear o desenvolvimento desse sujeito em construção. Neste contexto a microbiologia como uma vertente da biologia, apresenta importância cada vez maior para a sociedade. As bactérias, os fungos e os vírus estão presentes em nosso dia a dia promovendo tanto benefícios, quanto malefícios. A percepção e compreensão do mundo microscópico pelos alunos não é fácil, tendo em vista que vivem no mundo com dimensão oposta aos dos micro-organismos. Os educadores têm uma árdua tarefa ao preparar e ministrar suas aulas, tentando se esquivar de aulas expositivas com cópias e uso exclusivo do livro didático. Esse tipo de aula tem promovido desinteresse no aluno, capacidade baixa de reflexão, de julgamento e compreensão da realidade de seu meio. A presente palestra pretende relatar atividades e experiências vivenciadas no processo ensino-aprendizagem em microbiologia e divulgar a importância do processo de construção do conhecimento utilizando a pedagogia da problematização e afetividade junto professor – estudante. Serão abordadas formas alternativas para o ensino de Microbiologia no ensino fundamental, médio e superior, bem como instigar os participantes a tornar o estudo dos fungos, bactérias e vírus mais dinâmicas e motivadoras para a construção do conhecimento e aumento do rendimento no processo de ensino e aprendizagem. Assim, serão abordados temas básicos dos conteúdos escolares relacionados a microbiologia e suas aplicações na vida das pessoas com fundamentação de princípios didáticos, sugestões de atividades e dinâmicas que objetivam aperfeiçoar o desempenho do docente frente ao ensino. Demonstrar novas abordagens, inserção social e no mercado de trabalho.

### 598. ¿Qué espera un estudiante de Microbiología con los Centros de Biorecursos?

Laura Acevedo U.\*

\**Facultad de Ciencias Químicas de la Univ. Nacional de Asunción (UNA), Paraguay. Contacto: juanaortelladopy@gmail.com*

¿Se tiene un sistema educativo para formar ciudadanos capaces de afrontar los retos del presente? La memorización mecánica no se ajusta a las necesidades de la sociedad y difícilmente crea profesionales con capacidad a la resolución de problemas cotidianos. El proceso de aprendizaje se inicia en instigar todo aquello que impulse al alumno a investigar, a tener espíritu crítico y pensar en profundidad. Fundamentada en el compromiso de la comunidad científica, mediante un ASM Biorecurso el alumno busca espacios académicos favorables a la investigación y todo aquello que complete su saber. Una búsqueda continua en la creación de aquello innovador que despierte la inquietud del alumno a salir de la rutina, no repetir, generar preguntas, y capacidad

a resistir los obstáculos. Todo un camino a recorrer para revelar una mejora en la educación.

### 599. La enfermedad de Chagas y el medio ambiente: una visión sintética de dos sistemas complejos

Christine A. Romaña\*

\**Universidad París Descartes, Francia.*

Actualmente la enfermedad de Chagas (cuyo agente causal es el parásito *Trypanosoma cruzi*) se presenta bajo diferentes aspectos ecoepidemiológicos y clínicos en función de las modificaciones que ejercen sobre el paisaje las actividades humanas y según los territorios donde estos eventos suceden. En los ecosistemas forestales del trópico húmedo como son los bosques de la Mata Atlántica, Amazonía, Chocó, América central o Yucatán, la estructura y el funcionamiento de los focos de Chagas están principalmente asociados a especies de insectos vectores del parásito del género *Rhodnius*. Estos insectos entran en contacto con las poblaciones humanas en diferentes de aquellas clásicamente conocidas en el siglo XX. Estas últimas están mayoritariamente asociadas con los insectos vectores de los géneros *Triatoma* o *Panstrongylus* que se dan en los ecosistemas forestales tropicales semisecos o secos como son la *Caatinga* y el *Cerrado* en el Nordeste del Brasil o el *chaco* argentino. La vigilancia epidemiológica de la tripanosomosis americana deberá entonces tener en cuenta principalmente el tipo de ecología de las especies de insectos vectores, los dos biomas y sus modificaciones por las dinámicas de ocupación del suelo de las poblaciones humanas, sin olvidar las variaciones climáticas locales y globales.

### 5100. Gestión y aseguramiento de la calidad en Centros de Recursos Microbianos (mBRCs)

Aurora Zuzuarregui\*†, David R. Arahal\*†, Patricia Elizaquível\*, Jose Miguel López-Coronado\*, Laura López\*, Teresa Lucena\*, Mari Carmen Macián\*, María A. Ruvira\*, Rosa Aznar\*†

\**Colección Española Cultivos Tipo, Universidad de Valencia, Paterna, España.* †*Departamento de Microbiología y Ecología, Universidad de Valencia, Burjassot, España.*

Según la OECD -“Los Centros de Recursos Biológicos (BRCs) son una parte esencial de la infraestructura en la que se sustenta la biotecnología. Son proveedores de servicios y repositorios de células vivas, genomas e información relativa a la herencia y a las funciones de los sistemas biológicos. Los BRCs deben proporcionar acceso a los recursos biológicos de los que depende la investigación en ciencias de la vida y el avance de la biotecnología”. Para que los BRCs cumplan esta función deben regirse por normas aceptadas internacionalmente que aseguren la sostenibilidad de los centros, la calidad de los recursos, la protección de los trabajadores y usuarios, la vigilancia de la legislación y la promoción de la mejora continua, entre otros. El objetivo fue evaluar las diferentes normas aplicables a Centros de Recursos Microbianos (mBRCs). La metodología utilizada fue Normas ISO 9001, 17025, guía 34, etc. Guía de Buenas Prácticas para Centros de Recursos Microbianos (mBRC BPGs) de la OECDa. Guía WFCC (Federación Mundial de Colecciones de Cultivo) para Colecciones de Cultivos. Como resultado las normas ISO presentan elementos comunes, que son muy generales, y otros específicos para procesos muy concretos que no reflejan la función principal de los BRCs. Las únicas pautas específicamente diseñadas para la gestión y operación de BRCs son las de la OECD y las de la WFCC pero ambas son guías y, por tanto, no son certificables o acreditables por organismos independientes. En conclusión los BRCs deben cumplir elevados niveles de calidad y experiencia aceptados internacionalmente para dar respuesta a las exigencias de la comunidad científica y la bioindustria y contribuir así al progreso de la ciencia y la biotecnología. Para ello, la elaboración de normas internacionales certificables y/o acreditables serían de gran ayuda para garantizar la estandarización en cuanto a gestión y procedimientos.

### TLO-1. *Megathyrus maximus* (Guinea grass) *Rizosphere xerophile* bacteria helps to ameliorate drought stress

Andrés Eduardo Moreno G.\*, Laura Avellaneda F.\*,  
Felipe Andrés Romero P.\*, Ruth Rebeca Bonilla B.\*

\*Corporación Colombiana de Investigación  
Agropecuaria - CORPOICA, Colombia.

**Introducción.** La sequía es una de las limitantes climáticas de mayor efecto tanto fisiológico como económico sobre los cultivos, produciendo millonarias pérdidas a nivel mundial. La búsqueda de microorganismos nativos de ambientes semiáridos asociados a gramíneas como *Megathyrus maximus* (pasto Guinea) para mitigar los efectos del estrés hídrico.

**Materiales y métodos.** Se aislaron rizobacterias asociadas a pasto Guinea en suelos semiáridos en el Caribe seco colombiano, basados en su tolerancia a baja disponibilidad de agua simulada en medios suplementados con D-Sorbitol. Estas fueron evaluadas en su actividad ACC-deaminasa, producción de Exopolisacáridos (EPS), así como para diferentes características asociadas a la promoción del crecimiento vegetal, siendo la mayoría, caracterizadas y clasificadas dentro del género *Bacillus*.

**Resultados.** Se obtuvieron 42 aislamientos tolerantes a baja actividad de agua (0,957 aw), donde únicamente cinco soportaron 0,919 aw, siendo todos capaces de producir exopolisacáridos, y presentar actividad ACC-deaminasa en un rango de 0,443 a 2,255  $\mu$ moles  $\alpha$ -cetobutirato h-1 mg-1 proteína. La producción de Ácido Indol Acético (AIA) sobrepasó los 0,630 mg mg-1 proteína, así como la solubilización de fósforo 0,180 mg mg-1 proteína en todas las cepas. Se logró la promoción de crecimiento en *Zea mays* l. Por dos cepas de *Bacillus* spp., bajo estrés hídrico (30% capacidad de campo). La acumulación de prolina, así como la relación Glutatión Reductasa (GR) y Ascorbato Peroxidasa (APX) se vio incrementada en presencia de las bacterias, concordando con incrementos en la acumulación de K, P y CA en las plantas estresadas.

**Conclusiones.** Se estableció el efecto mitigador del estrés abiótico mediado por las diversas capacidades biológicas bacterianas, así como un fortalecimiento del sistema de respuesta a estrés en las plantas. A nuestro conocimiento, este es el primer reporte en describir bacterias asociadas a pasto Guinea en suelos semiáridos colombianos con actividad promotora de crecimiento bajo estrés hídrico.

### TLO-2. ¿Cómo la bacteria halotolerante *Tistlia consotensis* censa los cambios de salinidad externa?

Carolina Rubiano L.\*, Sandra Baena\*

\*Pontificia Universidad Javeriana Colombia.

**Introducción.** *Tistlia consotensis* es una bacteria halotolerante, aislada de un manantial salino localizado en los Andes colombianos, que crece a una concentración óptima de NaCl de 5 g•l-1 pero tolera concentraciones hasta de 40 g•l-1, indicando que presenta mecanismos efectivos para responder a un amplio rango de salinidades. La adaptación exitosa a condiciones cambiantes de salinidad depende de la eficiente señalización de los estímulos percibidos del ambiente. Para explorar los mecanismos involucrados en la detección y transducción de señales de *T. consotensis* en respuesta a cambios de salinidad se realizó un análisis proteogenómico de su exoproteoma y proteoma celular en presencia de altas concentraciones de NaCl.

**Materiales y métodos.** Esta estrategia consistió en (1) secuenciación del genoma, (2) anotación rápida de los genes cuyos productos se detectaron mediante espectrometría de masas, y (3) análisis proteómico comparativo de *T. consotensis* cultivada a 5 y 40 g•l-1 NaCl.

**Resultados.** Indican que en presencia de 40 g•l-1 NaCl, *T. consotensis* aumenta significativamente la abundancia de proteínas relacionadas con el mecanismo de señalización de dos componentes como la proteína receptora MCP, la proteína sensora CheA y la proteína reguladora CheY, que están posiblemente involucradas en la generación de una respuesta quimiotáctica como resultado del incremento de la salinidad. Interesantemente, aunque para *T. consotensis* no se reportó previamente la presencia de flagelos, en este estudio se identificó la flagelina como una de las proteínas más abundantes a 40 g•l-1, lo cual sugiere que la síntesis de flagelo es activada en respuesta al aumento de la concentración de Cl-.

**Conclusiones.** Este estudio proporcionó una visión general de los procesos de señalización empleados por *T. consotensis* en respuesta a un incremento de salinidad, indicando que esta bacteria presenta un mecanismo de percepción y transducción de señales eficiente que permite su rápida adaptación a condiciones cambiantes de salinidad en su hábitat natural.

### TLO-3. Diversidad microbiana de los ambientes hipersalinos acuáticos: metagenómica versus cultivos puros

Antonio Ventosa\*, Ana B. Fernández\*,  
María-José León\*, Cristina Sánchez-Porro\*

\*Dpto. Microbiología y Parasitología, Universidad de Sevilla, España.

**Introducción.** La mayoría de los estudios microbiológicos en ambientes hipersalinos se han realizado en sistemas acuáticos, fundamentalmente en lagos hipersalinos y en salinas solares. En estos ambientes la elevada salinidad no es el único factor ambiental extremo y otros factores como la temperatura, el pH, la concentración de oxígeno disuelto o la irradiación solar limitan la microbiota de los mismos, que está limitada a organismos extremófilos (o poliextremófilos). Las salinas marinas constituyen unos excelentes modelos para el estudio de las comunidades microbianas ya que consisten en una serie de estanques en los cuales la salinidad aumenta desde la correspondiente al agua del mar hasta la saturación de sales. Una de las salinas más estudiadas está localizada en Santa Pola, Alicante, España. A lo largo de más de 35 años se han realizado estudios microbiológicos dependientes de cultivo y más recientemente moleculares, que han permitido el aislamiento de un elevado número de bacterias y arqueas que se utilizan en muchos laboratorios como organismos modelo para estudios relacionados con los mecanismos de estrés y adaptación a condiciones extremas.

**Materiales y métodos.** Recientemente hemos realizado estudios metagenómicos a partir del agua de dichas salinas, en concreto a partir de estanques con salinidades comprendidas entre el 13% y el 37% de sales totales, que nos han permitido determinar con precisión la diversidad procariótica tanto a nivel filogenómico como metabólico.

**Resultados.** Por otro lado, estos estudios han posibilitado el aislamiento y posterior caracterización de nuevos grupos de bacterias y arqueas, no conocidos anteriormente, que son muy abundantes en estos ambientes extremos.

**Conclusiones.** En esta comunicación presentaremos los resultados obtenidos y la utilidad de los mismos, que pueden servir como modelo para estudios microbiológicos en otros ambientes poco estudiados, posibilitando un mayor conocimiento de la microbiota y de sus actividades metabólicas.

### TLO-4. Análisis de la producción y características bioquímicas de una enzima lipolítica intracelular de *Acidocella* sp. USBA-GBX-505

Luisa Fernanda Bernal A.\*, Gina Pilar López R.\*,  
Ricardo Vera B.\*, Sandra Baena G.\*

Pontificia Universidad Javeriana Colombia.

**Introducción.** Las enzimas lipolíticas tienen un alto potencial biotecnológico por su estabilidad en solventes orgánicos, y su actividad enzimática en ausencia de cofactores, además son quimio, regio y enantioselectivas. El objetivo de este trabajo fue el análisis de la producción y las características bioquímicas de la enzima lipolítica de *Acidocella* sp. USBA-GBX-505, organismo acidófilo aislado de un manantial termal ácido ubicado en el Parque Nacional Natural de los Nevados-Colombia.

**Materiales y métodos.** Con el fin de determinar qué factores del cultivo del microorganismo tienen un efecto en la producción de sus enzimas lipolíticas, se utilizó una metodología de superficie respuesta con dos diseños experimentales, Plackett-Burman (PB) y de Composición Central (DCC). Una vez se incrementó la producción de la enzima se procedió a establecer una estrategia de purificación parcial de la enzima lipolítica intracelular (505lip) por HPLC semipreparativa, para obtener un extracto de proteínas para caracterizar bioquímicamente.

**Resultados.** Se identificó que el extracto de levadura y la agitación, son los factores del cultivo de *Acidocella* sp. USBA-GBX-505 que influyen en la producción de enzimas lipolíticas, reflejándose en un aumento de 4,5 veces de la actividad lipolítica intracelular específica del organismo. 505Lip es una lipasa termófila moderada, que presenta mayor actividad sobre sustratos de cadena media como p-nitrofenil decanoato a 55°C. A diferencia de la esterasa ácida reportada para género *Acidocella* la cual presenta predilección por sustratos de cadenas cortas a 70°C.

**Conclusiones.** Se identificó que el extracto de levadura a 6,6 g/L y la agitación a 200 rpm, son los factores del cultivo del acidófilo *Acidocella* sp. USBA-GBX-505. Las características bioquímicas de 505 lip indican que posiblemente sea nueva enzima lipolítica del género *Acidocella*.

### TLO-5. Amazon soil microbiome: impact of land-use changes on the soil-borne microbial communities

Lucas William M.\*, Eiko Eurya K.\*, Acacio Aparecido N.\*,  
Mattias de Hollander\*, Johannes A. Van V.\*, Siu Mui T.\*

Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo Brasil.

**Introduction.** Soil microorganisms are sensitive to environment disturbances and such alterations have consequences on microbial diversity and functions. This study focused on the impact of the land-use change on the structure of soil-borne microbial communities in amazon region, where areas of native forest are converted to agriculture field and cattle pasture.

**Materials and methods.** Here, we used shotgun metagenomics approach to investigated the taxonomic and potential functional structures, composition and diversity of microbial communities in soils from different land-uses types in Southeastern Amazon, I.E. Native forest, deforested area, agriculture and pasture.

**Results.** As a response to the land-use change the soil microbial communities presented different structure among sites, differences that were larger in magnitude than temporal variability. Major differences were observed in community composition as shown by the differential distribution of proteobacteria, acidobacteria, verrucomicrobia, actinobacteria, chloroflexi, bacteroidetes, firmicutes and planctomycetes. Genes related to nutrient cycle, respiration and resistance to stress were found abundantly in forest. The altered soil presented high abundance of genes related to metabolism of DNA, RNA and protein. Agriculture soils and pasture were among the most diverse taxonomically and functionally. In forest, the ecosystem function is maintained by the microbial abundance, while in agriculture and pasture is maintained by high diversity and functional redundancy.

**Conclusions.** Taken together, our results indicate that land-use change alters the structure and composition of microbial communities, however the ecosystem functionality is overcome by different strategies based on the abundance and diversity of the communities.

### TLO-6. Microbial community structure and dynamics of two biological sulphide oxidation reactors

Renata Côrtes de Oliveira D.\*, Graziella Patrício Pereira G.\*,  
Sarah Kinaip B.\*, Vitor Araujo de Souza F.\*, Eider Max de Oliveira G.\*,  
Rodrigo Argolo T.\*, Merly Rita Dos S.\*, Ana Luiza Rodrigues Dias C.\*,  
Carlos Augusto L. Ch.\*, Juliana Calábria de A.\*

\*Depto. de Engenharia Sanitária e Ambiental  
da Universidade Federal de Minas Gerais, (UFMG).

**Introduction.** The Up-flow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) reactor is an established technology for domestic wastewater treatment in Brazil. However, hydrogen sulphide (H<sub>2</sub>S) produced remains dissolved in the effluent leading to a bad odour in the vicinity of the treatment unit, as well as inhibit metabolism of microorganisms responsible for the degradation of organic matter. Nevertheless, the sulphide produced can be oxidized by biological process, which offers operational advantages because they operate at room temperature and atmospheric pressure. Therefore, we developed a biological sulphide oxidation system and evaluated two reactors with different support materials for biomass retention: polypropylene rings and polyurethane foam.

**Materials and methods.** The microbial community structure and composition of the biomass developed in two reactors were investigated with the help of data obtained from Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) and 454-pyrosequencing analyses. The start-up reaction was achieved using microorganisms naturally occurring on the open surface of UASB reactors treating domestic wastewater.

**Results.** Sulphide removal efficiencies of 65% and 90% were achieved with Hydraulic Retention Times (HRTs) of 24 and 12 h, respectively, in both reactors. The pink and green biomass that developed in both reactors comprised a diverse bacterial community and the DGGE band profiles showed sequences related to phototrophic green and purple sulphur bacteria such as *Chlorobium* sp., *Chloronema giganteum*, and *Chromatiaceae*. The reduction of HRT changed the microbial community structure and composition. The results of pyrosequencing demonstrated that there were 12 genera of purple sulphur bacteria and some of them (*Rhodospseudomonas*, *Blaschschloris*, *Chromatium*) were present in both reactors and in both HRTs.

**Conclusions.** Results of this study provided insights into the bacterial community structure and revealed the potential linkage between micro-

bial community composition and performance of the sulphide biological oxidation reactors. The potential for sulphur recovery from anaerobically treated domestic wastewater was also seen.

### TLO-7. Molecular cloning and functional characterization of a catalase gene from a *Bacillus safensis* strain isolated from an oil-impacted Brazilian mangrove sediment

Júlia Ronzella Ottoni\*, Lillian Luzia Beloti\*, André Da Silva Santiago\*,  
Bruna Zucoloto Da Costa\*, Itamar Soares De Melo\*, Anete Pereira  
De Souza\*, Anita Jocelyne Marsaioli\*, Valéria Maia De Oliveira\*

\*Universidade estadual de campinas - unicamp/cpqba Brasil.

**Introduction.** Mangroves are rich environments which harbor a wide diversity of life. They generally constitute an extreme habitat for microorganisms due to their high salinity, anoxic conditions, lack of nutrients and pH variations. Beyond these harsh characteristics, the bertioaga city mangrove (Brazil) was affected by an oil spill in 1983, which promoted a selection of microorganisms adapted to such environment. Adapted microbial communities may constitute important source of active molecules, however, researches involving microbial diversity in these environments are scarce, making the knowledge of new microorganisms in mangroves an urgent issue. The aim of this work was to characterize a novel catalase gene from *Bacillus safensis* strain ccma-560 isolated from bertioaga mangrove.

**Materials and methods.** The catalase gene was discovered by *in silico* analysis of img/m annotation of its genome, followed by gene PCR amplification using specific primers, and subsequent cloning, expression and purification. The catalase gene was cloned into pet28a expression vector which contains a 6x-his-tag and transformed into *E. coli* bl21(de3) rosetta cells. The recombinant enzyme was overexpressed in lb broth supplemented with 30 µg/mL of kanamycin and 34 µg/mL of chloramphenicol for 16 h incubation at 25°C/200 rpm. Induction of protein expression was achieved by addition of 0.4 mM iptg and purification was performed by affinity chromatography. Catalase activity was accessed using hydrogen peroxide as substrate.

**Results.** The overexpressed enzyme was active in a broad pH (6-10) and temperature (22°C-60°C) range.

**Conclusions.** Results indicated alkali and thermotolerant behavior of catalase. Further functional and structural characterization may provide valuable data about the versatility of this new enzyme from an extremotolerant microorganism isolated from mangrove sediments. Acknowledgements: fundação de amparo à pesquisa do estado de são paulo -fapesp. Processes: 2010/51981-3, 2011/50809-5, 2013/16813, 2011/50268-4, 2011/10378-5.

### TLO-8. Diseño de biosensor para detectar arsénico utilizando cromoproteínas como sistema reportero

Diana Paola Tamayo F.\*, Sergio Mauricio Latorre O.\*,  
Pedro Filipe Brito B.\*

Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Colombia.

**Introducción.** El arsénico es un metaloide causante de hiperqueratosis y diferentes tipos de cáncer. La organización mundial de la salud recomienda un límite máximo de 10 µg as/L en agua potable. Los métodos para la detección del elemento son costosos, demorados y difíciles de implementar, por lo que el diseño de biosensores es una solución pues son sistemas económicos, sensibles, portátiles y de fácil manejo. En Colombia aún es escasa y reciente la información sobre el potencial riesgo de contaminación por as, siendo reportada su presencia principalmente en los departamentos de Caldas, Nariño y Tolima. El trabajo reporta el diseño de un biosensor para la detección de as en aguas utilizando cromoproteínas como sistema reportero.

**Materiales y métodos.** Se diseñaron 11 pares de primers con el fin de amplificar y posteriormente secuenciar regiones codificantes del gen regulador ARSR presentes en cepas nativas resistentes a arsénico y en clones provenientes de un estudio metagenómico de muestras ambientales de Colombia. Un set de cromoproteínas de distintos colores están siendo implementadas a manera de gen reportero, lo que permite la fácil y rápida visualización sin necesidad de adicionar sustratos al medio de cultivo. El ensamblaje del biosensor se está realizando utilizando el vector de clonación puc19 y el kit de clonación biobrick assembly kit utilizando *E. coli* DH5α como célula hospedera.

**Resultados.** El gen ARSR fue identificado en las cepas nativas resistentes a arsénico y en los clones provenientes del estudio metagenómico. Las secuencias obtenidas mostraron una estrecha relación con los genes ARSR de *Bacillus cereus* ATCC 14579 (identidad del 99%,  $e=2e-64$ ) y *Escherichia coli* st540 (identidad del 100%,  $e=0.0$ ). Se presentarán los avances del constructo del gen ARSR con las cromoproteínas reporteras.

**Conclusiones.** Se pretende que el biosensor sea implementado para monitorear as en aguas potables, ampliando la información sobre la presencia del metaloide en el país.

### TLO-9. Caracterización molecular y metabólica de la comunidad bacteriana asociada a sedimentos contaminados con arsénico

Carla Leon\*, Benner Giacomozzi\*, Claudia Vilo\*,  
María Angelica Mondaca\*, Victor Campos\*

\*Universidad de Concepción Chile.

**Introducción.** La presencia de contaminantes en el ambiente tiene efectos sobre la abundancia y diversidad de las comunidades bacterianas. El objetivo fue analizar la composición de las poblaciones bacterianas de sedimentos contaminados con arsénico y relacionar la frecuencia de aparición de genes resistencia con distintas concentraciones de arsénico.

**Materiales y métodos.** Se obtuvieron muestras de sedimentos de tres sectores del río camarones (desierto de Atacama). Se cuantificó la concentración de arsénico de cada sector mediante HPLC/hg/ass. La diversidad bacteriana fue estudiada mediante análisis del gen ADNr 16s por DGGE y la construcción de librería de clones. El análisis de secuencias fue realizado mediante diferentes herramientas bioinformáticas. Las bacterias aisladas fueron caracterizadas mediante ensayos moleculares y metabólicos.

**Resultados.** Sedimentos i, ii, y iii presentaron concentraciones de arsénico de 1,3 ppm, 0,75 ppm y 0,25 ppm respectivamente. Los análisis de pca obtenidos del patrón de bandedo del DGGE mostraron diferencias significativas en cada sedimento estudiado. Similares resultados fueron obtenidos mediante los análisis bioinformáticos de la librería de clones, mostrando que la comunidad bacteriana de sedimento i es el menos diverso y restringida a unos pocos tipos dominantes. Análisis moleculares demostraron la presencia de genes ars en todas las cepas aisladas. En cambio los genes AIO fueron detectados con mayor frecuencia la cepas aisladas desde el sed i.

**Conclusiones.** Se puede concluir que la diversidad microbiana cambia de acuerdo al gradiente de contaminación con un aparente aumento en la diversidad en los sitios con menor contaminación. Por otro lado la presencia de genes aoi esta directamente relacionada a la concentración de arsénico, en cambio la presencia de genes ars en las cepas aisladas, es independiente de la concentración de arsénico, sin embargo presenta una directa relación con la frecuencia de aparición y con la expresión de los mecanismos de supervivencia frente a la exposición a metaloide.

### TLO-10. Obtención del bioetanol a partir de residuos orgánicos de frutas

Lizzeth Danitza Lunario D.\*, Nancy Ortiz V.\*,  
Jorge Bernabe Amuskivar F.\*

Universidad Técnica de Oruro Bolivia.

**Introducción.** La obtención del bioetanol a partir de residuos orgánicos de frutas, es un tema que presenta mucho interés en todo el mundo en cuanto al estudio del proceso y beneficios que puede llegar a obtenerse. Por ello el objetivo es demostrar que se puede obtener bioetanol con elevada concentración a partir de desechos de fruta mediante una fermentación generando un modelo cinético

**Materiales y métodos.** Material de vidrio fermentador destilador cromatografía de gases termómetros digitales multiparametricos labquets se diagnostico la materia prima y su selección, elección del microorganismo, aplicar una fermentación discontinua, encontrar el modelo cinético y aplicar una destilación

**Resultados.** Se muestran que en la ciudad de oruro se generan 2006,44 kg de residuos de frutas al día, de las corridas experimentales de la fermentación de los residuos realizadas permitieron obtener los datos más aceptables que fueron en las condiciones de 30°C en el fermentador, 140 [g/L] de azúcares totales iniciales de sustrato, pH 4.5, Concentración de levadura inicial 8[g/L], cuyos parámetros permite obtener una mayor eficiencia de producción de etanol de 94,9%. Se realizó el modelo

cinético, llegando a obtener un coeficiente de correlación de 98%. Se encontraron los mejores datos en las condiciones iniciales de composición 0,025 en fracción molar, esteres en forma de acetato de etilo de 6,78 mg/100 mL, se obtiene una mayor eficiencia en la obtención de bio-etanol de 80% acerca del volumen recuperado en su forma pura y 63% en el proceso de destilación

**Conclusiones.** los resultados permiten establecer que es posible obtener bio-etanol a partir de los residuos de frutas en los diferentes centros de venta de frutas de la ciudad de oruro-bolivia, se investigó los parámetros óptimos para obtener el mayor rendimiento obteniendo 67 mL de etanol por kg de residuos al 94% de pureza son obtenidos en todo el proceso.

### TLO-11. Aislamiento e identificación de bacterias degradadoras de TNT y 2,4-DNT

Hernán Darío Avellaneda A.\*, Fabio Augusto Roldán G.\*, Ziv Arbeli\*

\*Pontificia Universidad Javeriana Colombia.

**Introducción.** El 2,4-dinitrotolueno (DNT) y el trinitrotolueno (TNT) son nitroaromáticos xenobióticos presentes en el ambiente principalmente por la producción, almacenaje y uso de explosivos. Estos compuestos han demostrado tener efectos adversos en la salud y ambiente, por lo cual se ha generado un gran interés en su biodegradación. El objetivo del estudio fue aislar bacterias capaces de degradar DNT y TNT simultáneamente, sin la adición de una fuente de carbono ni nitrógeno adicional.

**Materiales y métodos.** Se realizó un screening para bacterias degradadoras de dnt a partir de cepas degradadoras de TNT aisladas en estudios previos. Para esto, las bacterias fueron cultivadas en medio mineral suplementado con DNT (0.55 Mm) por 14 días, monitoreando la concentración del compuesto (GC-FID) y la producción de nitritos. Posteriormente, las bacterias seleccionadas fueron cultivadas en presencia de TNT (0.44 Mm) y DNT (0.55 Mm) sin adición de una fuente de carbono ni nitrógeno adicional durante 14 días, realizando monitoreo de la concentración de DNT, TNT y nitritos.

**Resultados.** Se obtuvieron 2 cepas capaces de degradar dnt como única fuente de carbono y nitrógeno. Estas cepas fueron identificadas como *Rhizobium* sp. y *Raoultella* sp. por secuenciación del gen rna 16s. Al ser cultivadas en medio mineral suplementado con DNT y TNT, *Rhizobium* sp. fue capaz de degradar DNT (92.8%) y TNT (45.8%), mientras la cepa *Raoultella* sp. no mostró degradación de ninguno de los dos compuestos.

**Conclusiones.** Se aisló una cepa capaz de degradar DNT y TNT simultáneamente sin necesidad de adición de una fuente de carbono ni nitrógeno adicional. Esta cepa tiene uso potencial para el tratamiento de sitios contaminados con explosivos, en los cuales el DNT y el TNT son los principales compuestos encontrados. Así mismo, las enzimas implicadas en la degradación podrían ser utilizadas en el desarrollo de biosensores para explosivos.

### TLO-12. Thermoactive keratinase produced by *Thermophilic anoxybacillus* sp. Pc2 isolated from brazilian semiarid region (Caatinga)

Sharon Vieira Dos Reis\*, Lucas Tirloni\*, Adriana Seixas\*,  
Carlos Termignoni\*, Alexandre José Macedo\*

\*Universidade Federal do Rio Grande do Sul Brasil.

**Introduction.** Keratinases are proteases of special interest due to their action on insoluble keratin, which is the major component of feathers. The poultry feathers are a source of amino acids, and therefore, are converted to feather meal to be used as animal feedstuff. However, this product has low nutritional value due to its poor digestibility, since keratin is not degraded by common proteolytic enzymes. In this context, microbial keratinases are a promising approach to convert keratin into protein hydrolysates. The aims of this study were to select and identify a thermophilic bacterium from Caatinga biome (Brazil) capable to produce a thermoactive keratinase; purify and characterize the enzyme.

**Materials and methods.** The bacterium was isolated and selected based on its capability to produce protease on milk agar plates incubated at 60°C, followed by evaluation of its capability to degrade feathers in a basal feather medium. Identification of the isolate was based on 16s rRNA gene. The keratinolytic protease produced was partially purified by concentration in a centrifugal filter device (30,000 nmwl) and anion-exchange chromatography.

**Results.** The selected bacterium was identified as *Anoxybacillus* sp. and produced keratinase in a medium composed of 2% feather waste, 0.04% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.2% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> and 0.05% NaCl incubated at 60°C. The partially purified protease was active in a pH range of 5.0-10.0 With high activity in temperature range of 50°C-80°C. The optimum activity was observed at pH 7.0 And 50°C-60°C. A preliminary study identified the presumable keratinolytic protease as a neutral metalloprotease whose gene showed 98% similarity with *Geobacillus stearothermophilus* NPRS gene.

**Conclusions.** *Anoxybacillus* sp. Pc2 demonstrated capability to produce a thermostable keratinase that is efficient to degrade chicken feathers. This bacterium and its enzyme have potentially useful characteristics for industrial and biotechnological applications, such as keratin hydrolysis and feedstuffs nutrient improvement.

### TLO-13. Nuevas actinobacterias raras desde sedimentos marinos de la Bahía de Valparaíso, Chile: aislamiento, diversidad y potencial de producción de compuestos bioactivos

Fernanda Claverías\*, Agustina Undabarrena\*, Myriam González\*, Michael Seeger\*, Beatriz Camara\*

\*Universidad Técnica Federico Santa María Chile

**Introducción.** Las actinobacterias raras provenientes de ambientes marinos inexplorados, son una prometedora fuente de compuestos bioactivos. Estos compuestos presentan una extensa diversidad funcional, como actividad antibacteriana, anticancerígenos, inmunosupresores, entre otros. Gran parte de estos metabolitos son sintetizados a través de las vías de las Enzimas Policétidos Sintetas (PKS) y Sintetasas de Péptidos no Ribosomales (NRPS). El objetivo de este trabajo fue identificar actinobacterias marinas potenciales productoras de compuestos bioactivos utilizando sedimentos marinos de la bahía de Valparaíso.

**Materiales y métodos.** El aislamiento de los microorganismos fue realizado con distintas condiciones de cultivo que favorecieran el crecimiento de actinobacterias marinas. La identificación de las cepas se realizó mediante secuenciación del gen rRNA 16s. La presencia de genes biosintéticos fue evaluada por amplificación por PCR de genes que codifican PKS y NRPS.

**Resultados.** A partir de los sedimentos marinos se aislaron diversos microorganismos marinos. El análisis comparativo de las secuencias parciales del gen rRNA 16s (regiones v5 a v2) con la base de datos del NCBI, permitió identificar 68 cepas pertenecientes al phylum actinobacteria con afiliaciones genéticas a 18 géneros. Se identificaron 6 posibles nuevas cepas, dado el bajo porcentaje de identidad (<98.5%) De las secuencias casi completas del gen rRNA 16s (regiones v1 a v8). Dos de estas cepas representan dos probables nuevos géneros, relacionados con los géneros *Salinactinospora* (93.9%) y *Trueperella* (92.7%). Se detectó la presencia de genes que codifiquen NRPS en el 33% de los aislados y de genes que codifican para PKS en el 56% de los aislados.

**Conclusiones.** La Bahía de Valparaíso representa una importante fuente para la bioprospección de nuevas y raras actinobacterias marinas. La presencia de genes que codifiquen PKS y NRPS en las actinobacterias aisladas, evidencia su potencial como productoras de compuestos bioactivos.

### TLO-14. Biodegradation of Polychlorinated Biphenyls (PCB) in polluted soli using different plants and bacterial inoculum

Nancy Pino\*, Luisa Munera\*, Gustavo Peñuela\*

\*Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

**Introduction.** Polychlorinated Biphenyls (PCB) are organic compounds, used extensively in industrial applications until the mid 1970's. PCBs representing a serious environmental problem due to their low degradability, high toxicity, and strong bioaccumulation. Phytoremediation, which uses the symbiosis between plant species and rhizosphere, called rhizoremediation, plays an important role in the removal of PCBs from contaminated soil, for this reason currently there is a special attention on bacteria and plants that can act together for biodegradation of pollutants from the environment. The aim of this study was to evaluate the effect of bioaugmentation by bacterial inoculum, on the removal of PCB contaminated soil using medicago sativa, brassica nigra, avena sativa, and brachiaria decumbens plants.

**Materials and methods.** Microcosm experiments were conducted using soil spiked with PCB congeners with different degrees of chlorination. The assays were carried out in green house pot experiments. The bacterial inoculum was previously isolated and identified from rhizosphere of plants growing in PCB polluted soil. Treatments included soil with plants and bacterial inoculum, soil with plants, soil without plants, and soil with bacterial inoculum. Plants were grown in pot with 200 gr of soil and inoculated with 50 mL of microbial culture (1x10<sup>6</sup> cfu/ mL). After four weeks of incubation effect of microbial inoculation on PCB removal was analyzed using gas chromatography with uecd, plant growth, enzyme activity, presence gene bpha, were also analyzed. The bacterial abundance was measured by colony counting and 16s rDNA quantification by real-time PCR.

**Results.** The bacterial inoculation significantly enhanced the growth and PCBremoval of all test plant (p <0.05). The copy numbers of the bpha genes, total bacteria counts, and enzyme activity were highest in planted and inoculated soil

**Conclusions.** It is concluded that the presence of inoculum significantly promoted the removal of PCBs and growth of plants used in the experiment.

### TLO-15. Biosensor para la determinación de dióxido de carbono a partir de un extracto enzimático inmovilizado de *Methanococcus deltae*

Raúl Alberto Cuervo M.\*, Fabián Felipe Fernández D.\*

\*Universidad de San Buenaventura Colombia.

**Introducción.** El CO<sub>2</sub> es un gas no flameable, inoloro en concentraciones de 0,03% en el aire, producido por la combustión incompleta, respiración animal, vegetal, entre otros. Se emplea en la industria de refrescos, inertización de reactores, tanques o equipos de transferencia, soldadura por arco, fundición, producción plástica y la industria química entre otras. El incremento de concentración en ambientes cerrados (bodegas, interiores, entre otros) de CO<sub>2</sub> puede generar toxicidad en el humano. Así, la detección y el monitoreo de este gas se convierte en un objetivo de la política gubernamental y así desarrollar un biosensor para la determinación de dióxido de carbono mediante la inmovilización de extracto celular de *Methanococcus deltae*.

**Materiales y métodos.** Se empleó la bacteria *Methanococcus deltae* (ATCC # 35294), se creció en medio salino para metanogenos de estuarios medio ATCC® 1343, incubando a 37°C, por 72 h en condiciones anaeróbicas (80% H<sub>2</sub>, 20% CO<sub>2</sub>). El extracto enzimático se obtuvo por sonicación, fricción mecánica y exposición a liticase, la eficacia se evaluó por conteo en cámara de Neubauer. El extracto fue purificado en columna de DEAE y columna de sephadex g-100 (40 a 120 µm). La concentración proteica se determinó por el método de folin lowry. La actividad enzimática se evaluó por espectrofotómetro a 664 nm por 30 min.

**Resultados.** La eficiencia de lisis celular fue de 44,6%, 33,4% y 77% para sonicación, fricción mecánica y lisis por liticase. La concentración enzimática se observó en un rango de 1.300 a 15.800 mg/mL con actividad enzimática en rango 0.300 a 100.000 Microu/mg proteína, el sistema detecta hasta 5 ppm de CO<sub>2</sub> en el medio.

**Conclusiones.** El biosensor diseñado es altamente específico y sensible (5 ppm), siendo útil para la medición de CO<sub>2</sub> tanto en el ambiente como en procesos importantes a nivel agroindustrial.

### TLO-16. Genes de resistencia microbiana a arsénico en un metagenoma del río Bogotá

Sergio Mauricio Latorre O.\*, Pedro Filipe de Brito B.\*

\*Universidad Nacional de Colombia. Colombia.

**Introducción.** Entre los elementos con mayor toxicidad descrita para humanos, se encuentra el arsénico. Sus impactos son de gran magnitud en la India, Bangladesh y en varios países del cono sur de América Latina. En Colombia, recientes trabajos alertan sobre un riesgo potencial que aún no está suficientemente diagnosticado. La búsqueda de elementos de regulación metabólica del arsénico en ambientes contaminados es una prioridad para el diseño de estrategias de remoción del metaloide. El objetivo de este trabajo fue la búsqueda de genes de resistencia a arsénico en el metagenoma del río Bogotá.

**Materiales y métodos.** Se tomaron muestras de suelos, sedimentos y aguas de la cuenca media del río Bogotá. A partir del ADN metagenó-

mico se generó una librería con la implementación del vector pcc2fos y la célula hospedera *E. coli* epi-300. Niveles de 20 mm y 50 mm de arsénico fueron implementados para identificar los clones resistentes al metaloide y sus secuencias genéticas fueron analizadas con herramientas bioinformáticas.

**Resultados.** Se generó una librería de alrededor 50.000 Clones con una cobertura teórica aproximada de 2000 mb. Once clones resistentes a arsénico fueron identificados en la librería. Las secuencias obtenidas sugieren la presencia de los genes ARSA, ARSB, ARSC, ARSD y ARSR, relacionados con el metabolismo de reducción del arsenato a arsenito.

**Conclusiones.** Los elementos genéticos identificados están estrechamente relacionados a mecanismos de detoxificación microbiana del arsénico. Los genes encontrados hacen parte del operón ars el cual se basa en un mecanismo de detección de muy bajas concentraciones de arsénico. La identificación de este operón permite su aislamiento para su utilización en el diseño de herramientas biotecnológicas como biosensores.

### TLO-17. Método de biología molecular para identificación de bacterias degradadoras de hidrocarbonetos

Guillermo Ladino-Orjuela\*, Eleni Gomes\*

\*Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Ibilce, Universidade Estadual Paulista - Júlio de Mesquita Filho - UNESP Brasil.

**Introdução.** Entre os métodos de biologia molecular para a identificação de bactérias, o mais usado é o de sequenciamento do fragmento de DNA que codifica a subunidade 16s do rRNA. Hoje se sabe que muitas bactérias possuem mais de um segmento de DNA com a informação da subunidade ribossomal. O objetivo foi identificar pelo método do vector plasmidial bactérias isoladas de solos com histórico de contaminação por hidrocarbonetos.

**Materiais e métodos.** a extração DNA genômico foi feita usando o protocolo ultra clean microbial DNA isolation kit da mobio laboratories. A amplificação do fragmento de DNA genômico que codifica a subunidade 16s rRNA foi pela técnica de PCR. Os primers utilizados foram o 27f (5'-tag tgt aaa acg acg gcc agt-3') e o 1494rc (5'-tag cag gaa aca gct atg acc-3') empregando um ciclo térmico com começo em 94°C por 2 minutos seguido de 30 ciclos de 94°C por 15 segundos, 55°C por 15 segundos e 72°C por 45 segundos. A extensão final teve 5 minutos a 72°C. O fragmento amplificado de rDNA foi ligado em um vector (plasmídeo) usando os primers m13f (5'-gcc agg gtt ttc cca gtc acg a-3') e sp6r (5'-aat tag gtg aca cta tag aa-3'). A transformação da *E. coli* DH5α Foi com a inserção do plasmídeo por choque térmico. As bactérias recombinantes (crescimento, ausência de cor azul) foram selecionadas e clonadas em meio sólido lb. Foi extraído o vector e o segmento de DNA amplificado pela técnica de PCR utilizando os primers internos 357f (cct acg gga ggc agc ag-3') e 704r (tct acg sta ttc acc sct ac).

**Resultados.** As sequências da PCR mostraram 99% de similaridade com *Pseudomonas entomophila* l48 registro nc008027-1, *Pseudomonas putida* gb-1 registro nc0103221 e *Pseudomonas putida* kt2440 record nc0029473.

**Conclusões.** O método do vector plasmidial mostrou ser uma técnica adequada para identificação dessas bactérias.

### TLO-18. Caracterización metabólica a través del uso de sustratos de carbono de los hongos filamentosos *Fusarium fujikuroi*, *Penicillium decumbens* y *Acremonium strictum* aislados de la zona de surgencia costera

Marcelo E. Fuentes\*, Renato A. Quiñones\*

\*Centro Interdisciplinario para la Investigación Acuicola (INCAR), Universidad de Concepción, Chile.

**Introducción.** La zona de surgencia frente a Chile centro-sur presenta alta productividad biológica, donde gran parte de la producción primaria es oxidada a CO<sub>2</sub>, con una importante participación de microorganismos en flujos de carbono y energía. Los hongos marinos de la zona costera producen enzimas extracelulares, fundamentales en la descomposición de la materia orgánica y flujos de energía. El objetivo fue caracterizar el rol de hongos filamentosos marinos en base al consumo de fuentes básicas de carbono en procesos de descomposición en la zona costera de surgencia de Chile centro-sur.

**Materiales y métodos.** Tres especies aisladas de la zona costera frente a Chile centro-sur son utilizadas para medir la asimilación de carbono y actividad mitocondrial usando arreglos de placas ff biolog, las cuales se componen de 95 fuentes básicas de carbono y que contienen iodonitrotetrazolio el cual actúa como colorante redox obteniendo una medida colorimétrica de actividad mitocondrial como resultado de la oxidación de los sustratos de carbono metabolizables, con producción de formación de color azul-violeta (medido a 490 nm), y la medida de turbidez a 750 nm que refleja la producción de micelio de los hongos. Análisis de cluster y heatmap se realizan para agrupar la información de índice metabólico mitocondrial.

**Resultados.** Se observan diferencias significativas en el crecimiento y asimilación de sustratos de las tres especies estudiadas, mostrando que todas son capaces de procesar una amplia gama de compuestos como aminoácidos, ácidos carboxílicos, carbohidratos incluyendo algunos de gran tamaño como tween80 (C<sub>64</sub>H<sub>124</sub>O<sub>26</sub>), maltotriosa (C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>O<sub>10</sub>), β-ciclodextrin (C<sub>42</sub>H<sub>70</sub>O<sub>35</sub>).

**Conclusiones.** Los hongos aislados de la zona de surgencia costera, poseen un amplio rango de consumo de carbono, destacando los monosacáridos que producen alta formación de micelio; además de consumir compuestos de gran tamaño. Se destaca consumo de derivados vegetales como por ejemplo xilosa, d-celobiosa, β-Ciclodextrin de gran interés en una zona con descargas de ríos adyacentes.

### TLO-19. Impacto de la descarga de agua dulce sobre la comunidad microbiana del fiordo adyacente al Glaciar Jorge Montt, Patagonia Chilena

Leslie Abarzúa O.\*, Marcelo Gutiérrez A.\*, Silvio Pantoja G.\*

\*Universidad de Concepción Chile.

**Introducción.** Los campos de hielo patagónicos han experimentado una reducción en su cobertura en los últimos 50 años, lo cual es coincidente con un incremento en la temperatura global de la tierra. El Glaciar Jorge Montt (48°19's, 73°29'o), uno de los principales glaciares de los campos de hielo sur, ha retrocedido 19.5 Km desde 1898. El impacto de la descarga de agua dulce asociado a la pérdida de hielo glaciar sobre las comunidades microbianas de fiordos adyacentes es prácticamente desconocido. El objetivo fue analizar los cambios temporales y espaciales en la comunidad microbiana a lo largo del fiordo en un gradiente de influencia del glaciar.

**Materiales y métodos.** Se recolectaron estacionalmente muestras de agua (superficie y fondo) del fiordo adyacente al Glaciar Jorge Montt abarcando 15 km desde el glaciar. Se determinó la abundancia, riqueza y diversidad de microorganismos mediante microscopía, DGGE y secuenciación y los parámetros físico-químicos temperatura, salinidad, densidad, nutrientes, clorofila y materia orgánica disuelta.

**Resultados.** El ambiente estudiado es de tipo estuarino, con una columna de agua estratificada caracterizada por una capa superficial de baja salinidad y temperatura y una capa profunda con mayor temperatura y salinidad. El ácido silícico, clorofila-a y la materia orgánica disuelta incrementaron sus concentraciones en la zona cercana al glaciar. La abundancia de procariotas se encontró en el rango de 1.6-4.0 X 10<sup>8</sup> células l<sup>-1</sup>. Se evidenció una alta riqueza de Unidades Taxonómicas Operacionales (OTU) en la comunidad de bacterias y hongos y una baja riqueza de arqueas. Dos comunidades microbianas se caracterizaron: una asociada a la capa superficial y otra a la capa profunda. Otus específicos fueron encontrados en zonas cercanas y alejadas al glaciar.

**Conclusiones.** El agua de deshielo influye en el patrón comunitario de microorganismos y en las características físico-químicas en el fiordo adyacente al Glaciar Jorge Montt.

### TLO-20. Degradación anaeróbica de 2,4,6-trinitrotolueno (TNT) y tetranitrato de pentaeritrol (PETN) por cultivos de enriquecimiento y cepas puras obtenidas de suelos impactados con explosivos

Luisa Alejandra García G.\*, Ziv Arbeli\*, Fabio Roldán G.\*, María Consuelo Díaz B.\*

\*Pontificia Universidad Javeriana/ Universidad Nacional de Colombia.

**Introducción.** En Colombia, una de las formulaciones explosivas más empleadas es la Pentolita®, la cual es una mezcla de 2,4,6-trinitrotolueno (TNT) y tetranitrato de pentaeritrol (PETN) (50:50). Estos compuestos,

sus subproductos y residuos, que en su gran mayoría se consideran tóxicos y persistentes, llegan al ambiente durante su producción y por su uso a gran escala, lo que implica riesgo social y medio ambiental. El presente estudio evaluó la degradación anaeróbica de TNT y PETN por cultivos de enriquecimiento y cepas obtenidos a partir de tres suelos contaminados.

**Materiales y métodos.** Para la obtención de los cultivos de enriquecimiento se realizaron pases periódicos en medio mineral suplementado con TNT y PETN (50 mg/L c/u) como únicas fuentes de nitrógeno con y sin fuentes de carbono bajo condiciones de anaerobiosis (sin agitación y flujo de N<sub>2</sub>). Se evaluó la degradación monitoreando las concentraciones de los dos explosivos durante cinco pases sucesivos, es decir 100 y 200 días para los tratamientos con y sin carbono, respectivamente.

**Resultados.** La técnica de enriquecimiento selectivo permitió obtener cultivos que degradaban TNT y/o PETN, y a partir de ellos se obtuvieron cepas y consorcios degradadores. En ausencia de carbono la degradación de tnt se detuvo tras el tercer pase, mientras que el PETN continúa degradándose durante los cinco pases monitoreados.

**Conclusiones.** Se observó que la presencia de carbono es necesaria para la degradación de TNT, aún en anaerobiosis. Este es el primer estudio que reporta la degradación de PETN sin la adición de una fuente externa de carbono y el aislamiento de cepas anaerobias degradadoras de este explosivo.

### TLO-21. Identificación de bacterias formadoras de calcita presentes en muestras de concreto de Colombia

Sandra Milena Montaña S.\*, Pedro F. De Brito B.\*

\*Universidad Nacional de Colombia.

**Introducción.** La precipitación microbiológica de carbonato de calcio (MCP) se ha convertido en un tema altamente investigado debido a sus múltiples aplicaciones dentro del campo de materiales de construcción, siendo una alternativa prometedora dentro de la biotecnología. La mcp tiene diferentes aplicaciones como la biodeposición para la protección de la piedra ornamental, la generación de biocementos, la producción de mortero autosellable, la biomineralización, producción de aditivos biológicos para mejorar las propiedades del concreto y en la biorremediación, para la eliminación de iones metálicos en el tratamiento de aguas subterráneas contaminadas. Por esto, el objetivo de este estudio es aislar bacterias formadoras de calcita a partir de muestras de mortero y concreto de edificaciones de la Univ. Nacional de Colombia, para encontrar cepas con potencial biotecnológico de biocementación y su posible aplicación en la industria de construcción colombiana.

**Materiales y métodos.** Aislamiento de bacterias formadoras de calcita en medio sólido urea-CaCl<sub>2</sub>, identificación molecular y secuenciación del gen 16s rRNA, análisis con ir, drx y sem de los cristales de calcita producidos.

**Resultados.** Se aislaron 20 cepas bacterianas que precipitan calcita. Se identificaron 9 cepas molecularmente: 4 aislamientos corresponden a *Arthrobacter crystallopoietes*, uno a *Rhodococcus qingshengii* y tres a *Bacillus psycrodurans*. Los cristales tienen formas irregulares y esféricas, oscilan entre 45-243 µm de diámetro y son de carbonato de calcio.

**Conclusiones.** Los cristales precipitados por los microorganismos presentan diferentes formas y tamaños, encontrándose dentro y alrededor de las colonias bacterianas, determinando que su formación es cepa-específica. El análisis de espectroscopía de infrarrojo y drx indican que los cristales son de carbonato de calcio. Se reporta por primera vez la capacidad de formar calcita por *Rhodococcus qingshengii* y *Bacillus psycrodurans*. Se amplió el conocimiento de la diversidad bacteriana presente en el país, y se obtuvieron cepas con potencial biotecnológico para la industria de materiales de construcción.

### TLO-22. Efecto de la temperatura y concentración de glucosa sobre las tasas de crecimiento y respiración de 5 especies de hongos aislados desde la zona de surgencia costera frente a Chile centro-sur

Marcelo E. Fuentes\*, Renato A. Quiñones\*,  
Marcelo H. Gutierrez\*, Silvio Pantoja\*

\*Programa de Graduados en Oceanografía. Depto. de Oceanografía, Universidad de Concepción, Chile.

**Introducción.** Se observa una relación positiva entre la biomasa fúngica y autotrófica en períodos de surgencia en las aguas superficiales del eco-

sistema costero en el centro-sur de Chile. Sin embargo no existe información acerca de la influencia de procesos de respiración y crecimiento en procesos ecológicos y biogeoquímicos de hongos filamentosos en la zona costera. El objetivo fue determinar el efecto de la temperatura y disponibilidad de nutrientes sobre las tasas de crecimiento y respiración de 5 especies de hongos filamentosos marinos, para evidenciar su participación en flujos de nutrientes y energía.

**Materiales y métodos.** Muestras de agua de mar y sedimentos fueron aisladas de la zona costera frente a concepción (36°30.8'S, 73°07.7'W). Identificadas a través de análisis de SSU-rDNA de 18s-rDNA. Los análisis blast confirman a: *Penicillium decumbens*, *P. chrysogenum*, *Acremonium strictum*, *Fusarium fujikuroi* and *F. sporotrichioides*. La determinación de biomasa fúngica se desarrolló a través de tres métodos: atp, densidad óptica y microscopía de epifluorescencia. Las tasas respiratorias se analizaron vía respirometro fibox3.

**Resultados.** Bajas tasas de crecimiento con biomasa de entre 21-51 µgC-hifa-día<sup>-1</sup> a 9°C, ligeramente mayores a 13°C y fueron significativamente estimuladas a 20°C con tasas de crecimiento que alcanzan los 153 µgC-hifa-día<sup>-1</sup>. Valores de q10 en el rango de 2.2-6.7 Indican que la tasa respiratoria tiene una fuerte dependencia de la temperatura. La relación alométrica entre la tasa de respiración específica y la talla corporal (largo hifa) puede ser representada por una ecuación lineal (p<0.001) Con una pendiente de -0.26.

**Conclusiones.** Se sugiere que durante periodos de alta disponibilidad de nutrientes y mayor temperatura en la zona costera, las tasas de crecimiento y respiración de hongos filamentosos muestran aumentos significativos, desempeñando un rol importante en procesos de degradación y mineralización de materia orgánica.

### TLO-23. Innovación exitosa para el biocontrol de hongos fitopatógenos de *Fragaria x Ananassa duchesne* con bacteriocinas de *Bacillus thuringiensis*

m.Sc. David francisco lafuenta rincón <sup>1</sup>, dr. José eleazar barboza corona , dr. Rubén salcedo hernández , dr. Rosario abraham Juárez , dr. José alberto valadez lira, dr. Deyanira quistián martínez , dr. Norma margarita de la fuente salcido

Universidad Autónoma de nuevo león mexico.

**Introducción.** El cultivo de fresa en México (*Fragaria x Ananassa duchesne*) se destaca por su calidad e importancia a niveles de exportación, sin embargo, es susceptible al ataque de microorganismos fitopatógenos y al mismo tiempo, a una búsqueda constante de tratamientos alternativos a los pesticidas químicos y las consecuencias de resistencia microbiana y contaminación del ecosistema. Los péptidos antimicrobianos de *Bacillus thuringiensis*, se consideran una excelente alternativa para el control de enfermedades en los cultivos, debido principalmente a su amplio espectro antimicrobiano y naturaleza proteica que no impacta negativamente al medio ambiente. El objetivo de esta investigación fue aislar e identificar hongos fitopatógenos en suelos destinados al cultivo de fresa y demostrar que las bacteriocinas sintetizadas por *Bacillus thuringiensis* son capaces de inhibir el crecimiento de los hongos identificados.

**Materiales y métodos.** Se aislaron hongos fitopatógenos de muestras de suelo de una huerta de fresa en irapuato guanajuato, México. Se identificaron morfológica y molecularmente por PCR a través de la amplificación parcial de genes riosomales (ITS). Se determinó la capacidad inhibitoria contra los hongos de las bacteriocinas morricina, kurstacina, kenyacina, entomocina, tolworthina producidas por *B. thuringiensis* por ensayos antimicrobianos de difusión en pocillos y en medio líquido corroborando el efecto a nivel celular por microscopía de fluorescencia.

**Resultados.** Los hongos identificados fueron *A. niger*, *A. calidoustus*, *F. oxysporum*, *F. verticillioides*, *F. sporotrichioides*, *M. circinelloides*, *N. fischeri*, *P. menonorum*, *P. pinophilium* y *T. asperillum*. Las cinco bacteriocinas ejercieron un efecto inhibitorio en la esporulación y crecimiento miceliar en los géneros de *Fusarium* y *Mucor*, afectando la integridad de membrana por la formación de poros en la pared celular.

**Conclusiones.** Las bacteriocinas de *Bacillus thuringiensis* son promotores agentes biológicos que actúan sobre la integridad de membrana celular en los hongos identificados, inhiben el crecimiento y la esporulación potenciando su aplicación en el control biológico en cultivos de fresa.



### TLO-24. Efecto del Tiempo de Retención Hidráulico (TRH) sobre la actividad microbiana y el sustrato orgánico de un biorreactor sulfato reductor durante la biorremediación de Drenajes Ácidos de Minas (DAM)

Olga Yaneth Vásquez\*, María Camila Escobar\*,  
Fabio Roldán\*, Ziv Arbeli\*, Carmen Neculita\*

\*Universidad Central, Pontificia Universidad Javeriana,  
Universidad de Quebec en Abitibi-témiscamingue Colombia.

**Introducción.** Los reactores sulfato reductores son ampliamente usados durante la remediación de los DAM, sin embargo su eficiencia y longevidad depende de la optimización del TRH. Actualmente no es claro cómo este afecta las comunidades microbianas y el sustrato orgánico del biorreactor. El objetivo es evaluar el efecto del TRH sobre la actividad microbiana, la disponibilidad de nutrientes y la toxicidad de los sulfuros metálicos depositados en el sustrato orgánico de un biorreactor sulfato reductor durante el tratamiento de DAM.

**Materiales y métodos.** Seis biorreactores sulfato reductores de flujo ascendente fueron operados bajo dos TRH (2 y 4 d), durante 35 semanas. A través del tiempo de funcionamiento (semana 6, 14 y 35), dos biorreactores fueron desmantelados (uno para cada TRH) y su mezcla reactiva fue dividida en tres fracciones (alta, media y baja). En cada fracción se analizó la actividad de las enzimas deshidrogenasas y celulasas, así como el número más probable para bacterias sulfato reductoras. De igual manera se cuantificó la disponibilidad de nutrientes por medio de carbono orgánico total, nitrógeno total, celulosa, hemicelulosa, lignina y sustancias fácilmente disponibles. Finalmente se determinó la toxicidad por la cuantificación de los sulfuros metálicos depositados en el sustrato durante el proceso de remediación.

**Resultados.** Muestran que TRH largos (4 d) favorece el crecimiento y actividad de las comunidades microbianas reduciendo la disponibilidad de nutrientes lo que puede conllevar a una menor longevidad del biorreactor, mientras que TRH cortos (2 d) favorecen el incremento de la toxicidad de los sulfuros metálicos depositados en el sustrato. De igual manera se encontró que el proceso de remediación del dam se realiza en la parte media y baja de los biorreactores.

**Conclusiones.** El TRH sí afecta la eficiencia y longevidad de los biorreactores sulfato reductores, así como los procesos desarrollados en el.

### TLO-25. Elaboración de bioinsecticida partir de los hongos *Beauveria bassiana* y *Trichoderma lignorum* para el control de la hormiga arriera (*Atta cephalotes*)

Fabian Felipe Fernandez D.\*, Diego Fernando Mera\*,  
Luis Fernando Lenis\*, Johannes Delgado O.\*, Raul Alberto Cuervo M.\*

\*Universidad de San Buenaventura Colombia.

**Introducción.** La hormiga arriera está asociada a grandes pérdidas en el sector agrícola, en su mayor parte en el sector del cultivo de cítricos, debido a su actividad defoliadora. El control de la especie se ha realizado de forma artesanal, química o biológica, esta última amigable con el medio ambiente, de bajo riego para el ser humano. Esta investigación tuvo como objetivo desarrollar una formulación biológica para el control de la hormiga arriera (*Atta cephalotes*) utilizando una mezcla de esporas de dos hongos filamentosos (*Beauveria bassiana* y *Trichoderma lignorum*).

**Materiales y métodos.** Se realizó el aislamiento de *Beauveria bassiana* y *Trichoderma lignorum* mediante cultivo en ypd, identificación por impronta fúngica, crecimiento en ypd, se desarrollaron 5 formulaciones con relaciones de 1:1,6:4, 4:6, 3:7 y 2:8 de *Trichoderma lignorum* y *Beauveria bassiana* respectivamente, a estas se les realizó la prueba de viabilidad en agar nutritivo, determinando la viabilidad como el número de esporas germinadas a las 24 h, la prueba de patogenicidad se realizó mediante la desinfección en solución de hipoclorito al 5% e inmersión por 1 min de 10 hormigas por formulación, un grupo adicional fue el control negativo (sin formulación), la prueba se realizó por triplicado; las diferencias estadísticas se evaluaron mediante anova; y la prueba de pureza se evaluó crecimiento durante 10 días en agar SDA.

**Resultados.** Las formulaciones presentaron viabilidad a 24 h del 95%+2, el 100% de las formulaciones fueron puras después de 10 días, las formulaciones 6.4, 1:1, 2:8 infectaron a la totalidad de los individuos en 6 días, las formulaciones 4:6 y 3:7 a los 8 días de exposición, se observaron diferencias estadísticas entre estos dos grupos.

**Conclusiones.** Las formulaciones 6:4, 1:1 y 2:8 de *Trichoderma lignorum* y *Beauveria bassiana*, poseen mayor actividad infecciosa a sobre la hormiga en laboratorio.

### TLO-26. Evaluación en campo de la capacidad nematocida de la cepa *Paecilomyces lilacinus* pli-111 contra estadios juveniles en tierra de *Meloidogyne* sp. en cultivo de vid

Alejandro Patiño G.\*, Abad Flores P.\*, Rosa Egusquiza Ch.\*,  
Tito Libio Sánchez R.\*, Mario Alcarraz C.\*, Liz Mayra I. Rodríguez P.\*,  
Carla Trigo H.\*, Jessi Claudio Fonseca\*, Max Hi\*

\*Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú.

**Introducción.** En las zonas vitivinícolas del Perú, los nemátodos fitoparásitos causan graves daños a las raíces de la vid y provocan pérdidas productivas y acortan su vida útil. Lo increíble es que en algunas zonas agrícolas todavía no se considera su impacto. Ante esto, nuestro objetivo fue evaluar la actividad nematocida de la cepa *Paecilomyces lilacinus* pli-111 contra estadios juveniles en tierra de *Meloidogyne* sp. en cultivo de vid.

**Materiales y métodos.** Se multiplicó la cepa de *Paecilomyces lilacinus* pli-111 en sustrato sólido (maíz molido) mediante producción artesanal lográndose una concentración final de 1.7X10<sup>10</sup> esporas/g. Se seleccionó un sector de tierra de cultivo de vid variedad red globe, en el caserío de Chapairá, Piura, infestado con el nemátodo *Meloidogyne* sp. con una concentración de 2,1x10<sup>3</sup> nemátodos juveniles j2 por 100 g de tierra. Para el ensayo se utilizaron áreas de 16 m<sup>2</sup> de área superficial con 80 cm de profundidad; probándose 3 tratamientos: 3 bolsas de 600 g en 200 L; 5 bolsas de 600 g en 200 L y un control con agua tratada; los tres con 2 kg de melaza como coadyuvante y cada tratamiento con 3 repeticiones. La concentración de estadios juveniles se registró al inicio y a los 40 días de aplicación con la técnica del embudo de baermann modificada.

**Resultados.** Se presentó un alto grado de eficacia, sólo teniendo una diferencia de eficacia de 75% contra 82% de mortalidad entre el primer y segundo tratamiento.

**Conclusiones.** *P. lilacinus* pli-111 aplicado en concentraciones mayores a 10<sup>8</sup> esporas/mL (segundo tratamiento) produce una mortalidad mayor al 80% en juveniles del nemátodo *Meloidogyne* sp. En campo, siendo este potencial principio activo de formulaciones las cuales pueden usarse en la agricultura orgánica y convencional.

### TLO-27. Propuesta de intervención en autocuidado para la promoción de hábitos saludables frente a la prevención y el control de enfermedades infecciosas en niños de la localidad de Kennedy: fase descriptiva\*

Virginia Soto\*, Yaneth Parrado\*, Olga Gomez\*,  
Patricia Hernandez-R.\*, Arlen P. Gomez\*, Martha F. Rodriguez\*

\*Universidad Nacional-Universidad de la Salle Colombia.

**Introducción.** En Colombia, se ha determinado que los factores ambientales son los que más contribuyen a la presentación de enfermedades infecciosas y muertes prematuras en la población infantil, siendo los más relevantes la contaminación del aire, las condiciones del agua y el saneamiento e higiene personal; en este sentido, la promoción de hábitos saludables para la prevención y el control de infecciones se convierte en una responsabilidad social. El objetivo fue identificar los microorganismos presentes en el ambiente y los hábitos de higiene de los niños y madres comunitarias de los hogares de Bienestar Familiar (ICBF) de la localidad de Kennedy.

**Materiales y métodos.** Para el cumplimiento de la fase descriptiva, se diseñaron, validaron (validez facial y de contenido) y aplicaron dos instrumentos, una lista de chequeo y una encuesta. Se tomaron muestras en 230 hogares comunitarios del ICBF de superficies en cocinas, baños, salones, colchonetas y juguetes. La identificación y estudio de susceptibilidad antimicrobiana se realizó por el sistema automatizado vitek.

**Resultados.** Se obtuvo 688 aislamientos; el mayor porcentaje de crecimiento fue en la cocina (35%). El género más frecuente en todos los sitios fue *Staphylococcus*, principalmente *S. hominis*, *S. saprophyticus* y *S. epidermidis*, con diferente susceptibilidad antimicrobiana. *Pantoea* spp fue el segundo género más aislado. En la encuesta el 93% de las

madres comunitarias reportaron lavarse las manos antes de manipular alimentos y en el 70% se evidenció cumplimiento de los criterios. En el momento de la observación, se encontró que las madres y auxiliares tenían ropa adecuada y limpia, no presentaban síntomas respiratorios, ni lesiones en manos.

**Conclusiones.** Se presenta alta frecuencia de *Staphylococcus* spp. Coagulasa negativo, en los hogares, mostrando la importancia de identificar estas especies en los puntos críticos de intervención en autocuidado para la promoción de hábitos saludables frente a la prevención y el control de enfermedades infecciosas en niños.

### TLO-28. Efecto del caudal de agua contaminada con plaguicidas en la actividad biológica de un sistema de biopurificación

Nicolás Enrique Millahueque S.\*, Eduardo Ignacio Salgado J.\*, Felipe Octavio Gallardo A.\*, María Cristina Diez J.\*

\*Universidad de la Frontera Chile.

**Introducción.** Los lechos biológicos han demostrado una eficiente capacidad de retención y degradación de los plaguicidas en la biomezcla. Sin embargo, poca información ha sido reportada sobre la capacidad de purificación del lixiviado generado. Evaluar el efecto del caudal de agua contaminada con plaguicidas en la carga de contaminantes de los lixivios y actividad biológica de un sistema de biopurificación.

**Materiales y métodos.** El sistema de biopurificación estaba constituido por 8 lechos biológicos. 4 recibieron un caudal de 4 L /semana y 4 recibieron un caudal de 8 L /semana durante 30 días. Se establecieron lechos con y sin cubierta vegetal de *Iolium perenne*, y contaminados artificialmente con una mezcla de atrazina (ATZ), clorpirifos (CHL) e iprodione (IPR) (35 mg/kg i.a. C/u), con sus respectivos controles sin plaguicida. La carga de pesticidas en los lixivios se determinó periódicamente mediante HPLC. Paralelamente la actividad biológica fue evaluada a través de la determinación de la actividad fosfatasa ácida, deshidrogenasa y ureasa. Además, cuantificación de microorganismos cultivables (bacterias, hongos y actinobacterias) y la exudación de ácidos orgánicos de la rizósfera fueron realizadas.

**Resultados.** Después de 30 días de operación, CHL no fue detectado en los lixivios, sin embargo, una baja concentración de ATZ e IPR (<1 mg/L) fue encontrada para ambos caudales. Una alta concentración de Ác. oxálico (>500 mg/L) y menores cantidades de ácido cítrico, málico y succínico (<20 mg/L) fueron encontrados en los lechos con cubierta vegetal. Por otra parte, no se observó una alteración significativa sobre el número de microorganismos cultivables ni de las actividades enzimáticas en relación a los caudales evaluados.

**Conclusiones.** Los caudales evaluados en este estudio no afectarán la capacidad de retención de plaguicidas ni las actividades biológicas de los sistemas de biopurificación, independientemente si posee cubierta vegetal o no.

### TLO-29. Ambiente estuarino em região do semi-árido como fonte de bacterias degradadoras de agrotóxicos

Oscarina Viana S.\*, Sandra Rebeca Oliveira M.\*, Daniel Rodrigues Dos S.\*, Fátima Cristiane Teles De C.\*, Jade Oliveira A.\*, Regine Helena Silva Fernandes V.\*

\*Instituto de Ciências do Mar/ Universidade Federal do Ceará Brasil.

**Introdução.** A biodegradação de pesticidas é um processo mediado por microrganismos que acontece com períodos de tempo variáveis (de dias até anos). A introdução de microrganismos previamente selecionados para aumentar a velocidade de degradação desponta como uma alternativa para o tratamento ambiental. A capacidade de acumulação de alguns agrotóxicos no ambiente é um problema ambiental e de saúde pública. Investimentos têm sido feitos na tentativa de estabelecer a dinâmica do comportamento dessas substâncias e nas matrizes ambientais e desenvolver tecnologias que possam reduzir a presença desses compostos. A biorremediação é uma tecnologia limpa, viável e eficiente que utiliza microrganismos vivos e/ou seus produtos a fim de degradar ou imobilizar poluentes minimizando seu impacto sobre o ambiente. Deste modo, essa pesquisa teve como objetivo selecionar bacterias aptas a degradação de agrotóxicos (atrazina, metilparation, clorpirifos, iprocloran) isoladas do estuário de um rio no semi-árido nordestino.

**Materiais e métodos.** Foram realizadas duas expedições para coleta em três pontos do estuário do rio Jaguaribe (Ceará, Brasil) seguindo um gradiente de salinidade. Em cada ponto foram coletadas amostras de água e sedimento. As bacterias potencialmente degradadoras de agrotóxico foram quantificadas usando meio sólido seletivo, isoladas e submetidas à provas bioquímicas para identificação.

**Resultados.** Ao longo dos pontos, as contagens de bacterias variaram de  $1,9 \times 10^1$  a  $6,5 \times 10^7$  UFC/mL na água e  $1,5 \times 10^4$  a  $>250 \times 10^6$  est. Ufc/g no sedimento. A maioria dos isolados apresentou morfologia de bastonetes Gram negativos. Foram identificadas bacterias pertencentes aos filos proteobactéria e firmicutes e ao gênero *Bacillus*.

**Conclusões.** O longo histórico de pressão pela presença de agrotóxicos no estuário pode ser um determinante na pouca diversidade de isolados bacterianos. A diversidade microbiana determina a resiliência de um sistema isto é, a capacidade de encontrar um novo equilíbrio após eventos impactantes.

### TLO-30. Establecimiento de consorcios para la degradación del explosivo solido Pentolita®

Fabio A. Roldan\*, Ziv Arbeli\*, Nuri Merchán\*, Monica Numpaque M.\*, Carolina Villanueva J.\*, Joaquin Benavides\*, Hernán D. Avellaneda A.\*

\*Pontificia Universidad Javeriana Colombia.

**Introducción.** La Pentolita® (mezcla de TNT y PETN) es un explosivo ampliamente utilizado en la minería, construcción y exploración de petróleo. Su presencia genera un riesgo para el ambiente y la salud humana. Por esta razón durante el presente estudio se buscó el establecimiento de consorcios (definidos y no definidos) para la degradación de Pentolita® sólida.

**Materiales y métodos.** Para el aislamiento de bacterias degradadoras de TNT y PETN se emplearon cultivos de enriquecimiento y bio-cebos bajo diferentes condiciones de cultivo. Se determinó si la presencia de fuentes de carbono y nitrógeno, así como, las condiciones de incubación tenían un efecto sobre la biodegradación de estos explosivos. Se realizó un screening de las cepas aisladas para seleccionar aquellas que fueran capaces de degradar alguno de los explosivos. La degradación de Pentolita® líquida (200 mg/L) se evaluó durante 80 d en cultivos de enriquecimiento (consorcios no definidos), mientras que la degradación de la Pentolita® solida (2 g) se evaluó durante 20 meses empleando 19 consorcios definidos a partir de las cepas degradadoras. Estos consorcios fueron establecidos empleando diferentes parámetros (origen, método de aislamiento, categorías y capacidad degradadora).

**Resultados.** Los cultivos de enriquecimiento empleados para la degradación de Pentolita® perdieron su capacidad para degradar los explosivos en el tiempo. De igual forma en los consorcios definidos se evidenció la degradación de TNT pero no de PETN. Los resultados iniciales de los consorcios definidos con explosivo solido no mostraron una degradación significativa posiblemente por su baja disponibilidad al estar en forma sólida.

**Conclusiones.** La selección de un consorcio no definido empleando cultivos de enriquecimiento no fue exitoso, posiblemente por la alta toxicidad del TNT y sus subproductos de degradación. De igual forma la presencia de tnt logró inhibir la degradación de PETN. Finalmente, hasta el momento no se ha observado degradación significativa del explosivo solido por consorcios definidos.

### TLO-31. Caracterización de las comunidades bacterianas cultivables de corales del Caribe colombiano sanos y enfermos de plaga blanca y banda negra

Laura Cristina Ripe J.\*, Erika Vanessa Díaz S.\*

\*Universidad Nacional de Colombia.

**Introducción.** Los arrecifes coralinos han disminuido alarmantemente a nivel mundial, observándose desequilibrios en las comunidades bacterianas asociadas a ellos. Diferentes enfermedades son causadas por bacterias, donde interviene la señalización bacteriana, Quorum Sensing (QS). Este trabajo analiza los cambios en la estructura de las comunidades bacterianas asociadas con 3 corales del Caribe: *montastrea faveolata*, *montastrea cavernosa* y *diploria strigosa*, sanos y enfermos de plaga blanca y banda negra, para determinar su influencia en la aparición de enfermedades coralinas.

**Materiales y métodos.** Para la identificación de especies, aislamientos se caracterizaron morfológica, bioquímica y molecularmente a través de

amplificación por PCR y secuenciación del gen 16s rDNA. Se realizó un análisis filogenético basado en secuencias homólogas reportadas en bases de datos y se extrajeron moléculas señalizadoras de QS, n-acyl homoserina-lactonas (AHLs) y se identificaron por cromatografía en capa delgada (TLC).

**Resultados.** Las bacterias aisladas se dividieron en las clases alfa-proteobacteria, gamma-proteobacteria, bacilli y actinomicetales. Sin embargo, las proporciones en las que se encontraron distribuidas en los corales sanos y enfermos variaron notablemente. En los sanos predominaron las clases bacilli y gamma-proteobacteria; mientras que en los enfermos sobresalieron las clases alfa-proteobacteria y gamma-proteobacteria, evidenciando un desequilibrio en las comunidades bacterianas, lo que podría explicar la presencia de enfermedades que atacan los corales. También se detectó la producción de AHLs presentes en ambas condiciones, identificando 3-oxo-c6-AHL, 3-oxo-c8-AHL y 3-oxo-c10-AHL, moléculas que intervienen en procesos infecciosos en el holobionte coralino.

**Conclusiones.** El papel de las bacterias asociadas a corales es de suma importancia para su subsistencia, sin embargo, las bacterias son susceptibles a cambios ambientales, ocasionando alteraciones en la salud y proporciones de biomasa del coral, y en su interacción con microorganismos simbiotes. Estudiar las comunidades bacterianas permite entender los efectos directos e indirectos de las interacciones bióticas en ambientes marinos, contribuyendo al conocimiento para recuperar estos ecosistemas altamente amenazados.

### TLO-32. Temporal shifts in the bacterial community present in compost of residues of sucro-energetic industries

German Estrada B.\*, Ademir Bigaton\*, Nicolle Passaglia\*,  
Cintia Lopez\*, Elke Cardoso\*

\*Universidade de São Paulo (ESALQ-USP) Brasil.

**Introduction.** Sucro-energetic industries generate large amounts of residues such as filter cake and sugarcane bagasse ash. A technology used for the management of these residues is composting with cow manure and rock phosphate. Our research focused on surveying the bacterial communities during sugarcane waste composting over a temporal shift.

**Materials and methods.** The total DNA total of the compost was extracted every 15 days for 60 days, followed by Terminal Restriction Fragment Length Polymorphisms (T-RFLP) and illumina 16s rRNA gene miseq sequencing analyses. Simultaneously we evaluated different chemical parameters and compared the results using multivariate analyses.

**Results.** Community profiles of the five analyzed periods are quite different, with a clear shift of bacterial communities during the composting period. The bacterial community showed stabilization at 60 days. At the beginning of composting the order lactobacillales was the most dominant group in the process, but decreased along the composting time. This fact is related to the progressive increase in pH and decrease in substrate degradation steps. After 45 days of composting the order bacillales was the most abundant group because of its resistance to higher pH values and high temperature, besides its ability to degrade complex substrates. Furthermore, available phosphorus is another factor to explain the changes in bacterial communities, since members of the bacillales are able to solubilize and mineralize phosphorus. We also found members of clostridiales during composting, which points to the presence of anaerobic micro-niches in the composting pile.

**Conclusions.** Our results indicate that during the composting process the main shifts in bacterial communities occurred influenced by environmental factors such as pH and available phosphorus.

### TLO-33. Primera descripción del microbioma intestinal de *M. incilis* (pisces: mugilidae) en ecosistemas contaminados con Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAH) en la bahía de Cartagena

Eric Juan Carlos Gálvez\*, Katerine Carrillo C.\*, Howard Junca\*

\*Rg Microbial Ecology: Metabolism, Genomics and Evolution of Communities Of Environmental Microorganisms, Corpogen, Bogota, Colombia.

**Introducción.** La presente investigación tiene como objetivo lograr una detallada descripción del microbioma del intestino de *M. incilis* pez detritívoro y endémico de las costas del Caribe Suramericano aplicando

técnicas de taxonomía molecular y secuenciación de alta resolución. Ésta especie representa un recurso pesquero con potencial alimentario. Se encuentra presente en ecosistemas impactados por actividades de industrias del petróleo en las costas colombianas, generando efectos y riesgos al presentar bioacumulaciones de PAH metabolizados.

**Materiales y métodos.** Analizamos el contenido intestinal de cinco especímenes de peces capturados en sedimentos marinos con exposición e historial de contaminación crónica con Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAH) para describir las comunidades microbianas intestinales que están asociadas a su continua ingesta y su posible similitud con los sedimentos del sitio de origen. Para tal fin, amplicones de ADN metagenómico de las regiones hipervariables del gen 16s rRNA secuenciados por illumina-miseq y los resultados se analizaron con conceptos y herramientas de ecología microbiana molecular.

**Resultados.** Evidenciamos la presencia de 6 filo bacterianos predominantes: firmicutes, proteobacteria, cyanobacteria, actinobacteria y fusobacteria. Los patrones taxonómicos encontrados coinciden con composiciones reportadas para microbiomas intestinales de vertebrados. Reportamos proporciones de abundancia específicas y distintivas del microbioma intestinal del pez omnívoro-detritívoro. Las clasificaciones a nivel de género mostraron posible presencia de patógenos (*vibrio*) e indicadores de contaminación fecal humana (*E. coli*). La presión y asociación de la composición sugiere que es principalmente mediada por el huésped; no se observa correlación directa con la estructura microbiana en los sedimentos contaminados con PAH del sitio de captura.

**Conclusiones.** Determinamos la microbiota común en especímenes de *M. incilis* con métodos moleculares de alta resolución taxonómica. Adicionalmente, la presencia de sulfurímonas en los sedimentos contaminados con PAH del sitio de captura se plantea como un potencial bioindicador de contaminación persistente y crónica, asociado a condición anaerobia y extenuada de aceptores de electrones.

### TLO-34. Biorremediación de suelos contaminados con PAH: efecto de diferentes estrategias de bioaumentación sobre la diversidad y estructura de la comunidad microbiana

Sabrina Festa\*, Bibiana Marina Coppotelli\*, Irma Susana Morelli\*

\*Cindefi (UNLP-CONICET), CIC-PBA Argentina.

**Introducción.** La biorremediación es una tecnología aplicable a la recuperación de suelos contaminados con Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos (PAH). La inoculación con microorganismos degradadores reduciría el tiempo de adaptación de la comunidad microbiana autóctona, acelerando la eliminación de PAH; su eficiencia dependerá del establecimiento del inoculante y la evolución de la comunidad microbiana. Se estudió el impacto de distintos inoculantes (consorcio y cepa aislada) sobre la diversidad de la comunidad microbiana del suelo por pirosecuenciación (roche 454 flx), amplificando la región v3-v4 del 16s rADN.

**Materiales y métodos.** Se prepararon 4 sistemas: suelo limpio, contaminado con Fenantreno (F) y contaminados e inoculados con un consorcio degradador de fenantreno (F+CON) y con una cepa degradadora (*Sphingobium* sp.) Aislada del consorcio (F+AM); que fueron incubados 63 días (24°C y 21% humedad). La concentración de fenantreno se determinó por HPLC.

**Resultados.** La concentración de fenantreno en los sistemas inoculados fue significativamente menor ( $p < 0,05$ ) a la de f. Al día 15, momento de mayor actividad degradadora, se extrajo el ADN total del suelo. Se obtuvo en promedio 1923 secuencias filtradas por muestra, agrupadas en 1069 otus ( $\geq 97\%$  similitud). El análisis de rarefacción mostró aceptable cobertura de la diversidad de las muestras. La contaminación causó reducción en los índices de riqueza y de diversidad. En f+am se observó aumento de la riqueza y disminución de la diversidad, la inoculación con con causó el efecto contrario. La contaminación produjo reducción en los órdenes rhodocyclales, chthoniobacteriales y acidobacteriales, acentuada en F+AM. Las poblaciones estimuladas por el fenantreno fueron actinomycetales, burkholderiales y sphingomonadales; la inoculación de am produjo un aumento adicional de sphingomonadales y burkholderiales, en f+con se observó un aumento relativo de burkholderiales.

**Conclusiones.** La inoculación con una cepa aislada causó el mayor impacto sobre la comunidad microbiana del suelo.

### TLO-35. Detección de compuestos quelantes de metal en el caldo de cultivo y basidiomas del hongo ectomicorrícico comestible *Suillus luteus*

Adriana Toledo\*, Daniel Chavez\*, Angela Machuca\*

\*Laboratorio de Biotecnología de Hongos. Depto. de Ciencias y Tecnología Vegetal, Escuela de Ciencias y Tecnologías, Univ. de Concepción Chile.

**Introducción.** La mayoría de los microorganismos utilizan Compuestos Quelantes de Metal (CQM) para solubilizar y capturar iones metálicos desde el ambiente. Entre tales compuestos destacan los sideróforos, específicos para Fe(III), que pueden ser del tipo hidroxamato o catecolato. En hongos ectomicorrícicos los estudios sobre CQM son escasos, a pesar del potencial biotecnológico y la importancia que éstos representan en la asociación simbiótica. El objetivo fue detectar la presencia de CQM en el caldo de cultivo y en basidiomas del hongo ectomicorrícico comestible *Suillus luteus*, determinando la naturaleza química de dichos compuestos posterior a su extracción.

**Materiales y métodos.** Para la detección cualitativa de los CQM, *S. luteus* fue cultivado en medio sólido y para su cuantificación y caracterización se utilizó medio líquido. La naturaleza química de los CQM fue determinada utilizando las técnicas de Arnow (catecoles) y Csáky (hidroxamatos). Basidiomas de *S. luteus* deshidratados fueron extraídos con solventes orgánicos y amberlita (XAD-2). Tanto en los extractos de los basidiomas como en los caldos de cultivo, los CQM fueron detectados a través del ensayo con chrome azulol s (CAS).

**Resultados.** *S. luteus* produjo CQM en medio sólido y líquido. La mayor producción fue alcanzada a los 20 días de crecimiento en caldo papa-dextrosa (PD), pH 6,5, a 25°C y 90 rpm. Las pruebas químicas de caracterización demostraron la presencia de catecolatos en los caldos, pero no de hidroxamatos. Sin embargo, el análisis por HPLC reveló la presencia de hidroxamatos. Por otro lado, los extractos totales obtenidos de los basidiomas presentaron una fuerte reacción cas positiva, demostrando la presencia de CQM.

**Conclusiones.** El hongo comestible *S. luteus* produce CQM detectados a través del ensayo CAS, tanto en los caldos de cultivo como en los basidiomas. La confirmación de la naturaleza química de los compuestos a través de HPLC y CG-masa se encuentra en desarrollo.

### TLO-36. Biodegradación de cipermetrina por *Pseudomonas* sp. aisladas de suelos con actividad agropecuaria

Leidy Diana Ardila L.\*, Luis Oviedo Z.\*, Manuel Pelaez\*, Jhon Jairo Bustamante\*, Carlos García F.\*, Yaneth Cardona\*

\*Universidad Francisco de Paula Santander, Colombia.

**Introducción.** En el sistema de producción agropecuaria es común encontrar el plaguicida cipermetrina como método de control de insectos, pero su masiva aplicación ha llevado a contaminar suelo y fuentes de agua. El objetivo de este estudio fue evaluar la degradación de cipermetrina comercial por microorganismos del género *Pseudomonas*.

**Materiales y métodos.** Para ello se realizó análisis físico-químico al suelo contaminado y a partir de este se aislaron los microorganismos. Se realizaron pruebas de tolerancia y curvas de crecimiento para analizar de degradación de cipermetrina en medios líquidos y suelo. 3 concentraciones diferentes de cipermetrina (0.25%, 0.625% y 1%) y 3 de glucosa (0,1% y 2%) en medio MSM fueron usados para evaluar la degradación de cipermetrina en medio líquido, los medios permanecieron 9 días en un agitador orbital a 150 rpm y temperatura de 26°C; la degradación de cipermetrina en suelo fue evaluada durante 42 días bajo una única concentración del piretroide (0,25%) en recipientes para capacidad de 1 kg de suelo, este se mantuvo a temperatura ambiente y protegido de lluvias. Para cuantificar el contaminante se realizaron análisis mediante cromatografía de gases.

**Resultados.** En el aislamiento se obtuvieron dos *Pseudomonas* sp. UCLBA2 y UCLBA3. Las curvas de crecimiento y pruebas de tolerancia evidenciaron que los microorganismos tenían diferentes formas de enfrentar el contaminante. Los porcentajes máximos de degradación del contaminante variaron de acuerdo a las condiciones expuestas, *Pseudomonas* sp. UCLBA2 degradó del 99.58% En medio sin fuentes extras de carbono y *Pseudomonas* sp. UCLBA3 el 98.65% En medios con fuentes extras de carbono y la degradación de cipermetrina en suelo evidenció que los microorganismos no sobrepasaron el 70% de degradación del piretroide.

**Conclusiones.** Los resultados evidencian que *Pseudomonas* sp. UCLBA2 y UCLBA3 pueden ser usadas como método de degradación de cipermetrina.

### TLO-37. Obtención de hidrofobinas a partir de hongos filamentosos aislados de residuos agroindustriales

Lina Marcela Méndez C.\*, Carlos Jiménez J.\*, Erlide Prieto C.\*, Zulma Suárez M.\*

\*Universidad de la Sabana Colombia.

**Introducción.** Las hidrofobinas son proteínas involucradas en el desarrollo de los hongos filamentosos del filo *Ascomycetes* y *Basidiomycetes* que tienen la capacidad de auto ensamblarse en una interfase hidrofílica/hidrofóbica, dando lugar a numerosas aplicaciones en la industria, medio ambiente, medicina, alimentos etc. Posee ocho residuos de cisteína conservados a lo largo de la cadena proteica, sin embargo la secuencia de los otros aminoácidos varía dependiendo del hongo en el que se obtengan las hidrofobinas, y en consecuencia sus propiedades y aplicaciones, varían. La amplia diversidad de hongos que existe en Colombia abre la posibilidad de encontrar hidrofobinas con propiedades diversas. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue obtener y caracterizar las hidrofobinas producidas por hongos filamentosos aislados de residuos agroindustriales.

**Materiales y métodos.** Treinta cepas de hongos fueron cultivados en medio PDA y se identificaron morfológicamente y microscópicamente con una posterior amplificación de las regiones *its1-its4*,  $\beta$ -Tubulina y 28s para la caracterización molecular. La producción de biosurfactantes por los hongos se evaluó midiendo la tensión superficial del sobrenadante, se seleccionaron los hongos con las mejores características tensoactivas para extraer las hidrofobinas tipo I, por extracción líquido-líquido y tipo ii, por un sistema de fraccionamiento de espuma. Finalmente se detectaron las proteínas por electroforesis tris-tricina.

**Resultados.** Se identificaron hongos del género *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Verticillium*, *Cladosporium*, *Botrytis* y se seleccionaron las dos cepas con las mejores características tensoactivas de sus sobrenadantes. Se logró la identificación de bandas de peso molecular entre 10 y 15 kDa que corresponden al tamaño de las hidrofobinas.

**Conclusiones.** Se concluye que los hongos filamentosos aislados de residuos agroindustriales producen hidrofobinas con un potencial de aplicación en diversas áreas.

### TLO-38. Produção *in vivo* de copolímeros biodegradáveis em linhagens recombinantes de *Burkholderia sacchari*

Diana Carolina Tusso P.\*, Karel Olavarria\*, Marilda Keico T.\*, Luiziana Ferreira Da S.\*, José Gregório G.\*

\*Universidade de São Paulo Brasil.

**Introdução.** Os polihidroxicanoatos (PHA) são poliésteres produzidos por diversos microorganismos sob a forma de grânulos intracelulares, que são produzidos quando há limitação de algum nutriente e excesso de fonte de carbono. Os PHA são materiais com propriedades termoplásticas e elastoméricas despertando interesse industrial. Na biossíntese de PHA, a PHA sintase, é a enzima chave, já que incorpora monômeros 3ha na cadeia principal do polímero. Atualmente, tem sido avaliada a produção de PHA em linhagens recombinantes, usando estratégias como a clonagem do gene da PHA sintase, já que são capazes de produzir o copolímero de cadeia meia e curta os quais apresentam propriedades semelhantes ao polietileno de alta densidade, o teor de polímero aumenta quando são usados ácidos orgânicos como fonte de carbono. O objetivo deste trabalho é avaliar a produção de copolímeros de cadeia curta e meia de PHA em linhagens de *B. sacchari*, usando como fonte de carbono ácidos orgânicos (propanóico, butírico, valérico e hexanóico).

**Materiais e métodos.** Para este trabalho foi clonado o gene PHAC de dois isolados (scu 66 e scu 63) por técnicas de PCR em uma linhagem mutante de *B. sacchari* lfm344, deficiente no acúmulo de PHA. Para os ensaios em frascos agitados, foram usados os diferentes ácidos orgânicos como fonte de carbono por 72 h.

**Resultados.** nos resultados obtidos as duas linhagens recombinantes acumularam p3hb-co-p3hvx e p3hb-co-p3hhx, quando era fornecido como fonte de carbono ácido valérico e hexanóico respectivamente.

**Conclusões.** as próximas etapas do trabalho serão escalar o ensaio a um biorreator de 2l e realizar análise de fluxos metabólicos.

### TLO-39. Diversity of toxigenic *Bacillus cereus* strains isolated from powder milk and cassava starch

Jennifer Sánchez Ch.\*, Denis Osorio O.\*, Margarita Correa O.\*,  
Angel Aceves D.\*, Laura Castañeda S.\*

\*Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

**Introduction.** *Bacillus cereus* is a spore-forming bacterium, commonly isolated from dried foods such as powder milk and cassava starch, that causes two different types of toxin-mediated foodborne diseases: the diarrheal syndrome, produced by enterotoxins such as hemolysin BL (HBL), non-hemolytic enterotoxin (NHE) and cytotoxin K (CYTK), and the emetic syndrome, caused by the cereulide (CES) or emetic toxin. In Colombia, *B. cereus* outbreaks are underreported and there is no information about the toxigenic diversity of the *B. cereus* strains isolated from food. The aim of this study was to determine by multiplex PCR the diversity of toxigenic *B. cereus* strains isolated from powder milk and cassava starch samples collected in Medellín, Colombia between the years 2013-2014.

**Materials and methods.** Isolation and confirmation of *B. cereus* strains were performed according to norma técnica colombiana NTC 4679. After DNA extraction, multiplex PCR amplification was performed using specific primers for toxigenic genes HBL, NHEA, CESB and CYTK, and for internal control, ITS1 region. Strains ATCC14579 (HBL, NHEA, CYTK and ITS1) and F4810/72 (CESB and ITS1) were used as reference and the products were confirmed by sequencing.

**Results.** Eleven *B. cereus* strains were isolated from 75 powder milk samples and four different toxigenic profiles were found: i: NHEA (46.1%), ii: NHEA, HBL, CYTK (30.8%), iii: NHEA, HBL (15.4%), and iv: NHEA, CYTK (7.7%). In addition, 119 *B. cereus* strains were isolated from 75 cassava starch samples and five different toxigenic profiles were identified: i: NHEA, HBL, CYTK (83.2%), ii: NHEA, HBL (9.3%), iii: NHEA, CYTK (4.2%), iv: NHEA (2.5%) and v: HBL (0.8%). Remarkably, *cesb* gene was not detected in the evaluated strains.

**Conclusions.** This is the first report on toxigenic profiles of *B. cereus* strains isolated from powder milk and cassava starch in Medellín, Colombia, which provides the bases for detailed studies on *B. cereus* risk assessment.

### TLO-40. Acumulación intracelular de biopolímeros (Tipo PHB) por la bacteria *Ralstonia eutropha* empleando jarabe glucosado de harina de yuca

Wilman Alcaraz Z.\*, Mariana Cardona B.\*,  
Alejandro Acosta C.\*, Andrés Felipe Villa R.\*

\*Grupo de Biotransformación, Escuela de Microbiología,  
Universidad de Antioquia Colombia.

**Introducción.** Los polihidroxialcanoatos son polímeros de origen microbiano que poseen propiedades termo-mecánicas similares a los plásticos derivados del petróleo, además, pueden ser obtenidos a partir de fuentes renovables, son biodegradables y biocompatibles, lo que los convierte en los biomateriales más promisorios de los próximos años. La bacteria *Ralstonia eutropha* acumula intracelularmente el biopolímero cuando se encuentra bajo limitación de ciertos nutrientes y puede albergar en su interior de 8 a 12 gránulos, gracias a su gran tamaño (hasta 5 µm), por tal motivo, evaluar la cinética de formación del biopolímero y las características de la polimerización intracelular son indispensables para mejorar los rendimientos y productividad del bioproceso. El objetivo fue establecer la cinética de formación del polímero en la cepa *Ralstonia eutropha* empleando como sustrato jarabes glucosados de harina de yuca.

**Materiales y métodos.** Se realizaron cultivos controlados de *Ralstonia eutropha* en biorreactor de 5 L empleando jarabes glucosados de harina de yuca. Se tomó muestra cada 3 h y se evaluó la acumulación intracelular del biopolímero por medio de microscopía raman y microscopía óptica empleando tinción con sudán black y rojo nilo, además, del seguimiento en el tiempo del sustrato, biomasa y biopolímero.

**Resultados.** Al realizar las cinéticas de crecimiento de la bacteria y acumulación del biopolímero se encontró que los máximos rendimientos a las 15 h fueron  $yx/s=0,6$ ;  $yp/s=0,53$  y  $yp/x=0,89$ . Las imágenes y espec-

tros obtenidos por las técnicas microscópicas a los gránulos al interior de la bacteria, evidenciaron la polimerización intracelular del biopolímero y la caracterización del mismo como polihidroxibutirato (PHB).

**Conclusiones.** Se logró describir el comportamiento cinético de acumulación del biopolímero de la cepa *Ralstonia eutropha* ATCC 17699, empleando un medio de cultivo a partir de jarabes glucosados de harina de yuca donde los biopolímeros producidos fueron caracterizados como PHB.

### TLO-41. Aging beer in wooden barrel: Microbiological and chemical aspects

Luis Henrique Poletto A.\*, Cauré Barbosa P.\*

\*Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" Brasil.

**Introduction.** The market for specialty beers has been growing worldwide in the last years, with notable expansion of microbreweries. Trends in the sector head towards to products with distinguished quality to contemplate a diverse and increasingly demanding market, and wooden aged beers are undoubtedly a hotspot in this sense. This study evaluates the influence of microbial and wood components on the chemical profile of ale beers after aging.

**Materials and methods.** Primary fermentation was carried out in stainless vats, and the beer was stored in american oak barrel for 90 days. After maturation, a young ale was produced and blended with the aged one, as follows: 1 (100% young ale); 2 (33% aged), 3 (66% aged) e 4 (100% aged). The samples were bottled and stored at room temperature for 3 months. The microbiological profile was determined by plating on mrs and mannitol-agar media, for lactic and acetic bacteria counting, ypd (total yeast) and dbdm (*Brettanomyces*). The content of volatile compounds (aldehydes, esters and higher alcohols) was determined by gas chromatography, and the content of phenolic compounds was determined by liquid chromatography.

**Results.** Lactic acid and acetic bacteria were detected only in those samples with some percentage of aged beer (2, 3 and 4). *Brettanomyces* populations were directly proportional to the amount of matured beer added to the blend, reaching up to  $2 \times 10^3$  cfu/mL (sample 4). The chemical analyses showed an evident increase of higher alcohols, acetic acid, methanol, esters, and aldehydes in those samples blended with aged beer (2, 3 and 4). Increment of those compounds directly correlated to the viable *brettanomyces* cells in the samples.

**Conclusions.** Results show that besides the features provided by wood interaction, the sensorial profile of specialty aged beers are hardly influenced by the post-fermentative microbiota, particularly *Brettanomyces*, that provide differential organoleptic characteristics to the beverage.

### TLO-42. Actividad in vitro anti-*Helicobacter pylori* de propóleos de diferentes áreas geomorfológicas de la región del Bio Bío, Chile

José Freire C.\*, Edgar Pastene N.\*,  
Apolinaria García C.\*, Carlos González C.\*

\*Depto. de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas,  
Universidad de Concepción Chile.

**Introducción.** El patógeno, Gram negativo *Helicobacter pylori* se asocia con diversas patologías gástricas y extra-gástricas. Actualmente, la prevalencia de la infección alcanza alrededor del 50% de la población mundial y no existen vacunas para su prevención. Además, se han observado fallas terapéuticas en la erradicación de la infección, que alcanza entre un 20% y 40% de los casos, principalmente debido a la resistencia a claritromicina. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad anti-*H. pylori* de propóleos de diferentes áreas geomorfológicas de la región del Bio Bío.

**Materiales y métodos.** Como cepas indicadoras se utilizaron las cepas de referencia de *H. pylori* ATCC 43504, j99 y g27. La susceptibilidad a los extractos de propóleos se ensayó mediante difusión y dilución en agar. El extracto más activo se fraccionó mediante cromatografía de partición centrífuga (CPC). Las fracciones se analizaron por cromatografía de capa fina (TLC), para identificar los principales compuestos.

**Resultados.** Los 10 extractos analizados mostraron actividad anti-*H. pylori*, con zonas de inhibición entre 16 a 25 mm de diámetro. El extracto más activo mostró una CMI de  $16 \mu\text{g mL}^{-1}$  sobre *H. pylori* j99 y  $32 \mu\text{g mL}^{-1}$  sobre *H. pylori* ATCC 43504 y g27. Los resultados de cpc mostraron

nueve fracciones con actividad anti-*H. pylori* variable. Los resultados de tlc revelaron la presencia de galangina, pinocembrina, crisina, éster fenílico de ácido cafeico (cape), kaempferol y quercetina.

**Conclusiones.** El extracto de propóleos inhibe *in vitro* a las cepas indicadoras de *H. pylori* utilizadas. Esta actividad depende de varios principios activos.

**Financiamiento.** Innova Biobio N°13.404 (2013) y beca conicyt-PCHA/magister (2012).

### TLO-43. Myco-id: a web-based platform for genetic identification of entomopathogenic fungi using single sequence repeats as molecular markers

Cristiano Fagundes, Elaine Cristina Vicente B.,  
Donavan Peres R., Eder Antonio Gigliotti\*

\*Programa de Pós-graduação em Ciências da Computação - Universidade Federal de São Carlos. †Programa de Pós-graduação em Microbiologia - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" Campus de São José do Rio Preto-sp 3 Ppga Brasil

**Introduction.** In order to control isolate stability during production and/or tracking the use of specific isolates, biofactories and governments needs techniques and approaches for monitoring the genetic identity of isolates used in biopesticides. However, it still remains the necessity of an online platform with a data bank and software to receive, organize and analyze SSRS data from different researchers and users in different parts of the world. So, the present study reports an effort to develop a web-based platform called myco-id for genetic identification of entomopathogenic fungi using Single Sequence Repeats (SSRS) data.

**Materials and methods.** Myco-id was developed using the tools Microsoft sql server 2008r2, Microsoft visual studio 2010, Microsoft dotNetC# and framework 4. In the first step, the user makes the configurations of isolates, origin(s) and name(s), SSR sequences, products, primers characteristics, PCR and electrophoresis conditions. Subsequently, the allele sizes of each SSR locus are included in the data set interface. In the third step, the platform will automatically calculate the jaccard coefficient of similarity between the unknown isolate and all the isolates present at the data bank. The result can be viewed in a report of genetic identification containing the indication of the closest isolates, dendrograms constructed by clustering using the upgma and definition of the isolate haplotype. To start the database and to test the platform, data of eight SSRS locus in 73 isolates of *Beauveria* spp. and eight locus of 68 *Metarhizium* spp. were inserted into the platform.

**Results.** The results produced by myco-id were similar to those from the software alequin, validating the platform as a useful tool.

**Conclusions.** This is a starting point for the analysis and control of genetic identification of entomopathogenic fungi in Brazil. With the increase of data imputed by other researchers, it will be possible to improve the precision in the isolates identification.

### TLO-44. Arsenite oxidation by *Pseudomonas arsenicoxydans* immobilized on zeolite and its potential biotechnological application

Victor campos\*, Carla Leon\*, Cristian valenzuela\*,  
Benner Giacomozzi\*, Maria angelica mondaca\*

\*Universidad de Concepción Chile

**Introduction.** Chemical conventional treatment processes for as removal are effective and could remove about 80%-95% as from solutions, however, operating costs are high. Cheaper and environmentally friendly options to oxidize as, such as biological treatments, may offer an interesting alternative to chemical routes. The aim of this study was to characterize the a As (III) oxidation by *P. arsenicoxydans* and to study the performance of the strain after its immobilization in zeolite.

**Materials and methods.** The ability of *P. arsenicoxydans* to form biofilms was monitored by counting under fluorescence microscopy and scanning electron microscopy (sem). As (III) to as (V) transformation, planktonic and immobilized cells of *P. arsenicoxydans* was determined by HPLC/hg/aas. In order to locate the arsenite oxidizing activity, cells extracts of *P. arsenicoxydans* were prepared and arsenite oxidase activity was determined based on the transfer of reducing equivalents from arsenite to 2,4-dichlorophenolindophenol (DCIP).

**Results.** Arsenite detoxification activity showed high efficiency, particularly in immobilized cells (100% oxidation, after 48 of incubation). Arsenite oxidizing activity, mediated by a constitutive periplasmic enzyme, was determined following the transfer of reducing equivalents from arsenite to 2,4-dichlorophenolindophenol (DCIP) showing that approximately 75% (0.173  $\mu\text{mol dcip min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ ) of the total activity (0.231  $\mu\text{mol dcip min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ ) was detected in the periplasmic fraction. PCR using primers specific for arsenite oxidase gen showed the presence of a gene codifying for arsenite oxidase in *P. arsenicoxydans*.

**Conclusions.** This work describes the ability of *P. arsenicoxydans* to oxidize As (III), using lactate as carbon source, due to the presence of a constitutive highly efficient arsenite oxidase enzyme located in the periplasm. The ability of biofilm formation, the high resistance to As (III) as well as its high oxidation capacity opens the way to further studies on *P. arsenicoxydans* aimed at implementing biological systems to treat arsenic rich wastewater.

### TLO-45. Evaluación de un nuevo medio de cultivo para la producción de polihidroxicanoatos (PHAs) a partir de hidrolizados de almidón de yuca empleando la bacteria *Ralstonia eutropha* ATCC 17699

Diana Marcela Rodríguez G.\*, Adis Andrea Acevedo\*,  
Mariana Cardona B.\*, Alejandro Acosta C.\*

\*Grupo de Biotransformación, Escuela de Microbiología,  
Universidad de Antioquia Colombia.

**Introducción.** Los polihidroxicanoatos (PHAs) son biopolímeros producidos por bacterias que los utilizan como reserva de nutrientes, en la actualidad, son considerados potenciales sustitutos de los plásticos convencionales, debido a que presentan propiedades termoplásticas semejantes a éstos, además, son biodegradables y de alta biocompatibilidad. Estas propiedades los posicionan como una buena alternativa al problema de contaminación ambiental que en este momento enfrentamos, por acumulación de materiales poliméricos en fuentes de agua y rellenos sanitarios. Estos biopolímeros al ser producidos por microorganismos, presentan una velocidad de degradación alta (hasta 6 meses), evitando así, su acumulación en el ambiente. El objetivo fue evaluar el efecto de las concentraciones de hidrolizados de harina de yuca y oligoelementos sobre el rendimiento en la producción vía fermentativa de polihidroxicanoatos (PHAs) empleando la bacteria *Ralstonia eutropha* ATCC 17699.

**Materiales y métodos.** Se evaluaron diferentes relaciones C/N y de oligoelementos empleando como medio de referencia un medio mínimo de sales para ello se realizaron dos diseños experimentales superficie de respuesta y Plackett-Burman.

**Resultados.** De acuerdo al diseño de superficie de respuesta, se encontró que una concentración de 22 g/L de fuente de carbono y 1 g/L de fuente de nitrógeno con la cual se logro la mayor concentración de PHA (2,29 g/L). Los resultados obtenidos por el diseño experimental plackett-burman determinaron que los oligoelementos como sales de citrato de Fe y NH4+ y CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O presentaron un efecto significativo en la producción de PHAs.

**Conclusiones.** Los modelos obtenidos de los diseños experimentales permitieron diseñar un medio de cultivo a partir de un sustrato agro-industrial renovable como los hidrolizados de harina de yuca y obtener las mejores concentraciones de fuente de carbono, nitrógeno y oligoelementos para la producción de PHA vía fermentativa empleando la bacteria *Ralstonia eutropha* ATCC 17699.

### TLO-46. Estabilidad en almacenamiento de una emulsión a base de *Butyrivibrio fibrisolvens* (b9), *Streptococcus bovis* (C2), *Ruminococcus flavefaciens* (Rf) y *Fibrobacter succinogenes* (Fs) y evaluación de su actividad probiótica sobre animales rumiantes

Martha Liliana Chaparro R.\*, Martha Isabel Gómez Á.\*,  
Eliana Sulegíe Montero C.\*, Fernando Rodríguez V.\*

\*Corporación Colombiana de Investigación  
Agropecuaria (Corpoica) Colombia.

**Introducción.** Los probióticos son microorganismos utilizados como aditivos funcionales para obtener mejoras en la salud, el desarrollo y

la producción animal. Corpoica desarrolló una formulación a base de microorganismos anaerobios probióticos como una solución para el problema de morbilidad (50% a 60%) y de mortalidad (12%) de terneras neonatas causada por incidencia de diarreas. El objetivo del trabajo fue determinar la estabilidad de una formulación a base de cuatro cepas de bacterias anaerobias (c2, b9, Fs y Rf) después de 6 meses de almacenamiento y evaluar su actividad probiótica en animales.

**Materiales y métodos.** Las bacterias sin formular y las bacterias formuladas fueron almacenadas a dos temperaturas 4°C y 18°C durante 6 meses, y se determinó su pérdida de viabilidad (%). El diseño fue completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento. Para evaluar su efecto en animales se establecieron dos grupos, cada uno con 10 terneras Holstein neonatas. Un grupo, recibió probiótico y el otro grupo correspondió al control (sin suministro de probiótico). El porcentaje de incidencia de diarreas fue medido durante el primer mes de vida considerando una significancia del 95%.

**Resultados.** Las bacterias sin formular presentaron una pérdida de viabilidad del 100% a los 2 meses de almacenamiento en las dos temperaturas evaluadas. A los 6 meses de almacenamiento las bacterias formuladas presentaron una pérdida del 9,8% y del 8,6% a 18°C y 4°C, respectivamente. Esta pérdida de viabilidad no superó los rangos establecidos para que los microorganismos ejerzan su actividad en el rumen de los terneros. Los animales dosificados con el probiótico presentaron una reducción de diarreas del 75% ( $p < 0,05$ ).

**Conclusiones.** Se observó el efecto protector de la formulación sobre las bacterias anaerobias y se demostró el efecto del producto en condiciones de campo.

#### TLO-47. Influencia de prebióticos en el crecimiento celular del *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* CECT 4434

Luiz Rogério Ludwig F.\*, Sabrina Sabo\*, Maria Carolina P.\*, Ricardo Pinheiro de Souza O.\*

\*Universidade de São Paulo, Brasil.

**Introducción.** La influencia de los prebióticos, en el crecimiento celular de las Bacterias Ácido Lácticas (BAL), viene generando cada vez mayor interés. Esta investigación tuvo como objetivo evaluar la influencia de ingredientes prebióticos en la velocidad específica máxima de crecimiento (MMAX) y en el Tiempo de Generación (TG) de la cepa de *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* CECT 4434.

**Materiales y métodos.** La cepa, adquirida de la colección española de cultivos (CECT), fue cultivada en medio MRS (MAN, rogosa and sharpe) suplementado o no (control) con fructooligosacarídeos (MRS+FOS), polidextrose (MRS+PD) e inulina (MRS+IN). Los cultivos fueron conducidos en shaker, en las condiciones de 100 rpm de agitación por 12 h/30°C. Las muestras fueron recogidas cada 2 h, durante 12 h, y posteriormente cada 12 h, totalizando 48 h de cultivo. El proceso de monitorización del crecimiento celular investigó la relación entre D.O. (600 Nm) y masa seca (mg/mL), obtenida después de la filtración del caldo de cultivo en membrana de 0,22 µm (millipore). A través de esta relación se llegó a las ecuaciones:  $y = 2,0076 * x + 0,00182$ ;  $\mu_{max} = 1 / ((t_2 - t_1) \ln(X_2/X_1))$  e  $tg = \ln(2/\mu_{max})$ .

**Resultados.** La fase exponencial de crecimiento de la cepa *L. lactis* subsp. *Lactis* CECT 4434 ocurrió en un intervalo de 2 a 8 h para MRS, MRS+FOS, MRS+PD y MRS+IN, presentando la masa seca el valor medio de 0,7358; 0,7154; 0,7581 y 0,9481, respectivamente; ya la MMAX tuvo como resultados 0,14 h<sup>-1</sup>, 0,48 h<sup>-1</sup>, 0,67 h<sup>-1</sup>, 0,69 h<sup>-1</sup>, e o TG, 2,65 h, 1,42 h, 1,08 h e 1,06 h.

**Conclusiones.** Los prebióticos causaron un aumento de la MMAX de la cepa de *L. lactis* subsp. *Lactis* CECT 4434 y, consecuentemente, la disminución del tg del microorganismo.

#### TLO-48. Bebidas fermentadas típicas mexicanas: Una nueva fuente de péptidos antimicrobianos

Alejandra Vásquez G.\*, Abrahan Palma R.\*, José Eleazar Barboza C.\*, Norma Margarita de la Fuente S.\*

\*Instituto Tecnológico Superior de Irapuato México.

**Introducción.** Las bacteriocinas producidas por las bacterias ácido lácticas generan gran interés por ser reconocidas por la FDA (Food

and Drug Administration) con el status GRAS (Generally Recognized As Safe) y poseer la presunción calificada de su seguridad (QPS: Qualified Presumption of Safety) por la autoridad europea de seguridad alimentaria (EFSA: European Food Safety Authority). El objetivo fue aislar cepas productoras de péptidos antimicrobianos de bebidas fermentadas típicas mexicanas, y probar la actividad de los metabolitos identificados molecularmente contra cepas patógenas de alimentos y de importancia en salud pública.

**Materiales y métodos.** Se aislaron de tuba, tepache y tábicos de tepache, bacterias ácido lácticas, y se identificaron morfológica y bioquímicamente con pruebas tradicionales y API 50 CH. Se determinó la capacidad bacteriocinogénica de las cepas identificadas por inhibición por sobrecapa y difusión de pozos contra cepas patógenas como *Listeria monocytogenes*, *L. innocua*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* y se identificaron por PCR los genes que codifican para enterocina y nisina, e iturina C y D y se clonaron en el vector PCR 4-topo para secuenciarlos. Por fermentación Batch se obtuvieron la enterocina y nisina. Se extrajeron por adsorción-desorción para confirmar su actividad antimicrobiana contra las mismas cepas patógenas.

**Resultados.** Se identificó la presencia de las cepas de *Lactococcus lactis*, *Streptococcus mundtii* y *Str. malodoratus*, y la presencia de los amplicones correspondientes a nisina, enterocina e iturina. Las bacteriocinas producidas confirmaron su actividad antibacteriana por difusión en pozos contra *Listeria monocytogenes* (126-151 ua), *L. innocua* (151-226 ua), *E. coli* (126-82 ua) y *K. pneumoniae* (45-62 ua).

**Conclusiones.** En las bebidas fermentadas tuba, tepache y tábicos de tepache, se confirmó la presencia de bacterias ácido lácticas productoras de bacteriocinas con capacidad de inhibir el crecimiento de bacterias patógenas de alimentos que afectan a la salud humana. Las bebidas fermentadas se consideran como una fuente natural de péptidos antimicrobianos.

#### TLO-49. Portadores fecales de enterobacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido en ganado vacuno y porcino de un camal en Perú

Edgar Gonzales\*, Rito Zerpa\*, Percy Lezama\*, Raúl Vicuña\*, Fabiola Colquechagua\*

\*Instituto Nacional de Salud del Niño, Perú.

**Introducción.** La resistencia de las bacterias a los antibióticos es un problema importante de salud pública, que afecta diversos ámbitos, tanto en medicina, como en veterinaria, seguridad alimentaria y ambiental. Inicialmente estas se limitaban a enterobacterias causantes de infecciones adquiridas en el hospital, pero la aparición y la propagación de cepas productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) en la comunidad, en particular de *Escherichia coli*, son un grave desafío para la terapia eficaz de las infecciones causadas por Gram negativas. El uso de cefalosporinas y quinolonas en la producción de alimentos de origen animal puede estar relacionado con la reciente aparición de BLEE en bacterias asociadas con el ganado, aves de corral y cerdos. El objetivo del estudio fue determinar la frecuencia de portadores fecales por enterobacterias productora de BLEE en ganado vacuno y porcino.

**Materiales y métodos.** Se colectaron muestras rectales, 50 de ganado vacuno y 50 de ganado porcino sanos provenientes del camal "La Colonial", Perú, durante el 2013. Todas las muestras se sembraron en el medio mac conkey con cefotaxima (4 ug/mL) y se incubaron durante 24 h a 35°C. La detección fenotípica de β-Lactamasas de espectro extendido se realizó de acuerdo con el método de Jarlier.

**Resultados.** De las 100 muestras, 29% fueron productores de BLEE. Dentro del ganado vacuno solo el 2% (1/50) fue productor de BLEE y se encontró en una *E. coli*. En cuanto al ganado porcino el 56% (28/50), de ellos el 48% (24/50) fueron *E. coli* y el 8% (4/50) fueron *P. mirabilis*.

**Conclusiones.** Consideramos que los altos niveles de BLEE en enterobacterias, colonizando animales puede facilitar la difusión de bacterias productoras de BLEE durante la cría de animales para la alimentación, y que se debe dar mayor consideración en los estudios epidemiológicos en la evaluación de los riesgos de las enfermedades transmitidas por los alimentos.

### TLO-50. Presencia de un nuevo clon de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina de genotipo comunitario (SARM-GC) en varias regiones de Colombia

Javier Escobar P.\*, Niradiz Reyes\*, Alejandro Marquez O.\*, Juan Rebollo\*, Hernando Pinzon\*, Catalina Tovar\*, Jaime Moreno C.\*, Zayda Corredor R.\*, Betsy Castro C.\*, María Victoria M.\*, Natasha Vanegas\*

\*Laboratorio de Genética Molecular Bacteriana, (LGMB), Universidad El Bosque.

**Introducción.** Actualmente, los clones de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina de genotipo comunitario (SARM-GC) han mostrado aumento en su frecuencia en pacientes hospitalizados implicando reemplazo de los clones SARM de genotipo hospitalario. Recientemente se ha informado la detección de un nuevo clon no relacionado con USA300 causando infección pediátrica en Bogotá. El objetivo de este estudio fue caracterizar 32 aislamientos SARM pertenecientes a un nuevo clon SARM-GC identificados en varias regiones de Colombia.

**Materiales y métodos.** Los aislamientos fueron identificados en cuatro estudios prospectivos epidemiológicos realizados en varias regiones de Colombia. Adicionalmente se caracterizaron así: determinación de la susceptibilidad a 12 antibióticos, el perfil de toxinas, elementos genéticos móviles, tipificación de SCCmec, AGR, SPA y establecimiento de la relación genética mediante MLST, PFGE y secuenciación genómica.

**Resultados.** De los 32 aislamientos, 19 fueron recuperados de infección y 13 de colonización nasal, en población pediátrica y adulta de las ciudades de Cartagena, Montería, Medellín y Fusagasugá. Todos fueron clasificados como genotipo comunitario, pertenecieron al st923, no estuvieron relacionados genéticamente con el clon USA300, presentaron un SCCmec IVA (con una región J3 diferente a USA300), un tipo de SPA t1635, y no tuvieron ACME. La secuenciación del genoma reveló la presencia de elementos genéticos móviles con nuevas estructuras como profago 3, isla beta e isla de patogenicidad 5. El 40% de los aislamientos presentaron un perfil de multiresistencia a oxacilina y a antibióticos no  $\beta$ -lactámicos como eritromicina y tetraciclina mientras que el 25% fueron multiresistentes a oxacilina, eritromicina, tetraciclina y ciprofloxacina.

**Conclusiones.** Este nuevo clon ya está circulando en varias regiones de Colombia y ha aumentado su frecuencia desde 2009, destacándose por sus nuevos rasgos genéticos representados principalmente en sus elementos móviles. Es necesario realizar estudios para determinar el impacto clínico de las infecciones ocasionadas por este nuevo clon.

### TLO-51. Natural products-coated surface inhibits adhesion of pathogenic bacteria

Danielle Silva T.\*, Denise Brentan S.\*, Amanda Piccoli F.\*, Olena Rzhepishevska\*, Márcia Vanusa S.\*, Tiana Tasca\*, Madeleine Ramstedt\*, Norberto Peprine L.\*, Raquel Brandt G.\*

\*Universidade Federal do Rio Grande do Sul Brasil.

**Introduction.** Despite many advances, biomaterial-associated infections continue to be a major clinical problem. In order to minimize bacterial adhesion, material surface modifications are currently being investigated and natural products possess large potential for the design of innovative surface coatings. This work aimed to produce a dual-function prototype surface, using natural products as active compounds, which is anti-infective for pathogenic bacteria and compatible with mammalian cells.

**Materials and methods.** Bioguided fractionation and mass spectrometry techniques were used to purify and to elucidate the active compounds. The pathway of action of the compounds was investigated by crystal violet assay, OD600 measurements, microbial adhesion to hydrocarbon test and microscopies (SEM and CLSM). A model surface was coated with the bioactive compounds using spin coating technique and characterized through xps, water contact angle and ellipsometry.

**Results.** We demonstrated that b-type linked proanthocyanidins act as non-biocidal anti-adhesive substances, both in solution and when immobilized on a surface, against *Staphylococcus epidermidis* - the most frequent cause of medical device infections. The anti-adhesion activity occurs essentially by physical-chemical changes of both the bacterial and substrate surfaces. We produced proanthocyanidins-coated surfaces able to reduced bacterial adhesion while promoting mammalian cells attachment, thereby acting as a dual-function surface, which displayed hydrophilic character and the film thickness in the nanometer

range. The proposed mechanism of inhibition is based on electrostatic repulsion, high hydrophilicity and the steric hindrance provided by the coating that blocks bacterium-substratum interactions.

**Conclusions.** Taking into account the huge biodiversity and advances in coating technologies, this work has the potential to lead to the development of innovative preventive strategies resulting in lower costs in medical procedures associated to the indwelling devices.

### TLO-52. Evaluación del desempeño de una prueba molecular comercial para el diagnóstico de tuberculosis y la resistencia a Rifampicina en muestras clínicas

Teresa Realpe\*, Gloria Mejía\*, Elsa Zapata\*, Paulina Barón\*, Verónica Gómez\*, Jaime Robledo\*

\*Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad Pontificia Bolivariana (UPB) Colombia.

**Introducción.** El incremento de *Mycobacterium tuberculosis* multidrogorresistente (MTB-MDR) y extremadamente resistente (MTB-XDR) es uno de los factores que puede comprometer el futuro control de la tuberculosis (TB) en el mundo. Las directrices de manejo programático de la OMS para MTB-MDR, recomiendan realizar pruebas rápidas de sensibilidad a Isoniazida y/o Rifampicina en lugar de pruebas convencionales, con el fin de salvar vidas y proteger la comunidad. El Sistema Xpert® MTB/RIF detecta MTB rápidamente y su susceptibilidad a Rifampicina en muestras clínicas con baciloscopia positiva o negativa. El objetivo fue evaluar el Sistema Xpert® MTB/RIF como tamizaje molecular para detección de MTB-MDR en muestras clínicas.

**Materiales y métodos.** Se evaluaron 289 muestras (149 pulmonares y 144 extrapulmonares) recibidas en la unidad de bacteriología y micobacterias de la Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB) para la detección de MTB y su susceptibilidad a Rifampicina mediante el Sistema Xpert® MTB/RIF, se realizaron concomitantemente cultivo con el sistema de detección de micobacterias Bactec™ MGIT™ 960 combinado con tamizaje en Middlebrook 7h11 (agar de capa delgada).

**Resultados.** En las muestras pulmonares, el Sistema Xpert® MTB/RIF presentó una sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de 96.55%, 95.76%, 84.85% y 99.12% respectivamente para detección de MTB y de 33.33%, 100%, 100% y 71.43% respectivamente para detección de resistencia a rifampicina. Para las muestras extrapulmonares, éstos valores fueron de 70%, 97.7%, 70% y 97.7% Respectivamente para detección de MTB y 100%, 100%, 100% y 100% para detección de resistencia a rifampicina.

**Conclusiones.** El Sistema Xpert® MTB/RIF puede utilizarse para tamizaje de MTB-MDR, proporcionando resultados más rápidos que los métodos de cultivo en muestras pulmonares, sin embargo el desempeño en muestras extrapulmonares y la detección de resistencia a rifampicina deben confirmarse con métodos fenotípicos estándar de cultivo y susceptibilidad.

### TLO-53. Actividad antibacteriana y antiopelícula de aceite esencial de *Eucalyptus globulus labill* sobre aislados clínicos de bacilos Gram negativos multiresistentes

María Fernanda Morales R.\*, Gerardo González R.\*, Víctor Hernández\*, Mariana Domínguez\*, Helia Bello\*

\*Universidad de Concepción, Chile.

**Introducción.** Los aceites de *E. globulus* poseen propiedades antimicrobianas con características particulares según la parte del árbol y la región geográfica. Esta especie es uno de los principales recursos forestales en Chile, generando toneladas de biomasa de desecho. Por otro lado, la resistencia bacteriana a los antibióticos disponibles para uso clínico ha aumentado considerablemente en las últimas décadas. Además, la formación de biopelículas se ha convertido en un considerable problema de salud pública a nivel mundial, por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antibacteriana y antiopelícula de Aceite Esencial (AE) obtenido de Hojas Adultas (HA), Hojas Jóvenes (HJ) y Frutos (FR), sobre cepas clínicas de Bacilos Gram negativos (BGN) multiresistentes.

**Materiales y métodos.** La extracción se realizó por arrastre de vapor de agua. Se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) mediante microdilución sobre *Acinetobacter baumannii* (30), *Pseudomonas*



*aeruginosa* (21), *Escherichia coli* (36) y *Klebsiella pneumoniae* (40). La inhibición de formación de biopelículas se evaluó en 13 cepas, mediante determinación de absorbancia a 560 y 330 nm, utilizando MTT. Se midió la absorbancia con y sin aceite esencial y se determinó el porcentaje de inhibición o estimulación de formación de biopelículas.

**Resultados.** La CMI de los aceites fluctuó entre 2,3 y 115 mg/mL, obteniéndose la menor CMI para AE-HA sobre *A. baumannii* y la mayor para AE-HA y AE-FR sobre *K. pneumoniae*. A concentraciones subinhibitorias de AE-HA aumentó la formación de biopelículas en cepas de *K. pneumoniae*; por el contrario, en *A. baumannii* se observó inhibición de formación de biopelículas.

**Conclusiones.** Aceites esenciales de eucalipto inhiben el crecimiento de BGN multiresistentes, especialmente *A. baumannii*, y concentraciones subinhibitorias inhiben la capacidad para formar biopelícula en esta especie, pero favorecen la formación en *K. pneumoniae*.

#### TLO-54. Caracterización molecular de los primeros aislamientos de enterobacterias portadoras de carbapenemasa KPC en Chile

Pamela Araya\*, Soledad Prat\*, Ingrid Araya\*, Daniel Ibañez\*, Jaime Lagos\*, Carolina Aguayo\*, Juan Carlos Hormazabal\*, Jorge Fernández\*, Helia Bello\*, Mariana Domínguez\*

\*Instituto de salud pública de Chile.

**Introducción.** La diseminación mundial de enterobacterias productoras de carbapenemasas representa un problema mayor en salud pública. Enterobacterias productoras de KPC han sido responsable de extensos brotes hospitalarios de dimensiones nacionales e internacionales, tanto en el hemisferio norte como en América latina. El objetivo fue caracterizar molecularmente aislamientos de enterobacterias portadora de KPC detectados en Chile.

**Materiales y métodos.** Se incluyeron los 26 aislamientos de enterobacterias confirmados por el laboratorio de referencia del instituto de salud pública de Chile, como portadores de carbapenemasas, provenientes de centros hospitalarios desde 2012 a la fecha. Los aislamientos fueron sometidos a confirmación de carbapenemasas por PCR, determinación del tipo blaKPC por amplificación y secuenciación; subtipificación por electroforesis de campo pulsado (PFGE) con SPEI y determinación de linaje genético por secuenciación de multilocus (MLST), según protocolo del instituto Pasteur, Francia.

**Resultados.** La caracterización permitió confirmar en todas las cepas la presencia de KPC-2. La identificación de linajes por MLST detectó los complejos clonales (CC): CC29 en 8 cepas con la secuencia tipo ST1161 (7 cepas) y ST29 (1 cepa); CC258 en 8 cepas con las secuencias tipo ST258 (5 cepas) y ST11 (3 cepas), CC347 en 2 cepas con ST454 (1 cepa) y ST13 (1 cepa). La secuencia tipo ST101 (caso importado) y ST25 sin CC. La subtipificación por PFGE de *K. pneumoniae* identificó 15 subtipos, dos clúster que incluyeron las cepas del CC29 y CC258.

**Conclusiones.** Se confirma la presencia de KPC-2 en Chile, con dos clúster de los CC29 y CC258, el cual ha sido reconocido internacionalmente como el mayor responsable de la diseminación mundial de *K. pneumoniae* productora de carbapenemasa. Otras 6 cepas productoras de KPC sin complejo clonal fueron identificadas: *E. coli* (1), *K. oxytca* (2), *E. cloacae* (1), *S. marcescens* (1) y *C. freundii* (1). Financiamiento: fondecyt 1130838.

#### TLO-55. Diseño, síntesis y efecto antimicrobiano de nuevos péptidos sintéticos contra *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (SARM) y *Escherichia coli* o157:h7

Marlon Yesid Cáceres O.\*, Andrés Mauricio Castañeda\*, Rodrigo Gonzalo Torres S.\*, Claudia Cristina Ortiz L.\*

\*Universidad Industrial de Santander, Colombia.

**Introducción.** El aumento progresivo de la resistencia que desarrollan los microorganismos frente a los antibióticos, y los efectos derivados del uso de éstos, está ocasionando graves problemas en la salud pública a nivel mundial. En este contexto, los péptidos antimicrobianos (PAMS) han surgido como moléculas prometedoras para combatir microorganismos patógenos, exhibiendo un amplio espectro de actividad antibacteriana. El objetivo fue obtener nuevos péptidos sintéticos con actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (SARM) y *Escherichia coli* o157:h7.

**Materiales y métodos.** Los nuevos PAMS sintéticos fueron diseñados utilizando herramientas bio-informáticas y obtenidos mediante síntesis

química en fase sólida empleando la estrategia FMOC. Los PAMS fueron caracterizados mediante cromatografía líquida de alta eficacia en fase reversa (RP-HPLC). A continuación, los PAMS se caracterizaron por espectrometría de masas utilizando un espectrómetro bruker tof-tof. Posteriormente, se confirmó su estructura secundaria (2D) mediante ensayos de difracción circular (CD) utilizando un espectrómetro CD J-815. El efecto inhibitorio de los PAMS se evaluó *in vitro* mediante la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) utilizando el método de microdilución en caldo, y la interacción con el microorganismo se visualizó por microscopía confocal de fluorescencia.

**Resultados.** Los valores de CMI 50 y CMI 90 *in vitro* alcanzados para *Escherichia coli* o157:h7 fueron de 5 µm y 75 µm respectivamente, mientras para SARM se obtuvieron valores de MIC 50 de 5 µm y valores de CMB de 75 µm. Esto indica que SARM presentó mayor sensibilidad a los péptidos sintetizados.

**Conclusiones.** Los resultados obtenidos indicaron que las diferentes secuencias de los PAM's usadas en este estudio, tienen un papel trascendental en la interacción con la membrana celular de bacterias Gram positivas y Gram negativas. Por lo tanto, los PAM's sintetizados se constituyen en una alternativa viable para enfrentar el desafío de la resistencia bacteriana.

#### TLO-56. Effect of a LysR-type regulator on colonization of *Staphylococcus aureus*

Mary Hellen Fabres K.\*, Raphael Contelli K.\*, Celine Ster\*, Eric Brouillette\*, Andréa de Oliveira Barros R.\*, François Malouin\*

\*Universidade Federal de Viçosa Brasil.

**Introduction.** *Staphylococcus aureus* is a well-armed pathogen that has been extensively studied to elucidate the mechanisms involved in pathogenicity that could aid in the definition of new strategies to prevent infections. Recently, a transcriptional profile of *S. aureus* during intramammary infection demonstrated that sacol2325, a putative LysR-type transcriptional regulator, was highly induced *in vivo*. Aim: in this study we studied the role of the putative transcriptional regulator LysR in *Staphylococcal pathogenesis*.

**Materials and methods.** Strains overexpressing sacol2325 (LysR) were characterized *in vitro* for growth, biofilm production, susceptibility to oxidative stress and antibiotic resistance. The virulence of strains overexpressing LysR were evaluated by testing the invasion and persistence in mammary epithelial cells (MAC-T) and in murine model. A whole RNA sequencing (RNAseq) was used to validate the importance of this transcriptional regulator on virulence of *S. aureus*.

**Results.** LysR overexpression affected biofilm formation and oxidative stress susceptibility, with no changes on bacterial growth and hemolysis. *S. aureus* strains overexpressing LysR a reduced capacity to invade MAC-T cells and lower virulence in a mastitis murine model. Transcriptome analysis showed that 34.8% of *Staphylococcal* genes were altered in response to sacol2325 overexpression. The sortase A (SRTA) gene and some genes involved in teichoic acid production (TAGX and TAGB) were down-regulated 3.0, 7.3, and 11.2-Fold, respectively. In contrast, genes responsible for purine biosynthesis and adenosine synthase (ADSA) were up-regulated. The results showed that influences initial steps in *S. aureus* colonization and immune evasion, by altering the expression of genes associated with cell wall function and evasive strategies.

**Conclusions.** Our results suggest that LysR could influence the adaptation of the bacteria to the strict conditions of the udder, enhancing survival within the host cells, thereby contributing to the persistence of the infection.

#### TLO-57. Contribución de las islas de patogenicidad SPI-13 de *Salmonella enteritidis* y SPI-8 de *Salmonella typhi* en los procesos de internalización y supervivencia intracelular en macrófagos murinos

Rodrigo Andrés Espinoza T.\*, Cecilia Alejandra Silva V.\*, Carlos Alberto Santiviago C.\*, Lucía Inés Contreras\*

\*Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. Chile.

**Introducción.** *Salmonella typhi* es un patógeno exclusivo de humanos y es el agente etiológico de la fiebre tifoidea. Por su parte,

*Salmonella enteritidis* es un patógeno capaz de infectar distintos hospederos como humanos, roedores y aves. Análisis comparativos indican que los genomas de ambos patógenos son muy similares. Sin embargo, *S. enteritidis* posee la isla de patogenicidad SPI-13, mientras que en el mismo lugar de cromosoma *S. typhi* presenta la isla de patogenicidad SPI-8. Esta diferencia podría explicar la capacidad diferencial que presentan ambos patógenos para sobrevivir en macrófagos de distintos hospederos. El objetivo de este estudio fue determinar la contribución de las islas SPI-13 de *S. enteritidis* y SPI-8 de *S. typhi* en los procesos de internalización y supervivencia intracelular en macrófagos murinos.

**Materiales y métodos.** Se realizaron ensayos de protección a gentamicina usando macrófagos raw264.7. Para evaluar la internalización y supervivencia intracelular de *S. enteritidis* NCTC13349, una mutante isogénica  $\Delta$ SPI-13, *S. typhi* STH2370, una mutante isogénica  $\Delta$ SPI-8 y las correspondientes mutantes complementadas en trans.

**Resultados.** *S. enteritidis*  $\Delta$ SPI-13 presentó niveles de internalización menores que la cepa silvestre en macrófagos, mientras que la mutante  $\Delta$ SPI-13 complementada en trans recuperó el fenotipo silvestre. Por otra parte, no se observaron diferencias en los niveles de internalización de *S. typhi*  $\Delta$ SPI-8 y la cepa silvestre en macrófagos. Finalmente, *S. enteritidis*  $\Delta$ SPI-13 y *S. typhi*  $\Delta$ SPI-8 no presentaron deficiencias en la supervivencia en macrófagos en comparación con sus respectivas cepas silvestres.

**Conclusiones.** La isla SPI-13 de *S. enteritidis* contribuye a la internalización en macrófagos murinos, pero no contribuye a supervivencia dentro de estas células. La isla SPI-8 de *S. typhi* no contribuye en los procesos de internalización y proliferación intracelular en macrófagos murinos. (Financiado por los proyectos fondecyt 1110172, 1140754 y la beca conicyt 21110114).

### TLO-58. Dynamics of genetic elements harbored by Chilean multidrug resistant *Shigella sonnei* strains during 1995-2013

Cecilia Toro\*, María teresa Ulloa\*, Germán Hermosilla\*, Patricia Díaz\*, Alfonso Miranda\*, Tania Henríquez\*, Camila García\*, Marco Bugueño\*, Daniela Herrera\*, Gissela Castillo\*

\*Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Depto. de Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Univ. de Antofagasta. 3. Integramédica. Chile.

**Introduction.** *Shigella sonnei* is one of the most frequent etiologic agents of foodborne diseases in industrialized countries. In Chile, between 40 to 60% of *S. sonnei* strains are isolated from shigellosis cases in the last 5 years. *Shigellosis* is endemic; however, this pathogen exceptionally caused a nationwide outbreak in the 2008-2009 summer. In this study, we compared the antimicrobial susceptibility profile, carriage of class 1 and 2 integrons, presence of pathogenicity island SRL (PI-SRL) and clonality of 350 *S. sonnei* isolates from five periods including before outbreak p1: 1995-1997 and p2: 2004-2006; p3: 2008-2009; and post-outbreak p4: 2010-2011 and p5: 2012-2013.

**Materials and methods.** The antimicrobial susceptibility patterns were determined by disk diffusion test. Presence of pi-srl, class 1 and 2 integrons were screened by PCR, and clonality was assessed by PFGE.

**Results.** It was observed that there are significant differences in the antimicrobial resistance patterns for both one antibiotic and multidrug resistance ( $\geq 3$  antimicrobial classes) in the five periods ( $p < 0.001$ ;  $\chi^2$ ). Distribution of integron class 1 was 42, 2, 100, 64 and 46% in each period respectively, meanwhile integron class 2 was scarcely present during p1, p2 and p3 (3, 2 and 0%), and it increased to 25 and 43% in p4 and p5. Dramatic changes were also registered regarding the presence of PI-SRL from 42 to 2, 100, 64, and 44% in each group. It is highlighted that 100% of *S. sonnei* from p3 corresponding to the outbreak showed multidrug resistance to 5 or more antibiotics, phenotype which correlated with the presence of class 1 integron and PI-SRL. By PFGE two clusters could be established related to the absence or the presence of PI-SRL.

**Conclusions.** These results show the temporal dynamics of genetic elements of the *S. sonnei* strains circulating in Chile. (Supported by fondecyt grant 1130394).

### TLO-59. Predominio de la carbapenemasa KPC en aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos en hospitales de alto nivel de complejidad de la ciudad de Medellín

Johanna Marcela Vanegas\*, Astrid Vanessa Cienfuegos\*, Ana María Ocampo\*, Erika Rodríguez\*, Lucelly López\*, Helena Del Corral\*, Judy Natalia Jiménez\*

Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

**Introducción.** La emergencia de la resistencia a los carbapenémicos en *Pseudomonas aeruginosa* ha dificultado el manejo de las infecciones ocasionadas por esta bacteria. Las carbapenemasas son uno de los mecanismos que pueden estar mediando dicha resistencia. El objetivo fue describir las carbapenemasas presentes en aislamientos de *P. aeruginosa* resistentes a carbapenémicos en cinco hospitales de alto nivel de complejidad de la ciudad de Medellín.

**Materiales y métodos.** Se seleccionaron todos los aislamientos de *P. aeruginosa* resistentes a carbapenémicos durante junio 2012 y junio 2014 en cinco instituciones de alto nivel de complejidad en Medellín. La identificación y sensibilidad antibiótica se determinó usando el sistema vitek-2. La detección de carbapenemasas fue realizada mediante el test tridimensional y la amplificación por PCR de los genes Blavim, Blaimp Blandm bla<sub>oxa</sub>-48 y BlaKPC. La información clínica fue obtenida a partir de la revisión de la historia clínica de cada paciente.

**Resultados.** Se incluyeron 235 aislamientos de *P. aeruginosa* resistentes a carbapenémicos, en los cuales el test tridimensional fue positivo en 23,8% (n=56) y negativo en 76,2% (n=179). En los primeros, los genes BlaKPC y Blavim fueron detectados en 48,2% (n=27) y 44,6% (n=25) de los aislamientos respectivamente; 2 cepas fueron positivas para ambos genes simultáneamente. En los segundos, 7 aislamientos (3,9%) portaban el gen Blavim y los restantes (76,2%, n=179) fueron negativos para los genes evaluados. Los genes Blandm, bla<sub>oxa</sub>-48 y Blaimp no fueron encontrados. Las infecciones más frecuentes fueron la de tracto urinario y la infección intrabdominal (14,9%, n=35, cada una).

**Conclusiones.** Las carbapenemasas no constituyen un mecanismo frecuente de resistencia a carbapenémicos. Sin embargo, el alto porcentaje de la carbapenemasa KPC descrita en este estudio, sugiere la diseminación de esta enzima de enterobacterias a bacilos no fermentadores y la importancia de su vigilancia epidemiológica en nuestro país. Financiación: Colciencias código: 111554531404 y codi: cimb-068-12.

### TLO-62. Evaluación de la metodología Genotype® MTBDR plus para la detección del complejo *Mycobacterium tuberculosis* resistente a isoniazida y rifampicina

Claudia Llerena P.\*, Angie Paola Zabaleta V.\*

\*Instituto Nacional de Salud Colombia.

**Introducción.** La aparición de cepas resistentes de *Mycobacterium tuberculosis* es un grave problema de salud pública; en el año 2012 en el mundo se presentaron 450.000 casos de tuberculosis multirresistente, en Colombia para éste año se presentaron 108 casos. Debido al aumento en la aparición de estas cepas, a nivel mundial se ha incrementado la implementación de nuevos métodos diagnósticos rápidos que permitan detectar rápidamente éstos casos para cortar la cadena de transmisión y dar un tratamiento oportuno a éstas personas. El objetivo fue evaluar la metodología genotype® MTBDR plus en comparación con los métodos convencionales bactec MGIT 960® y proporciones en medio Löwenstein Jensen para detección de resistencia a los fármacos antituberculosos isoniazida y rifampicina.

**Materiales y métodos.** Estudio de evaluación de métodos diagnósticos. Se analizaron los resultados de 1361 aislamientos de *Mycobacterium tuberculosis* estudiados por la metodología Genotype® MTBDR plus y las técnicas convencionales bactec MGIT 960® y proporciones en Löwenstein Jensen.

**Resultados.** Genotype® MTBDR plus presentó una sensibilidad y especificidad de 92% y 99% para isoniazida; 91% y 98% para rifampicina. La concordancia total para isoniazida fue de 98% y 97% para rifampicina.

**Conclusiones.** Genotype® MTBDR plus presentó buena sensibilidad, especificidad y concordancia total, siendo así una herramienta rápida para detección de resistencia a los medicamentos más importantes en el tratamiento antituberculoso, sin embargo debe ser considerada como

una técnica de tamización porque la sensibilidad obtenida para los dos fármacos es menor del 95%. Por tal motivo es necesario que todas las pruebas que presenten sensibilidad por esta técnica, sean confirmadas por una metodología convencional, que permita detectar aquellos casos que presenten resistencia debido a mutaciones que estén por fuera de la región que ofrece la técnica o por otros mecanismos de resistencia.

### TLO-63. Epidemiología molecular de tuberculosis multirresistentes en Colombia y perfil de resistencia a fármacos de segunda línea (resultados preliminares)

Claudia Llerena\*, Juan Rodríguez\*, Martha Murcia\*, Julio Guerra\*

\*Instituto Nacional de Salud - Univ. Nacional de Colombia. Colombia.

**Introducción.** La tuberculosis es problema de salud a nivel mundial, en Colombia se reportan alrededor de 12.000 casos nuevos y 110 son multirresistentes, el laboratorio nacional de referencia realiza la vigilancia de la resistencia a medicamentos de segunda línea a estos casos. La aplicación de herramientas moleculares permite conocer acerca de la transmisión de la enfermedad. El objetivo de este trabajo fue evaluar el perfil de resistencia a fármacos de segunda línea, y conocer la estructura de la población del complejo *Mycobacterium tuberculosis*.

**Materiales y métodos.** Se evaluaron aislamientos multirresistentes por la técnica de bactec MGIT 960® para los fármacos Kanamicina, Amikacina, Capreomicina y Ofloxacin empleando las concentraciones recomendadas por OPS y se realizó genotipificación mediante spoligotyping.

**Resultados.** Se evaluaron 206 casos de TB MDR, provenientes de 24 entidades territoriales de Colombia, en casos nuevos (no habían tomado medicamentos de segunda línea) se encontró que el 86,9% fueron sensibles a los cuatro fármacos, la mayor resistencia se presentó a la Kanamicina con 8,3%; en este grupo de pacientes no se encontraron casos de TB extremadamente resistente. En casos previamente tratados (registraban haber tomado medicamentos de segunda línea), se encontró que el 47,4% eran sensibles a los cuatro fármacos, la resistencia más alta fue para Kanamicina con un 31,6%, seguida por Capreomicina y Ofloxacin con 26,3% respectivamente y Amikacina de 23,7%, se encontraron seis casos de TB extremadamente resistente. Las familias de *M. tuberculosis* H, LAM y T se encontraron en un 16%, 14% y 11% respectivamente, de la familia Beijing el 8,5%. El 34% de los aislamientos correspondieron a patrones huérfanos.

**Conclusiones.** La resistencia encontrada en casos antes tratados es relativamente alta para los cuatro fármacos encontrándose por encima del 25%, algunas de las familias genéticas identificadas se asociaron a la presencia de resistencia principalmente el genotipo Beijing.

### TLO-64. Detección de BLEE tipo CTX-M en cepas intrahospitalarias de *Proteus* en el servicio autónomo Hospital Universitario Antonio Patricio de Alcalá de Cumaná, Venezuela

Hectorina Rodulfo\*, Yarmilia Gonzales\*, Milagros Horta\*, Militzta Guzman\*, Marcos De Donato\*

\*Lab. Genética Molecular, IIBCAUDO, Bacteriología Clínica del Depto. de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, Cumaná. Venezuela.

**Introducción.** *Proteus* causa importantes infecciones intrahospitalarias principalmente en pacientes inmunocomprometidos. La detección de cepas intrahospitalarias de *Proteus* portadoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) tipo CTX-M representa un problema clínico epidemiológico cada vez más frecuente en diferentes regiones, por ello se estudió la frecuencia de cepas intrahospitalarias de *Proteus* productoras de CTX-M en el hospital de Cumaná.

**Materiales y métodos.** Se estudiaron 51 cepas de *Proteus* aisladas de pacientes atendidos en diferentes servicios del Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá". Las cepas fueron reidentificadas, se realizó pruebas de susceptibilidad antimicrobiana mediante el método de difusión en agar, métodos de screening y confirmatorios para BLEE, así como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para detectar el gen BLACTX-M.

**Resultados.** Se identificaron 38 cepas como *P. mirabilis*, las cuales presentaron mayor frecuencia de resistencia para los betalactámicos ampicilina (43%), cefalotina (32%) cefotaxima (32%) y ceftazidima (27%), mientras que 8 cepas identificadas como *P. penneris* y 5 de *P. vulgaris*, mostraron mayor resistencia a piperacilina (46%), cefotaxima (38%) e

imipenem (31%). La resistencia a CTX para *P. mirabilis*, *P. penneris* y *P. vulgaris* fue de 24%, 6% y 4%, respectivamente, aisladas de secreciones (77%) en servicios de medicina (35%) y cirugía (18%). La presencia de cefotaximas fue confirmada por método de disco combinado y por método del doble disco en 11 de 17 cepas resistentes a CTX. La PCR del gen BLACTX-M amplificó el fragmento de 544 pb solo en las 11 cepas positivas por los métodos fenotípicos confirmatorios.

**Conclusiones.** Los resultados de la presente investigación revelan emergencia de cefotaximas en cepas intrahospitalarias de *Proteus*, lo que requiere reforzar las medidas de prevención para lograr controlar su diseminación y la realización de nuevos trabajos orientados a la identificación de los diferentes mecanismos de resistencia en *Proteus*.

### TLO-65. A ausência do gene YcgR altera a formação de biofilme e motilidade em amostra de *Escherichia coli* enteropatogênica atípica do sorotipo O55:H7

Juliana Suyama H.\*, Hebert Fabricio C.\*, Samuel Campanelli Freitas C.\*, Min Jun Y.\*, Renato De Mello R.\*, Vanessa Bueris\*, Marcelo Palma S.\*

\*Laboratório de Genética - Instituto Butantan São Paulo, Brasil.

**Introdução.** *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC) se aderem em células epiteliais formando microcolônias e rearranjo no citoesqueleto celular, possibilitando formação de biofilme. EPEC atípicas (AEPEC) de diversos padrões de adesão formam biofilmes em superfícies abióticas e celulares. A bis-(3'-5')-monofosfato de guanosina cíclico (C-DI-GMP) é um sinalizador envolvido na transição do estado planctônico para o estado de biofilme. A proteína de ligação YcgR possui um sítio de ligação de C-DI-GMP e está envolvida na regulação do movimento flagelar através da ligação do complexo YcgR-C-DI-GMP à proteínas do aparato flagelar. O objetivo do trabalho é avaliar a influência do gene YcgR na motilidade e formação de biofilme em amostra de AEPEC.

**Materiais e métodos.** Uma amostra do sorotipo O55:H7 foi escolhida para este trabalho. A deleção do gene YcgR foi realizada através de recombinação homóloga (datsenko e wanner, 2000). A complementação da amostra mutante foi feita através da clonagem do gene YcgR em plasmídeo PBAD/MYC-HISA. Ensaios fenotípicos de formação de biofilme em superfície abiótica foram analisados através do teste colorimétrico de cristal violeta por períodos de 3, 6, e 24 h em meio dmem. O teste de formação de biofilme em superfície biótica foi realizado em célula hep-2 pré-fixada nos mesmos períodos e analisados através de microscopia confocal. O teste de motilidade foi realizado em placa de ágar 0,3% em período de 6 h de incubação à 37°C.

**Resultados.** Os resultados do teste de formação de biofilme demonstram um aumento do biofilme no mutante O55:H7ΔycgR quando comparado com a amostra selvagem em todos os períodos analisado. Este resultado pode ser observado tanto no teste colorimétrico de cristal violeta quanto no teste de formação em superfície biótica o fenótipo de motilidade se mostrou reduzido na amostra mutante

**Conclusões.** Estes resultados sugerem que YcgR pode estar envolvido na regulação da formação de biofilme e motilidade em AEPEC.

### TLO-66. Detección de variantes alélicas del gen *fim3* en cepas de *Bordetella pertussis* aisladas en niños con tos ferina en México

Gabriel Martínez L.\*, Agustín De Cola R.\*, Rosa María Ribas A.\*, Lorraine Martínez R.\*, Antonino Lara H.\*, Patricia Arzate B.\*, Alejandra Aquino A.\*

\*Instituto Nacional de Pediatría México.

**Introducción.** A pesar de ser una enfermedad prevenible por vacunación la tos ferina continúa siendo un problema de salud pública. La adaptabilidad del patógeno consiste en la aparición de variables de algunos genes que codifican para factores de virulencia de *Bordetella pertussis* como la fimbria 3 (*fim3*), este fenómeno podría explicar en parte la reemergencia de esta enfermedad. *fim3* es codificada por el gen *fim3* del que se conocen dos variantes principales: *fim3-1* (era vacunal) y *fim3-2* (era post-vacunal). La aparición de la variante *fim3-2* parece estar relacionada con el aumento en el número de casos. En México, no existen descripciones de variantes alélicas en cepas circulantes de *B. pertussis*. El objetivo fue detectar los cambios alélicos del gen *fim3* en cepas de *B. pertussis* aisladas en niños con tos ferina.

**Materiales y métodos.** Derivado de un estudio multicéntrico realizado en 11 centros pediátricos en México entre los años 2010-2013, en el cual se confirmaron casos de tos ferina a través de RT-PCR, se seleccionaron 69 muestras confirmadas para *B. pertussis*. La variabilidad alélica del gen FIM3 se determinó a través de la amplificación por PCR en punto final y posterior secuenciación de un fragmento de 800 pb. La identidad de las secuencias se confirmó con alineamientos locales utilizando la herramienta Blast. Las variantes alélicas se determinaron con alineamientos múltiples.

**Resultados.** En el 94.2% de las muestras se identificó la variante alélica FIM3-1; en el 5.8% restante se detectó una transversión de c260a, la cual impacta en la secuencia aminoácídica generando el cambio a87e, lo que permite clasificarla como variante alélica FIM3-2.

**Conclusiones.** En cepas circulantes de *B. pertussis* aisladas de niños mexicanos se identificaron las variantes alélicas FIM3-1 y FIM3-2. La variante alélica predominante es FIM3-1. Este es el primer estudio en México que describe las variantes alélicas de *B. pertussis*.

### TLO-67. Análisis genómico comparativo de clones de *Staphylococcus aureus* resistentes a metilina de genotipo comunitario (SARM-GC) de circulación en Colombia

Betsy Castro-Cardozo\*, Jaime Moreno-Castañeda\*,  
Alejandro Márquez-Ortiz\*, Zayda Corredor-Rozo\*,  
Viviana Ramos\*, María Victoria Moncada\*,  
José Vicente Silva\*, Paula Díaz\*, Natasha Vanegas-Gómez\*

\*Laboratorio de Genética Molecular Bacteriana-Univ. el Bosque Colombia.

**Introducción.** Los clones de *Staphylococcus aureus* resistente a metilina con genotipo comunitario (SARM-GC) son un problema de salud pública a nivel mundial por su resistencia y habilidad para causar infección en personas de la comunidad y pacientes hospitalizados. En Colombia existen dos clones SARM-GC que circulan con mayor frecuencia (ST8-IVC-T008-PVL+-ACME-; ST923-IVA-T1635-PVL+-ACME-). El objetivo fue realizar la comparación del genoma de 9 aislamientos representativos de los dos principales clones SARM-GC de circulación en Colombia.

**Materiales y métodos.** Se realizó un análisis genómico comparativo de 9 aislamientos representativos de los dos clones SARM-GC más frecuentes en Colombia (3 de infección y 6 de colonización). Los genomas fueron secuenciados utilizando la plataforma de secuenciación Illumina HiSeq o MiSeq con librerías "Paired-End" de 2x100 pb o 2x300 pb. Las lecturas fueron ensambladas utilizando el programa MaSuRCA, la anotación automatizada de los genomas se realizó usando los servidores RAST y BASYS. Los análisis comparativos fueron realizados con los programas progressiveMauve y BRIG. La cepa FPR1635-USA300 fue utilizada como referencia.

**Resultados.** Los análisis genómicos muestran diferencias significativas entre los dos clones SARM-GC, las cuales están asociadas principalmente a diferencias en las estructuras y la adquisición de elementos genéticos móviles, así como en inserciones y deleciones de fragmentos de DNA en varias regiones del genoma. No se encontraron diferencias globales significativas entre los aislamientos relacionados con el clon ST923-IVA. Sin embargo, entre los aislamientos relacionados con el clon ST8-IVC la principal diferencia estuvo relacionada con la inserción diferencial de otros fragmentos de casetes corriente abajo del *scmec ivc*. El clon ST8-IVC presenta una mayor relación genética con el clon usa300 que el clon ST923-IVA.

**Conclusiones.** Estos resultados confirman la presencia de dos clones SARM-GC en Colombia, que a pesar de pertenecer al mismo complejo clonal (8), albergan características genéticas diferentes. El clon ST8-IVC posiblemente ha sufrido un mayor proceso de diversificación genómica que el clon ST923-IVA.

### TLO-68. Evaluación de la actividad antimicrobiana de agentes biocidas por citometría de flujo

Daniel Vasquez G.\*, Gerardo Andrés Libreros Z.\*,  
María del Pilar Crespo O.\*

\*Universidad del Valle Colombia.

**Introducción.** Los biocidas son agentes químicos usados en el control de microorganismos. Su empleo a menudo se dificulta por la toleran-

cia que adquieren microorganismos a estos productos a través del tiempo, generando problemas para su control especialmente en el ámbito hospitalario. La evaluación en el laboratorio de la actividad antibacteriana de biocidas se realiza convencionalmente por medio de CIM (concentración inhibitoria mínima), sin embargo, estos métodos pueden no ser suficientes para detectar bacterias viables lesionadas. Este estudio plantea aplicar la citometría de flujo en la evaluación de la viabilidad celular, para ensayos de estimación de actividad antimicrobiana de biocidas en bacterias aisladas de ambientes domiciliarios y hospitalarios.

**Materiales y métodos.** La actividad antimicrobiana de clorhexidina (CH), cloruro de benzalconio (CB) y triclosan (TC) fue evaluada en 21 aislados ambientales hospitalarios y domésticos de *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y *Escherichia coli*, mediante CIM y el método dilución-neutralización. La viabilidad celular se evaluó utilizando subcultivo en agar tripticasa soya y citometría de flujo, empleando syto 9 y yoduro de propidio.

**Resultados.** Aislados domiciliarios de *P. aeruginosa* obtuvieron valores más altos de CIM para los diferentes biocidas. CB: 625 µg/mL; CH: 156,2 µg/mL y TC: sin eficacia antimicrobiana. Con respecto a los aislados hospitalarios CB: 156,2 µg/mL y CH: 78,2 µg/mL. Después de 60 segundos de exposición al biocida, todos los aislados fueron inhibidos en un 100%, excepto *P. aeruginosa* con triclosan. El análisis de viabilidad bacteriana por citometría de flujo reveló que, mientras el cultivo resultaba negativo, el citómetro detectaba células viables; adicionalmente, se evidenció recuperación celular a partir del cuarto día de seguimiento.

**Conclusiones.** Los métodos convencionales y la citometría de flujo han evidenciado que aislados de *P. aeruginosa* suelen ser más tolerantes a la desinfección. Adicionalmente, la citometría de flujo permite detectar la presencia aislados bacterianos persistentes.

### TLO-69. The surface exposed leptospiral protein LCPA binds multiple complement regulators to overcome host innate immunity

Lidia Dos Santos M.\*, Ludmila Bezerra Da S.\*, Leandro Carvalho Dantas B.\*, Cecilia Mari Abe, Mariana Costa Braga S.\*,  
Ana Maria Moro, Silvio de Arruda V.\*, Mihály Józsi\*

\*Butantan institute Brasil.

**Introduction.** Over the last years functional characterization of some leptospira immune evasion proteins has been reported. Identification of specific host ligands and definition of the mechanisms of complement inactivation have been accomplished for certain leptospiral outer membrane proteins present only in pathogenic species. In a previous work, a 20 kDa surface protein of leptospira which interacts with c4b-binding protein (c4bp), named leptospiral complement regulator-acquiring protein a (LCPA), has been characterized. Given the ability of certain bacterial surface proteins to bind multiple host molecules, the present study assesses binding of LCPA to other human complement regulators.

**Materials and methods.** Binding of LCPA to factor h (Fh) and vitronectin was assessed by ligand affinity blot and surface plasmon resonance. Mapping of the sites involved in the interactions and competitive binding assays were performed by Elisa. Inhibition of c9 polymerization by LCPA was assessed by co-incubating these molecules in the presence of ZnCl<sub>2</sub>.

**Results.** Our data indicate that LCPA interacts with human Fh, which remains functionally active once bound to the protein. Antibodies directed against scr 20 inhibited binding of Fh to LCPA by approximately 90%, thus confirming that this particular domain is involved in the interaction. We have also shown for the first time that leptospires bind human vitronectin, and the interaction is mediated by LCPA. Co-incubation with heparin blocked LCPA/vitronectin interaction in a dose-dependent manner thus indicating that binding occurs through the heparin binding domains of vitronectin. Analysis of the role of LCPA on the terminal pathway by evaluating binding of c7 and c9 to the immobilized recombinant protein showed that both complement molecules bound to LCPA. Moreover, C9 polymerization was impaired in the presence of LCPA. Competitive binding assays indicated that LCPA interacts with c4bp, Fh and vitronectin through distinct sites.

**Conclusions.** Taken together, our findings indicate LCPA may play a role in leptospiral immune evasion.

### TLO-70. Bioinformatic and experimental characterization of the genomic island harboring the genetic determinants for production of the antibacterial peptide microcin E492

Andrés Marcoleta\*, Gonzalo Nuñez\*,  
Octavio Monasterio\*, Rosalba Lagos\*

\*Laboratorio de Biología Estructural y Molecular (BEM),  
Depto. de Biología, Universidad de Chile. Chile.

**Introducción.** Microcin e492 (mcce492) is a peptide produced and secreted by *Klebsiella pneumoniae* ryc492 (kpryc492), which has antibacterial and antitumoral effects, and forms amyloid fibers modulating their activity. Genetic determinants for mcce492 production are encoded in a gene cluster, which has been cloned and studied in *E. coli*. However, genomic context of the cluster in the former strain has not been characterized. Recently, we sequenced the kpryc492 genome showing that mcce492 cluster is allocated in a putative genomic island. The main goal of this work was to characterize this putative genomic island, determining if it is unstable, and characterizing factors that affects their excision from the chromosome.

**Materials and methods.** Sequence analysis was performed to characterize the genetic elements of the island, and to compare the genomic context in related strains of *K. pneumoniae* to identify the probable island edges. Nested PCR was used to detect the excision of the island from the chromosome, and quantitative PCR was used to determine the frequency of this event under different growth conditions.

**Results.** Sequence analysis revealed that mcce492 gene cluster is part of a 23-kbp genomic island inserted in an *asn-trna* gene. The island also contains an integrase-coding gene and several uncharacterized genes. PCR assays showed that this island excises from the chromosome, and the frequency of this event increases upon integrase-gene overexpression and upon addition of the prophage-activation inducer mytomycin-c.

**Conclusions.** mcce492 gene cluster is part of an unstable genomic island that also contains several uncharacterized genes and an integrase-coding gene, which participates in their excision. The excision frequency can be largely increased with the addition of mytomycin-c.

### TLO-71. Identificación molecular de aislados de *Pseudomonas aeruginosa* presentes en infecciones asociadas a la atención en salud de un hospital de alta complejidad de la ciudad de Cali

Mónica Chávez V.\*, Romel Fabián Gómez N.\*, Alfredo Prado D.\*,  
Carlos Mauricio Sepulveda\*, Cristina Eugenia Cabrera A.\*

\*Universidad Libre Seccional Cali, Colombia.

**Introducción.** *Pseudomonas aeruginosa* es un patógeno habitual en las infecciones asociadas a la atención en salud por la facilidad de adquirir resistencia a los antibióticos. En Colombia se reportan cepas resistentes, especialmente a los carbapenemes. El objetivo de este estudio fue caracterizar aislados de *P. aeruginosa* de infecciones adquiridas en la unidad de cuidados intensivos (UCI) de un hospital universitario durante el año 2010.

**Materiales y métodos.** Se recolectaron 24 aislados de muestras de orina, sangre, secreción traqueal, herida quirúrgica, escara y de sonda. La susceptibilidad a los antibióticos fue evaluada por el método de difusión en agar y con los valores de sensibilidad se identificó patrones de resistencia (antibiogramas). La variabilidad de los aislados se realizó mediante el análisis del single strand conformation polymorphism (SSCP) del ADN 16s amplificado por PCR. Para detectar los determinantes de resistencia se amplificaron los genes que codifican para diferentes  $\beta$ -Lactamasas.

**Resultados.** El 62,57% de los aislados presentaron resistencia a los carbapenemes ( $p=0,0833$ ). Seis (40%) de estos aislados se obtuvieron de infecciones urinarias ( $p=0,1703$ ). Se identificaron además, 4 antibiogramas, el antibiograma1 con resistencia a todos los antibióticos se presentó en ocho aislados, el antibiograma2 en siete aislados con sensibilidad a un antibiótico (aztreonam o amikacina). En estos dos antibiogramas se identificó la  $\beta$ -Lactamasa vim-2. Los aislados de los antibiogramas 3 y 4 fueron sensibles a más de 6 antibióticos, y presentaron las  $\beta$ -Lactamasas tem-1 y SHV-1. La  $\beta$ -Lactamasa ctx-m se detectó en dos aislados del antibiograma2 y en un aislado del antibiograma3. Sin embargo, el análisis por SSCP demostró el mismo patrón polimórfico en los aislados.

**Conclusiones.** Varios aislados fueron resistentes a cefalosporinas y carbapenemes, por expresión de los genes de  $\beta$ -Lactamasas, debido a la presión selectiva ejercida por la acción de los antibióticos sin afectar su estructura genética.

### TLO-72. Detección de beta-lactamasas tipo AmpC en aislamientos de *Escherichia coli* de pacientes pediátricos en un hospital de tercer nivel de la ciudad de México

Alejandra Aquino\*, Jocelin Merida\*, Gabriel Martínez\*,  
Loraine Martínez\*, Yair Calderón\*, Patricia Arzate\*, Agustín de Colsa\*

\*Instituto Nacional de Pediatría México.

**Introducción.** La presencia de enzimas tipo AmpC es poco común en aislamientos de *E. coli*. Estas enzimas confieren resistencia a cefalosporinas de tercera generación. Su detección es indispensable para abordar la vigilancia epidemiológica así como los problemas de control de infecciones asociados a este mecanismo de resistencia. El objetivo fue detectar enzimas AmpC del grupo CIT (origen *Citrobacter freundii*) en aislamientos clínicos de *Escherichia coli* de pacientes pediátricos.

**Materiales y métodos.** Se analizaron 211 aislamientos clínicos, no repetidos de *E. coli* de infecciones en pacientes pediátricos en un periodo de 1 año (febrero 2013 - enero 2014). La identificación y perfil de susceptibilidad se realizó con el Sistema Phoenix® BD. Se determinó la presencia de blactC a través de la amplificación por PCR en punto final de un fragmento de 538 pb, que posteriormente fueron secuenciadas y analizadas por alineamientos múltiples; paralelamente se detectó la coexistencia de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) tipo CTX-M, TEM y SHV. Se estableció la relación clonal por electroforesis en gel de campos pulsados (PFGE) con la enzima XBAI.

**Resultados.** El perfil de susceptibilidad de los aislamientos fue el siguiente: ceftriaxona 100%, cefepime 96.7%, Cefotaxima 94.8%, Cefoxitina 13.7%, ninguno de los aislamientos fue resistente a carbapenémicos. El fragmento esperado se detectó en 8 aislamientos. El análisis bioinformático reveló que correspondían al gen BLACMY-2. En siete de estos aislamientos se detectó la BLEE CTX-M-15. El análisis de PFGE no reveló relación clonal entre los diferentes aislamientos.

**Conclusiones.** La prevalencia del gen BLACMY-2 en *E. coli* fue de 3.8%. No se observó relación clonal entre los aislamientos. Los aislamientos pueden codificar para más de una beta-lactamasa como lo reveló la coexistencia del gen BLACTX-M-15. Este es el primer reporte de la presencia de BLACMY-2 en aislamientos de *E. coli* en México.

### TLO-73. Caracterización del proceso inflamatorio inducido por las fimbrias LPF1 y LPF2 de *Escherichia coli* enterohemorrágica en células epiteliales intestinales

Alejandra Vergara\*, Roberto Vidal\*,  
Alfredo Torres\*, Mauricio Farfan\*

\*Centro de estudios moleculares, Depto. de pediatría,  
Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna Chile.

**Introducción.** Las cepas de EHEC son agentes causantes de colitis hemorrágica y el síndrome hemolítico urémico, ambos cuadros asociados a un proceso inflamatorio en células intestinales. Considerando que varios factores de virulencia de EHEC inducen altos niveles de citoquinas proinflamatorias, nuestro grupo ha investigado la participación de la fimbria LPF (long polar fimbriae) en la respuesta inflamatoria inducida por EHEC, encontrando que la ausencia de esta fimbria se asocian a una menor inducción de la secreción y expresión de genes que codifican moléculas proinflamatorias en células intestinales. El objetivo fue evaluar la participación de las fimbrias LPF1 y LPF2 en la respuesta inflamatoria inducida por EHEC.

**Materiales y métodos.** Se evaluó la secreción de IL-8 en células infectadas con la cepa de referencia de EHEC incubadas con antisueros anti-LPFA1 y anti-LPFA2, y células incubadas con extractos fimbriales obtenidos de la cepa silvestre de EHEC y sus mutantes (-LPFA1 Y -LPFA2). Por otra parte, se realizaron ensayos de migración transepitelial de neutrófilos en células infectadas con la cepa silvestre de EHEC y sus mutantes isogénicas. **Resultados.** Nuestros resultados revelan que el bloqueo de las fimbrias provoca una disminución en la secreción de IL-8. Del mismo modo, la inoculación con los extractos fimbriales de las cepas mutantes en LPF muestran una menor inducción de secreción de IL-8 comparada con ex-

tractos de la cepa silvestre. Por otro lado, la migración de PMN se vio disminuida en las células infectadas con las cepas carentes de las fimbrias LPF. **Conclusiones.** Nuestros resultados aportan evidencias sobre la participación de ambas fimbrias LPF en la inducción de respuesta inflamatoria en células intestinales infectadas con EHEC.

#### TLO-74. Caracterización molecular de los primeros aislamientos detectados en Chile de enterobacterias portadora de carbapenemasa (KPC)

Pamela Araya\*, Soledad Prat\*, Ingrid Araya\*, Daniel Ibañez\*, Jaime Lagos\*, Carolina Aguayo\*, Juan Carlos Hormazabal\*, Jorge Fernández\*

\*Instituto de salud pública de Chile.

**Introducción.** La diseminación mundial de enterobacterias productoras de carbapenemasas representa un problema mayor en salud pública. Enterobacterias portadora de KPC ha sido responsable de extensos brotes hospitalarios de dimensiones nacionales e internacionales, tanto en el hemisferio norte como en América Latina. El objetivo fue caracterizar molecularmente aislamientos de enterobacterias portadora de KPC detectados en Chile.

**Materiales y métodos.** Se incluyeron los 26 aislamientos de enterobacterias confirmados por el laboratorio de referencia como portadores de carbapenemasas, provenientes de centros hospitalarios de Chile desde el 2012 a la fecha. Los aislamientos fueron sometidos a confirmación de carbapenemasas por PCR, determinación tipo blaKPC por amplificación y secuenciación, subtipificación por electroforesis de campo pulsado (PFGE) con enzima SPEI y determinación de linaje genético por secuenciación de multilocus (MLST), según protocolo instituto Pasteur, Francia.

**Resultados.** La caracterización permitió confirmar en todas las cepas la presencia de KPC-2. La identificación de linajes por MLST detectó los complejos clonales (CC): CC 29 en 8 cepas con las secuencia tipo ST1161(7 cepas) y ST29 (1 cepa); CC 258 en 8 cepas con las secuencias tipo ST 258 (5 cepas) y ST11 (tres cepas), CC 347 en 2 cepas con ST454 (1 cepa) y ST 13 (1 cepa). La secuencia tipo ST101 (caso importado) y ST 25 sin complejo clonal. La subtipificación por PFGE de *K. pneumoniae*, identificó 15 subtipos distintos, dos cluster que incluyeron las cepas del CC29 y CC258.

**Conclusiones.** Se confirma la presencia de KPC-2 en Chile, con dos cluster de los CC29 y CC258 el cual ha sido reconocido internacionalmente como el mayor responsable de la diseminación mundial de *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa. Otras 6 cepas productoras de KPC sin complejo clonal: *E. coli* (1), *K. oxytoca* (2), *E. cloacae* (1), *S. marcescens* (1), *C. freundii* (1). Financiamiento fondecyt 1130838.

#### TLO-75. Enterobacterias resistentes a carbapenemes: estandarización fenotípica, implementación y confirmación molecular de mecanismos de resistencia en instituto de salud pública de Chile

Soledad Prat\*, Ingrid Araya\*, Daniel Ibañez\*, Pamela Araya\*, Jorge Fernández\*, Juan Carlos Hormazabal\*, Helia Bello\*, Mariana Domínguez\*, Gerardo González-Rocha\*

\*Instituto de Salud Pública de Chile, Chile.

**Introducción.** La resistencia antimicrobiana es un problema de salud pública creciente, incrementado por el constante desarrollo de mecanismos de resistencia, dificultando el tratamiento de infecciones, especialmente en pacientes hospitalizados. En los últimos años la emergencia de enterobacterias resistentes a carbapenémicos ha puesto en alerta a los laboratorios por el desafío diagnóstico que significa detectar estos mecanismos, y a los clínicos por la disminución de tratamientos efectivos. La resistencia a carbapenémicos se debe a la presencia de carbapenemasas u otras beta-lactamasas asociadas con impermeabilidad. Estandarizar en el instituto de salud pública de Chile un método screening fenotípico para serino-carbapenemasas, metalo-beta-lactamasas y carbapenemasas oxa en enterobacterias, para vigilancia de resistencia mediada por carbapenemasas en Chile.

**Materiales y métodos.** Se estudió 2412 cepas de 42 hospitales, clínicas y laboratorios, recibidas desde enero 2012 a la fecha. Se realizó confirmación bioquímica, susceptibilidad por difusión en agar y CIM de acuerdo a CLSI. En cepas con halos disminuidos o CIM elevadas a imipenem y/o meropenem se realizó tests presuntivos para carbapenemasas: test de Hodgen, test de ácido borónico y EDTA. El estudio molecular se realizó por PCR. **Resultados.** 29 cepas (1,2%) fueron carbapenemasa positiva por test

fenotípicos, confirmadas por PCR. 2 cepas de *Klebsiella pneumoniae* presentaron oxa 370, confirmadas por secuenciación; 26 enterobacterias KPC-2 y una NDM-1. Entre las enterobacterias KPC(+) se identificó 20 *K. pneumoniae*, 2 *K. oxytoca*, 1 *Echerichia coli*, 1 *Citrobacter freundii*, 1 *Enterobacter cloacae* y 1 *Serratia marcescens*.

**Conclusiones.** Se estandarizó un método de detección fenotípica y molecular para confirmar carbapenemasas en enterobacterias. Se identificó gran variedad de enterobacterias productoras de carbapenemasas. Este estudio es un aporte hacia los laboratorios del país, ya que permite caracterizar las cepas de enterobacterias derivadas por ellos con un marcador fenotípico específico y conocer los tipos genéticos circulantes con gran importancia epidemiológica. Financiamiento: fondecyt 1130838.

#### TLO-76. Inulin enhances the susceptibility of *Campylobacter jejuni* to bile salts

Patricia Díaz\*, Sandra Ampuero\*, María Teresa Ulloa\*, Qijing Zhang\*, Cecilia Toro\*

\*Universidad de Chile, Chile.

**Introduction.** The regular consumption of dairy products supplemented with inulin has been associated with a decreased risk of campylobacteriosis, a food-borne gastroenteritis caused by *Campylobacter jejuni*. In humans, the disease is characterized by symptoms ranging from a mild, watery diarrhea to a severe, bloody diarrheal illness. Among the pathogenic mechanisms of *Campylobacter*, CmeABC, the major multi-drug efflux pump, is considered an important factor due to its key role in bile resistance and intestinal colonization. To assess whether inulin is capable of modifying the resistance to bile salts in *C. jejuni*, we determined the effect of this prebiotic on campylobacter resistance to bile salts using sodium deoxycholate (DOC), and examined the expression of the CmeABC operon in the presence of doc and inulin.

**Materials and methods.** We determined the effect of inulin on the phenotype of resistance to doc in Chilean strains of *C. jejuni* by the broth microdilution method, and examined the expression of CmeABC in the presence of doc and inulin by the transcriptional fusion pCmeABC-lacZ. In parallel, the expression of CMEa, CMEb and CMEc genes in the presence of doc and inulin was studied by QRT-PCR.

**Results.** It was shown that inulin alone did not modify the bacterial growth when supplemented in the culture medium. However, it decreased campylobacter growth when bile salts were present. We also measured by transcriptional fusion and QRT-PCR the expression of CmeABC in the presence of inulin and doc. Although inulin alone did not affect the expression of CmeABC, it significantly increased doc-mediated induction of CmeABC.

**Conclusions.** These findings suggest that inulin may increase intracellular accumulation of doc and renders campylobacter more susceptible to the inhibitory effect of doc, providing a plausible explanation for the decrease risk of campylobacteriosis by consumption of inulin-supplemented foods.

#### TLO-77. Relação entre a presença do gene blaKPC e perfil de resistência aos carbapenêmicos e em isolados de *Enterobacter aerogenes* e *Enterobacter cloacae* provenientes de Recife-PE, Brasil

Ana Catarina Souza L.\*, Adriane Borges C.\*, Maria Amélia Vieira M.\*, Marcelo Maranhão A.\*, Josineide Ferreira B.\*, Célia Maria Machado B. Castro.\*

\*Universidade Federal de Pernambuco Brasil.

**Introdução.** Dentre os mecanismos de resistência aos carbapenêmicos destaca-se a produção de enzimas KPC, que apresenta rápida disseminação, limitando as opções terapêuticas. Portanto, o objetivo desse trabalho foi determinar e relacionar o perfil de susceptibilidade aos carbapenêmicos com a presença do gene blaKPC em isolados clínicos de *Enterobacter* spp. Provenientes de Recife-PE, Brasil.

**Materiais e métodos.** Foram analisados 51 isolados clínicos (34 isolados de *E. aerogenes* e 17 *E. cloacae*) provenientes de um hospital público de Recife. O perfil de susceptibilidade ao imipenem, meropenem e ertapenem foi determinado pela concentração inibitória mínima e a identificação do gene blaKPC foi realizada por PCR e sequenciamento de DNA.

**Resultados.** Apenas dois isolados de *E. aerogenes* foram sensíveis aos carbapenêmicos testados. Alguns isolados apresentaram disparidades na resistência aos diferentes carbapenêmicos, mostrando que o ertapenem

nem foi o fármaco mais sensível para detectar a resistência a esse grupo de antibióticos. O gene blaKPC foi detectado em 88,2% (30/34) dos isolados de *E. Aerogenes*, sendo que das quatro amostras negativas, duas foram resistentes aos carbapenêmicos, sugerindo a presença de outro mecanismo de resistência. Com relação a *E. cloacae*, apenas um isolado foi resistente aos carbapenêmicos, sendo positivo para o gene blaKPC. Das 16 amostras de *E. cloacae* sensíveis aos carbapenêmicos testados, duas foram positivas para o gene blaKPC, revelando falsa sensibilidade *in vitro*. O sequenciamento de DNA confirmou a variante blaKPC-2 nas duas espécies, sendo a variante mais relatada no Brasil.

**Conclusões.** A resistência aos carbapenêmicos associada ao gene blaKPC-2, principalmente em *E. Aerogenes*, é preocupante uma vez que limita efetivamente as opções terapêuticas. A falsa sensibilidade *in vitro* aos carbapenêmicos apresentada por alguns isolados portadores do gene blaKPC-2 poderia explicar muitos episódios de insucesso no tratamento de infecções hospitalares.

### TLO-78. Development and characterization of recombinant antibody fragments that bind to B subunit of STX2 toxin from shiga toxin-producing *Escherichia coli*

Daniela Eleuterio Da Luz\*, Gang Cheng\*, Andrea Queiroz M.\*, Letícia Barboza R.\*, Sachdev Sidhu\*, Roxane Maria Fontes P.\*

\*Instituto Butantan Brasil.

**Introduction.** STX toxin is a member of the AB5 family of bacterial toxins: the effective a subunit has n-glycosidase activity against 28S rRNA, resulting in inhibition of protein synthesis in eukaryotic cells, and the pentamer ligand B subunits (STXB) bind to globotriaosylceramide receptors (GB3) on the cell membrane. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains (STEC) may produce STX1 and/or STX2 and variants. STX2 is considered more virulent and epidemiologically more relevant than STX1, and it is usually associated with hemolytic-uremic syndrome in humans. The development of tools for the detection and/or neutralization of these toxins is a turning point for early diagnosis and therapeutics. Antibodies are an excellent paradigm for the design of high-affinity, protein-based binding reagents used for different purposes.

**Materials and methods.** In this work, we developed two recombinant antibodies; SCFV fragments from mouse hybridomas and Fab fragments by phage display technology using a semi-synthetic human library.

**Results.** Both fragments showed high binding affinity to STX2, and they were able to bind specifically to the glycosylated region of the STX2 B subunit and neutralize the cytotoxicity of the toxin up to 80%. The SCFV fragment showed 79% sensitivity and 100% specificity in detecting STEC strains by Elisa.

**Conclusions.** Thus, the two fragment types obtained here are promising tools to be used for both diagnosis and therapeutic approaches, aimed at solving important problems caused by this pathogen.

### TLO-79. Bacteriófagos en agua de mar y en posas de tratamiento de aguas residuales

Gisela F. Yupanqui Siccha\*, Dors E. Yupanqui de Torres\*, María Sutta M.\*, Miriam Danitza More Y.\*

\*Universidad Nacional Federico Villareal, Perú.

**Introducción.** En los ecosistemas acuáticos se encuentran cantidades variables de virus, constituyendo uno de los componentes de la comunidad planctónica microbiana, representando un excelente mecanismo de control de bacterias marinas así como en la auto depuración biológica en aguas residuales ante bacterias infecto contagiosas para los seres vivos. El objetivo fue recuperar bacteriófagos en aguas de mar y de aguas residuales incluyendo bacterias aerobias y anaerobias.

**Materiales y métodos.** Las muestras se tomaron de cuatro puntos de agua de mar de la ciudad de Lima-Perú y dos muestras de posas de tratamiento de aguas residuales, los meses de abril y mayo. Usamos el método de Adams modificado para aislar bacteriófagos de: *Escherichia coli*, *Salmonella thyphi*, *Estafilococos aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Porphyromona spp.* y *Veillonella*. Para enriquecer el crecimiento microbiano usamos los medios selectivos para cada uno de ellos y para visualizar las placas líticas se incubó en jarra gaspack para anaerobios.

**Resultados.** De las cuatro muestras de agua de mar solo se visualizaron placas líticas para *E. coli* y en una de ellas también para *E. aureus*. De las muestras de tratamiento de aguas residuales; en muestras de la posa anaerobia solo

visualizamos placas líticas para *Porphyromona* y *Enterococcus*. En la posa aerobia si encontramos para *E. coli*, *Salmonella*, *E. aureus* y *Enterococcus*.

**Conclusiones.** La presencia de placas líticas o calvas en muestras de aguas de mar como de las de tratamiento de aguas residuales nos indica la presencia de diversidad de virus bacterianos para cada ecosistema incluyendo a bacterias anaerobias con diverso metabolismo microbiano. El usar medios de cultivo específicos ayudo a enriquecer el crecimiento de los fagos.

### TLO-80. Clon infeccioso del virus dengue e imagenología de las células vivas

José Aldemar Usme-Ciro\*, Isabel Cristina Rodríguez-Rodríguez\*, Hamlet Acevedo-Ospina\*, Leandro Ariza-Jiménez\*, Juan Pablo Franco-Salazar\*, Diego Alejandro Álvarez-Díaz\*, Elizabeth Orozco-García\*, Grace Paola Carre\*, Juan Carlos Gallego-Gómez\*

\*Grupo de Medicina Molecular y de Translación, Instituto de Investigaciones Médicas, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Colombia.

**Introducción.** Nuestra investigación del pasado decenio, contempla varios tópicos, como epidemiología molecular y filogenética del DENV (DENV, dengue virus), hasta estudios celulares-moleculares para blancos terapéuticos como antivirales (lovastatina y curcumina) y herramientas de diagnóstico/pronóstico. Obtener clon infeccioso DENV recombinante con GFP y luciferasa, para rastrear candidatos antivirales en células vivas infectadas (live cell imaging, LCI), que expresen compartimentos celulares fluorescentes.

**Materiales y métodos.** Clonación secuencial de PCRs solapantes en vector PBAC (Bacterial Artificial Chromosome). Sobrenadantes de células vero post-transfección con clones infecciosos, usados para transducir células c6/36. Detección específica del DENV producto del rescate a partir del clon, por microscopía confocal, RT-QPCR y análisis fenotípico de placas de lisis y sincitios en células vero y c6/36. LCI requiere células estables expresando distintos compartimentos celulares fluorescentes, esenciales para seguir la infección en células vivas.

**Resultados.** Se obtuvieron clones infecciosos (forman focos infecciosos, producen genomas), pero hubo dificultades por ausencia de señal de encapsidación (CCR1), que estamos corrigiendo. No hay problemas de replicación, ni síntesis de poliproteína, sino en el ensamblaje de viriones maduros, además por la fusión con GFP-luciferasa. Se obtuvieron líneas celulares estables para mitocondrias, RER y GOLGI. La infección con DENV sobre las células estables de mitocondrias fluorescentes rojas (MKATE), muestran un patrón alterado en la distribución celular, que se relaciona con la infección, evidenciado por algoritmos matemáticos.

**Conclusiones.** Obtener de clones infecciosos recombinantes (GFP-luciferasa) del DENV y líneas estables fluorescentes, aunque implican dificultad es una importante herramienta, para estudios moleculares/celulares sobre replicación, ensamblaje, patogénesis viral y evaluación de antivirales. La implementación de la plataforma LCI, con las líneas y los clones infecciosos recombinantes, serán usados en biología celular computacional, para caracterizar patrones subcelulares alterados en decisiones celulares tras la infección, así como posibles mecanismos de acción antiviral, para candidatos terapéuticos. Agradecimientos a Colciencias 111554531592.

### TLO-82. Establecimiento de un algoritmo de laboratorio para la confirmación de casos de dengue en muestras de individuos con síndrome febril atendidos en el Hospital Universitario de la Samaritana – Unidad Funcional Girardot

Carolina Coronel-Ruiz\*, Eliana Calvo\*, María Angélica Calderón\*, Nadia Castañeda\*, Sigrid Camacho\*, Shirley Parra\*, Rosalía Pérez\*, Fabián Cortés M.\*, Saúl Moreno\*, Janeth Carrillo\*, Myriam Velandía\*, Jaime Castellanos\*

\*Universidad El Bosque Colombia.

**Introducción.** El diagnóstico clínico del dengue en los primeros días de enfermedad es complejo, debido a que los síntomas iniciales son inespecíficos. Actualmente el diagnóstico se basa en la detección de IGM; sin embargo, éste no se realiza oportunamente, conduciendo al desarrollo de complicaciones o un tratamiento inadecuado. Establecer un algoritmo de laboratorio para la confirmación de casos de dengue en muestras de individuos con síndrome febril atendidos en el hospital universitario de la Samaritana- unidad funcional Girardot.

**Materiales y métodos.** El estudio se realizó en Girardot (Cundinamarca). Se analizaron 152 muestras de individuos con síndrome febril me-

nor a 7 días que consultaron al servicio de urgencias entre marzo a junio de 2014. El paciente que aceptó participar, firmó el consentimiento informado, se realizó el examen clínico, se registró la información, se solicitó la toma de una muestra de sangre para el hemograma y las pruebas de diagnóstico: dengue duo cassette, dengue early rapid, RT-PCR, Elisa IGM e IGG, Elisa para detección de ns1.

**Resultados.** El porcentaje de hombres y mujeres que participaron en el estudio fue de 52.98% y 47.02%. En el examen clínico se encontró: deshidratación(12.16%), Dolor a la palpación abdominal (33.33%), Hepatomegalia(6.16%) y ascitis(2.76%). El porcentaje de muestras positivas encontrado fue: IGM (56.67%), IGG captura (41.89%), IGG indirecta (82.55%). El 65.56% De las muestras fueron positivas por RT-PCR (n=99), y se identificaron los serotipos: DENV-2 (n=77), DENV-1 (n=9), DENV-3 (n=5) y DENV-4 (n=2), y coinfecciones entre DENV-1/denv-2 (n=4), DENV-2/DENV-3 (n=1), DENV-3/DENV-4 (n=1). El 11.18% de las infecciones fueron primarias y el 56.58% secundarias.

**Conclusiones.** La aplicación simultánea de las pruebas de diagnóstico de dengue incrementa el porcentaje de confirmación de los casos. El porcentaje de muestras positivas para IGG sugiere que los individuos han estado expuestos a dengue, aumentando el riesgo de presentar infección por un serotipo diferente del virus.

### TLO-83. Evaluation of phage activity in biofilm formed by *Trueperella pyogenes*

Vinicius Da Silva Duarte\*, Roberto Sousa Dió\*, Jonas Silva Teixeira\*, Cynthia Canêdo Da Silva\*, Hilário Cuquetto Mantovani\*, Sérgio Oliveira de Paula\*

\*Universidade Federal de Viçosa Brasil.

**Introduction.** The reproductive status of dairy cows is a major concern in livestock due infectious diseases such as metritis and endometritis, mainly caused by *Trueperella pyogenes*, a Gram positive bacterium with a broad range of virulence factors capable of cause persistent infection in the uterus, leading to economic losses in different forms. The use of antibiotics remains the treatment of choice in the control of these diseases, but their widespread use afforded the appearance of drug-resistant pathogens. Thus, the use of bacterial viruses (phage therapy) appears as a non-toxic, natural alternative and economically viable for the control of these microorganisms. In this study, we have isolated and characterized three bacteriophages which reduce the number of viable cells of two strains of *T. pyogenes* (3933 and 3934) and prevent the biofilm formation.

**Materials and methods.** Biofilm quantification was performed in microtiter plates and the moi's (multiplicity of infection) ranging between 0.1 And 0.00001. After incubation at 37°C for 24 h, bacterial population was measured (d.O600) and biofilm quantified by crystal violet (cv) method. The groups were compared statistically by anova. To characterize and evaluate the viral effect in the biofilm prevention mbec device was used and analyzed by scanning electron microscopy. The pins were fixed in 2.5% Glutaraldehyde in pbs buffer and dehydrated in graded series of ethanol, followed by drying of the material and examination.

**Results.** There was a reduction in the number of viable cells (range between 3 and 17%), reflected directly in biofilm formation (reduction between 42 and 63%). Microscopic analysis revealed disintegration of the biofilm matrix, presence of vacuoles and growth restricted to the interface liquid-air.

**Conclusions.** We conclude that viral activity against *T. pyogenes* was effective and should be evaluated *in vivo*, whereas chronic infections are associated with biofilm-forming bacteria in several chronic diseases refractory to antibiotics.

### TLO-84. Targeting inorganic polyphosphate synthesis as anti-virulence strategy against *Pseudomonas aeruginosa* PAO1: validating polyphosphate kinase 1 (PPK1) putative inhibitors in the social amoeba *Dictyostelium discoideum*

\*Catalina Bravo-Toncio, \*Macarena Varas, Javiera Ortiz-Severín, Carlos A. Lagos, Francisco P. Chávez\*

\*Universidad de Chile, Chile.

**Introduction.** Inorganic polyphosphate metabolism affects various cellular processes such as bacterial virulence and susceptibility

toward antibiotics. *D. Discoideum* is a social amoeba that naturally feeds on bacteria by phagocytosis and its growth and development is affected when facing pathogenic microorganism. *D. discoideum* possesses a homolog of bacterial PPK1 (DDPPK1). Interestingly, mutants of DDPPK1 are deficient in development, predation and sporulation. Considering the increase of bacterial persistence and resistance to several antibiotics is important to develop novel antimicrobial strategies. Our approach considers molecules that 1) do not kill the bacterial pathogen, 2) avoid affecting the host or its beneficial bacteria and 3) disrupt the production of virulence factors that damage the host. For these purpose we developed a high-throughput *in vivo* virulence assay in *D. discoideum* for searching anti-virulence molecules for *P. aeruginosa*.

**Materials and methods.** Wild type and PPK1 mutant strains of *P. aeruginosa* PAO1 were used to feed *D. Discoideum* axenic strain AX4 in multi-well plates containing N agar. Growth and development of the amoeba was monitored for 10 days in the presence or absence of putative anti-virulence molecules that were designed to inhibit *P. aeruginosa* PPK1 enzyme.

**Results.** In certain conditions, unlike the wild type strain of *P. aeruginosa* PAO1, the PPK1 mutant was efficiently phagocytosed and allowed the social development of *D. discoideum*. Finally, using wild-type *P. aeruginosa* PAO1 in the amoeba virulence assays, we have selected the top 5 molecules that meet all three requirements described above.

**Conclusions.** We have developed a simple high-throughput strategy using *D. discoideum* as a host model to evaluate the effect of putative PPK1 inhibitors as novel anti-virulence molecules. This highlight the fact that polyp synthesis is a good target for the design of anti-virulence molecules and that *D. discoideum* is an effective host model for the *in vivo* screening of novel antimicrobial agents.

### TLO-85. Expresión heteróloga de 5 esterasas secretadas por el hongo saprófito *Penicillium purpurogenum* durante la degradación de coseta de remolacha

Gabriela Oleas\*, Eduardo Callegari\*, Jaime Eyzaguirre\*

\*Universidad Andrés Bello Chile.

**Introducción.** *Penicillium purpurogenum* es un hongo saprófito que crece con diferentes fuentes de carbono, como la coseta de remolacha (SBP), un subproducto de la obtención del azúcar de remolacha, cuya composición y proceso de degradación son poco conocidos. El objetivo fue expresar heterológamente 5 esterasas secretadas por *Penicillium purpurogenum* durante la degradación de SBP, enzimas estudiadas por primera vez en esta investigación.

**Materiales y métodos.** Se creció *Penicillium purpurogenum* en medio mandels con 1% de SBP. El sobrenadante se cargó en zimogramas. Las bandas activas ante MUA (Metil Umbeliferil Atetato) se analizaron por espectrometría de masas. Con los péptidos resultantes se predijeron 5 posibles esterasas: 2 feruloil esterasas (FAEA y FAET), 1 colinesterasa (EAN), 1 pectina esterasa (PE) y 1 ramnogalacturonano esterasa (RAE). Las secuencias codificantes de estas esterasas se amplificaron y clonaron en PPICZB. Con los plásmidos se transformó *Pichia pastoris*.

**Resultados.** Los sobrenadantes obtenidos mostraron que: FAEA, FAET y EAN son activas ante MUA y PNP-acetato. Además, FAEA es activa ante fluoresceína diacetato (FDA). FAEA y FAET son más activas ante pnp-ferulato, confirmándose su función feruloil esterásica. EAN también es activa ante indoxil acetato (sustrato característico de colinesterasas). PE sólo es positivo al ensayo de rojo rutenio, confirmándose su actividad pectina metil-esterásica. RAE es activa ante MUA, FDA y PNP-acetato, confirmándose su actividad acetil esterásica. Los aminoácidos característicos de las ramnogalacturonano-acetil esterasas fueron identificados bioinformáticamente en RAE. Blast demostró que aunque existen anotaciones similares a estas esterasas, ninguno de los primeros "hits" corresponde a enzimas caracterizadas.

**Conclusiones.** Estas enzimas son esterasas activas ante diversos sustratos e interesantes debido a su novedad y al posible efecto de complementación que existiría entre ellas durante la degradación de SBP.



### TLO-86. Moléculas secretadas por *Pseudallescheria boydii*: detección, antigenicidad e efectos na biología de células hospedeiras

Ana Carolina Aor\*, Thaís Pereira de M.\*, Fernanda Lopes F.\*, Viviane de Oliveira Freitas L.\*, Maria Teresa Villela R.\*, Bianca Alcântara da S.\*, Marta Helena Branquinho de Sá\*, André Luis Souza\*

\*Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) - Rio de Janeiro, Brasil.

**Introdução.** O fungo *Pseudallescheria Boydii* emergiu como importante causador de doenças, sobretudo em indivíduos imunocomprometidos. Apesar do crescente número de pseudallescheriose, pouco se sabe sobre sua patogênese. O objetivo foi detectar proteínas antigênicas secretadas pelo micélio de *P. boydii* e avaliar efeitos causados pelo sobrenadante fúngico na biologia de células a549 e na interação entre conídios e células desta linhagem.

**Materiais e métodos.** Obtivemos o soro anti-moléculas secretadas e sua reatividade foi testada por Elisa. Proteínas antigênicas foram detectadas por western blotting e localizadas no micélio por imunocitoquímica. A citotoxicidade do sobrenadante foi testada por incorporação de vermelho neutro e as alterações morfológicas observadas por microscopia eletrônica. Verificamos a presença de danos na membrana celular por incorporação de pi, alterações no metabolismo mitocondrial por mtt e analisamos morte celular por anexina v e tunel. O índice de associação da interação foi determinado por contagem de lâminas coradas e as imagens obtidas por microscopia óptica e eletrônica.

**Resultados.** O soro reagiu com o sobrenadante e detectou proteínas antigênicas. Moléculas antigênicas foram localizadas próximas à membrana plasmática e na parede celular do micélio. Em paralelo, verificamos que o sobrenadante de *p. boydii* foi tóxico para as células a549, ocasionando alterações ultraestruturais como acúmulo de vacúolos intracelulares e inchaço mitocondrial, danos na membrana plasmática, redução do metabolismo mitocondrial e morte celular por apoptose. Os conídios foram capazes de aderir às células a549 e essa associação foi diminuída quando pré-tratados com anti-moléculas secretadas, bem como quando as células foram tratadas previamente com as moléculas secretadas.

**Conclusões.** Os resultados demonstraram que o micélio de *p. boydii* secreta diversas moléculas antigênicas e que o sobrenadante induz alterações morfológicas e bioquímicas nas células, bem como influencia na interação de conídios com células hospedeiras.

### TLO-87. La infección de *Ustilago maydis* en un huésped natural y otro experimental revela aspectos importantes de la interacción huésped-patógeno

Domingo Martínez S.\*, Fernando Emilio Pérez G.\*, José Ruiz H.\*

\*Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Irapuato, México.

**Introducción.** Se ha descrito que solo cepas diploides o dicarióticas de *Ustilago maydis* infectan al maíz y el teozintle. Nosotros describimos que bajo condiciones axénicas, cepas diploides y haploides del hongo eran capaces de infectar especies filogenéticamente distantes al maíz, incluyendo arabisopsis thaliana. Así establecimos el patosistema *U. maydis-a*. Thaliana para estudiar los mecanismos patogénicos del hongo. Nosotros analizamos la regulación de la infección de arabisopsis por cepas haploides de ustilago, y determinamos si infectaban al maíz bajo condiciones axénicas. Igualmente procedimos a determinar si arabisopsis crecido en suelo no estéril era igualmente sensibles a la infección que el crecido axénicamente.

**Materiales y métodos.** Procedimos a infectar *U. maydis* en maíz desarrollado axénicamente, y arabisopsis crecido en suelo no estéril. Se cuantificaron los síntomas de la infección: clorosis, antocianinas, necrosis, y en maíz formación de tumores. Adicionalmente se midió la formación de especies reactivas de oxígeno (ros), ácidos jasmónico y salicílico, y etileno.

**Resultados.** Las plantas de maíz crecidas en suelo eran ligeramente sensibles a la infección por cepas haploides, pero más cuando se crecían axénicamente. También arabisopsis crecido en suelo era menos sensible a la infección que crecido axénicamente. Se observó que cepas haploides de *u. maydis* se comportaban agresivamente en maíz crecido axénicamente y como patógenos necrotrofos en arabisopsis, en con-

traste con las diploides que al igual que en maíz eran parásitos biotróficos. Arabidopsis y maíz respondieron a la infección por ustilago con producción de ros, fitohormonas y muerte celular.

**Conclusiones.** Se concluyó que la menor susceptibilidad de maíz y arabisopsis crecidos en suelo, se debe a que adquieren mecanismos generales de resistencia a patógenos. La diferente virulencia dependiente de la ploidía se debe a la regulación ejercida por el heterodímero be/bw, como lo demuestran nuestros resultados de análisis transcriptómicos.

### TLO-88. Validación *in vitro* del modelo de patogénesis de *Fusarium oxysporum* en larvas *Galleria mellonella*

Amalia Muñoz-Gómez\*, Diego F. Chávez-Henao\*, Mauricio Corredor\*, Carlos Peláez\*

\*Grupo genética y bioquímica de microorganismos (gebiomic), Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia Colombia.

**Introducción.** Una limitación en el estudio de la patogénesis de *Fusarium* es la disponibilidad de hospederos apropiados para investigar la virulencia del hongo. Varios modelos de ratón han sido desarrollados para *Fusarium*, sin embargo, las cuestiones éticas y los costos pueden impedir su uso en el laboratorio. Como alternativa se pueden utilizar larvas del lepidóptero *Galleria mellonella* como hospederos, ya que este ha servido como modelo para otros hongos de importancia clínica. Es de resaltar que los factores de virulencia para infectar mamíferos son los mismos que para infectar *G. mellonella*. El objetivo fue validar el modelo de inhibición de crecimiento *in vitro* del hongo patógeno *Fusarium oxysporum* en hemolinfa de *G. mellonella* a 37°C.

**Materiales y métodos.** Las larvas de *G. mellonella* se retaron con inyecciones de 104 y 106 conidias/mL del hongo *F. oxysporum*, y se incubaron durante 48 h a 37°C. Se extrajeron hemolinfas de larvas sobrevivientes y posteriormente se incorporaron a medio PDA para cultivo de hongos inoculado con *F. oxysporum*. Se evaluó la capacidad de la hemolinfa de inhibir el crecimiento del hongo mediante un análisis de varianza de una vía.

**Resultados.** La hemolinfa *G. mellonella*, inmunizada por reto fúngico, produce inhibición *in vitro* del crecimiento de *F. oxysporum* en medio pda. El control (control positivo) mostró valores promedio de crecimiento elevados, lo que se esperaba pues el hongo no tiene ningún agente antimicrobiano que lo haya inhibido, contrario al fluconazol (control negativo) el cual creció muy poco por efecto del antimicótico. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los promedios de crecimiento de todas las tratamientos (controles positivo, negativo, y hemolinfas retadas).

**Conclusiones.** Las hemolinfas retadas inhibieron el crecimiento del hongo, indicando que los lípidos y proteínas, principales constituyentes de la hemolinfa inmunizada, continúan activos *in vitro*, impidiendo el crecimiento normal del hongo.

### TLO-89. Desenvolvimento de um imunosensor em fibra óptica plástica para a detecção rápida de microrganismos patogênicos em água de consumo

Rafaela Nascimento L.\*, Vanessa de Moura Q.\*, Domingos Marceles Carias R.\*, Regina Célia da Silva Barros A.\*, Marcelo Martins W.\*

\*Fundação Coordenação de Projetos, Pesquisas e Estudos Tecnológicos - Coppetec Brasil.

**Introdução.** As doenças veiculadas pela água são tipicamente causadas por patógenos entéricos como a *Escherichia coli*, podendo provocar infecções intestinais e extra-intestinais. Um dos grupos responsável por infecções intestinais são conhecidas como *E. coli* enteropatogênica (EPEC). Devido a necessidade de diagnóstico rápido, tem-se buscado novas metodologias que possibilitem isolar e também cultivar essas bactérias em menos tempo, a fim de otimizar o tempo na identificação e nos resultados de exames clínicos. O objetivo do estudo é aprimorar o desenvolvimento de um imunosensor, baseado na técnica de captura (antígeno/anticorpo), utilizando fibra óptica plástica (POF) de metacrilato de polimetila (PMMA) capaz de detectar a presença de *E. coli* de forma rápida e específica.

**Materiais e métodos.** Inicialmente, realizou-se a etapa de limpeza e tratamento químico da superfície plástica da fibra utilizando álcool isopropílico, hexametilenodiamina e glutaraldeído a 2,5%. Para a imo-

bilização do anticorpo, as fibras foram incubadas em diferentes etapas com proteína a, bsa 0,1% e anticorpos específicos para *E. coli*. A leitura do imunossensor é realizada através de um sistema optoeletrônico e um computador para a aquisição de dados.

**Resultados.** A utilização de um imunossensor baseado na técnica de fibra óptica, foi capaz de detectar a presença da bactéria *Escherichia coli* enteropatogênica em água de consumo a partir das suspensões de concentrações mínimas distintas (108, 106 e 104 cfu/mL), em menos de trinta minutos.

**Conclusões.** Utilizando suspensões bacterianas de concentrações distintas, as bactérias que tem afinidade com os anticorpos específicos são capturadas. Algumas diferentes formas geométricas dos sensores a POF foram testadas, e escolheu-se a que obteve maior sensibilidade de detecção.

### TLO-90. QPCR array to evaluate the immune response of macrophages infected with *Ureaplasma diversum*

Izadora Souza R.\*, Guilherme Barreto C.\*, Maysa Santos B.\*, Hellen Braga M.\*, Jorge Timenetsky\*, Lucas Miranda M.\*

\*Universidade de São Paulo Brasil.

**Introduction.** The agro-industry is important for Brazilian economy. The infectious disease in cattle interferes the fertility and birth of animals increasing costs and losses. *Ureaplasma diversum* is a microbe included as a causative agent for bovine urogenital disorders. During such infections, there is activation of the innate immune response of phagocytic cells and production of cytokines. The bovine response to infections may activate inflammassomes that trigger the maturation of pro-inflammatory cytokines. Macrophages help the host protecting against invaders. The aim of this study is to evaluate the macrophages response after inoculation of viable and non viable ureaplasma diversum isolates and ATCC 49782 strain.

**Materials and methods.** Macrophages j774 were previously cultured and infected with ureaplasma diversum. After 24 h of infection the supernatants of macrophages were measure for cytokines, the macrophages for expression of toll like receptors (TLR) genes and pathways inflammassome genes by QPCR array.

**Results.** The expression of inflammatory markers showed that relevant genes for the inflammatory cascade such as il6 gene, interferon regulatory genes, nod-like receptors family gene and prostaglandin endoperoxide genes had an overexpression compared to uninfected macrophages. The Elisa methodology showed a high levels of IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 (pro-inflammatory) and a low levels of il-10 (regulatory), in agreement with results of QPCR array. There were no significant differences in cytokine profiles with viable and non-viable microorganisms. This suggests that the surface components of *U. diversum* trigger the inflammatory response of studied macrophages. The tlr2 was more expressive than other tlr.

**Conclusions.** The inflammatory activation could be related to bacterial pamps. Mollicutes possess a large number of lipoproteins, termed lipid-associated membrane proteins (lamps). However, ureaplasma diversum lipoproteins has not yet been characterized.

### TLO-91. Detección de potenciales inhibidores de quinasas en *Leishmania* spp. A través de herramientas de inteligencia artificial y acoplamiento estructural

Rodrigo Alonso Ochoa D.\*, Carlos Enrique Muskus L.\*

\*Universidad de Antioquia, Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales-PECET Colombia.

**Introducción.** La *Leishmaniasis* es una enfermedad tropical presente en 99 países, y actualmente su tratamiento presenta diversos inconvenientes. Una estrategia para solucionarlos ha sido a través de la identificación de inhibidores de blancos promisorios como las quinasas, las cuales son proteínas esenciales en diversos procesos moleculares del parásito. En este trabajo se utilizó información reportada de interacciones entre compuestos y quinasas, con el fin de diseñar y ejecutar modelos y simulaciones computacionales capaces de inferir potenciales compuestos leishmanicidas.

**Materiales y métodos.** A partir de tres bases de datos: drugbank, TTD y ChEMBL, se recopiló información acerca de la bioactividad de medica-

mentos y compuestos sobre diferentes quinasas humanas y de otras especies. Posteriormente se construyó un modelo de aprendizaje, el cual fue entrenado por medio de patrones extraídos de cada proteína analizada. Las predicciones permitieron inferir potenciales quinasas blanco en leishmania, las cuales fueron sometidas a filtros adicionales basados en búsqueda de ortólogos en el hospedero y criterios de esencialidad. Finalmente se modelaron las estructuras tridimensionales de algunas de las quinasas detectadas para someterlas a simulaciones de acoplamiento estructural contra una librería de compuestos, que por sus propiedades fisicoquímicas pueden llegar a utilizarse como medicamentos anti-leishmania.

**Resultados.** Inicialmente se lograron detectar 8 potenciales quinasas blanco en diferentes especies de leishmania, donde se destacan algunas MAP quinasas, casein quinasas, y otras enzimas específicas del parásito. Luego para 4 quinasas que fueron modeladas satisfactoriamente, se predijeron 10 compuestos por proteína, que por su afinidad teórica podrían usarse como leishmanicidas. Finalmente para el modelo de predicción de blancos, se diseñó una herramienta web que ejecuta la metodología planteada tanto para especies de leishmania, como para cualquier otro organismo patógeno que tenga sus enzimas quinasas secuenciadas.

**Conclusiones.** Este estudio demuestra la aplicabilidad de nuevas herramientas computacionales para la búsqueda de alternativas terapéuticas en enfermedades olvidadas como la *Leishmaniasis*.

### TLO-92. Molecular epidemiology of two human oral Chagas disease outbreaks in Colombia

Carolina Hernández\*, Cielo León\*, Mauricio Vera\*, Zulma Cucunuba\*, Carolina Flórez\*, Martha Ayala\*, Omar Cantillo\*, Sussane Ardila\*, Patricia Fuya\*, Marleny Montilla\*

Universidad del Rosario, Colombia.

**Introduction.** Orally transmitted Chagas disease has been widely informed in Latin America. In Colombia, there have been reported six human oral outbreaks representing a new epidemiological scenario. *Trypanosoma cruzi* presents significant genetic variability revealed by six discrete typing units (TCI-TCVI).

**Materials and methods.** We obtained geb samples of symptomatic patients (33), contacts (11), post-mortem tissues (1 patient), reservoirs (37) and vectors (12) involved in two Chagas disease outbreaks of possible oral transmission that were presented between february and april of 2014 in the orinoquian region (Meta and Casanare departments). The diagnosis was performed by direct parasitological methods, QPCR, conventional PCR, conventional serology and typing using SL-IR, the 24S $\alpha$  and 18S regions.

**Results.** In symptomatic patients, direct parasitological methods were positive in 40%, hemoculture in 12%, conventional serology in 84% and QPCR was positive in 80% of patients with parasitic loads ranging from 1,7 to 21,3 equiv. Parasites/mL. The DTUS detected in these patients were tcisylvatic-like. The 54.5% Of reservoirs were positive by QPCR and infected with tcisylvatic, TCIII and TCIV. Finally, the vectors collected were rhodnius pictipes and pastrongylus geniculatus that were positive. **Conclusions.** Our results evidenced the incrimination of sylvatic populations of *T. cruzi* associated with sylvatic vectors in these possible oral outbreaks. These findings evidenced the need to implement new initiatives of control and prevention to face new transmission scenarios of Chagas disease.

### TLO-93. Microfilarias: *Mansonella Ozzardi* en muestras de sangre de pobladores de localidades periféricas de Iquitos, en imágenes en 3D en videos

Rito Zerpa Larrauri\*, Alberto Chuquicaña\*

\*Instituto Nacional de Salud del Niño / Hospital Regional de Iquitos, Perú.

**Introducción.** Existen escasos reportes sobre microfilarias en el Perú así como imágenes en 3D en videos. El objetivo fue presentar imágenes de microfilarias: *Mansonella ozzardi* en imágenes en 3D en videos, en muestras de sangre de pobladores de localidades periféricas de Iquitos, Perú.

**Materiales y métodos.** Se trabajó con muestras de sangre de pobladores de localidades periféricas de Iquitos que llegaron para el diagnóstico de laboratorio al hospital regional de Iquitos, en el 2006. Se realizó el examen microscópico directo en montaje húmedo de muestras de

sangre con EDTA, registrándose las imágenes de microfilarias en 3D y en videos.

**Resultados.** Al examen directo de las muestras de sangre en montaje húmedo, se observaron microfilarias móviles entre los hematíes, grabados en imágenes en 3D que se identificaron como *Mansonella ozzardi*.

**Conclusiones.** Se reporta el hallazgo de microfilarias: *Mansonella ozzardi*, en imágenes en 3D en muestras de sangre de pobladores de la selva peruana.

### TLO-94. Genómica comparativa revela la circulación de variantes de *Salmonella enterica*, *Serovar enteritidis* y *Typhimurium* asociadas a diferentes períodos epidemiológicos en Uruguay

Laura Betancor\*, Bruno D'alexandro\*, Victoria Pérez\*, Aracé Martínez\*, Lucía Yim\*, Andrés Iriarte\*, Alejandro Chabalgoity\*

\*Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, Universidad de la República Uruguay,

**Introducción.** En Uruguay, *Salmonella enterica* representa la principal causa de enfermedad transmitida por alimentos, siendo *enteritidis* y *Typhimurium* los serotipos predominantes. *Typhimurium* prevaleció hasta 1995, cuando se registró el primer brote por enteritidis, dando lugar a un período epidémico por este serovar que superó a todos los demás serotipos circulantes entre 1995 y 2004. Desde 2005 en adelante, se registra un nuevo incremento de los aislamientos del *Serovar typhimurium*. Nos planteamos analizar la circulación de grupos genéticos de estos dos serotipos a lo largo del tiempo, basándonos en el análisis de snps de genomas completos.

**Materiales y métodos.** Seleccionamos 43 cepas del *Serovar typhimurium* y 56 enteritidis aisladas entre 1976 y 2013, de manera de representar diferentes orígenes y períodos. Los genomas fueron secuenciados utilizando illumina, ensamblados utilizando spades y utilizados para realizar análisis filogenético basado en SNPS (<https://cge.Cbs.Dtu.Dk/services/csiphylogeny/>).

**Resultados.** Dentro del *Serovar typhimurium* se encontraron dos grupos genéticos, uno que se mantiene en el tiempo y otro que disminuye a partir del período de prevalencia de enteritidis para volver a aumentar luego de 2005. Dentro del *Serovar enteritidis* se definieron 3 grupos, uno de los cuales desaparece antes del período epidémico, un segundo grupo que circuló en baja prevalencia y aumentó en frecuencia en el período post-epidémico, mientras que un tercer grupo aparece al comienzo de la epidemia y se mantiene circulando hasta la actualidad. En el período actual, co-circulan 2 grupos genéticos de cada uno de los serotipos. Un análisis detallado muestra la circulación de distintas variantes que agrupan cepas de origen humano y alimentario y/o que se asocian a ciertos períodos.

**Conclusiones.** La epidemia de *enteritidis* coincide con la circulación de dos linajes, pero solo uno de ellos sería responsable de la diseminación epidémica de este serovar. Ciertos subgrupos genéticos pueden corresponder a variantes asociadas a períodos epidemiológicos.

### TLO-95. High prevalence of HBV/A1 subgenotype reveals differential population dynamics in native South Americans

Bibiane Armiliato de G.\*, Michele Soares Gomes-Gouvêa, Mónica Viviana Alvarado-Mora, João Renato Rebello P.\*, Francisco Mauro S.\*, Nelson Jurandi Rosa F.\*

\*Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) Brasil.

**Introduction.** Hepatitis B Virus (HBV) is a DNA virus that presents a partially double-stranded circular genome. Based on sequence divergence of the complete genome, ten HBV genotypes (A-J) have been described, F and H being considered autochthonous from the Americas. HBV genotypes present a remarkable geographic structure, which may reflect patterns of human migrations. In south america, endemic areas include the amazon basin, and the highest prevalence have been observed in native

american populations. The aim of this study was to characterize the HBV circulating in a historical sample of native south Americans.

**Materials and methods.** The sample consisted of 1070 individuals belonging to 38 populations, collected between the years 1965 and 1997. Presence of HBV-DNA was checked by quantitative real-time PCR, and determination of HBV genotypes was performed through amplification and sequencing followed by phylogenetic analysis of a fragment partially comprising hbsag and pol coding regions (S/POL) of viral genome. Bayesian skyline plot was determined in order to compare the viral population dynamics of HBV/A1 strains from native americans and other brazilian populations.

**Results.** A total of 109 individuals were positive for HBV-DNA (~10%), and 70 samples were successfully sequenced and genotyped. The most frequent subgenotype observed was a1 (66-94%), related with african populations and their descendants. The skyline plot analysis showed a marked population expansion in native americans HBV/A1 occurring more recently (1945-1970) than in other brazilian strains, suggesting that historic processes that contributed to the formation of HBV/A1 circulating in native americans are related to more recent migratory waves towards the amazon basin, which generated a different viral dynamics in this region.

**Conclusions.** This study reports the predominance of a HBV non-native genotype in a sample of native south americans and highlights the impact of human activities related to urban development over the pattern of distribution, dispersion and outcomes of HBV.

### TLO-96. Emergencia de cepas de *Enterobacter cloacae* resistentes a ertapenem no productores de carbapenemasas en instituciones de alto nivel de complejidad de Medellín, Colombia

Ana María Ocampo R.\*, Astrid Vanessa Cienfuegos G.\*, Erika Andrea Rodríguez Tamayo, G.\*, Lina María Echeverri T.\*, Carlos Robledo\*, Andrea Restrepo\*, Judy Natalia Jiménez Q.\*

\*Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

**Introducción.** En los últimos años, ha habido un aumento en la frecuencia de *Enterobacter cloacae* resistente a carbapenémicos (CR-EC). En este estudio se reporta la emergencia de un fenotipo poco común de (CR-EC).

**Materiales y métodos.** Estudio realizado en cinco instituciones que incluyó aislamientos de julio 2012 a abril 2014. Para la identificación y el antibiograma se empleó vitek2®. Seguidamente se detectaron carbapenemasas mediante test tridimensional (3D) y PCR para los genes blaKPC, -VIM, -IMP -NDM -OXA-48, así como para las b-lactamasas BLACTX-M -SHV y -TEM, y las AMPC plasmídicas BLAACT/MIR -CMY-1/MOX, -CMY-2/LAT, -FOX, -DHA y -ACC. La tipificación molecular se realizó mediante PFGE y secuenciación del gen HSP60.

**Resultados.** Se incluyeron 101 aislamientos, de los cuales el 95% fueron positivos para el test 3D. Sin embargo, solo se encontró la carbapenemasa KPC-2 en el 39% de los aislamientos (n=38). Se encontró BLAACT/MIR en el 78% (n=79), BLATEM-1 en el 30% (n=31), BLACTX-M-15 en el 14% (n=15), BLASHV-12 en el 8% (n=9) y SHV-27 en el 1% (n=2). El análisis molecular mostró 4 clústeres genéticos dominantes, y uno de ellos agrupó la mayor parte de los aislamientos (43.5% N=44), y estuvo presente en 4 hospitales. Las principales características de este clúster fueron la resistencia a ertapenem y sensibilidad a imipenem y meropenem, la baja frecuencia de KPC (3% n=4) y la presencia de ACT/MIR en el 100% (n=44).

**Conclusiones.** Se reporta la emergencia de un clon de EC. Resistente a ertapenem no productor de carbapenemasas, posiblemente por sobreproducción de AMPC/BLEES, sumada a defectos en porinas; sin embargo también se encontraron algunas cepas productoras de KPC en el mismo clúster, sugiriendo la transferencia frecuente de esta carbapenemasa. La emergencia de estas cepas complica las decisiones terapéuticas, ya que son positivas para las pruebas fenotípicas y los carbapenémicos diferentes al ertapenem podrían permanecer activos contra estas bacterias.

### TLP-1. Characterization of bacteria from the Atacama desert tolerant to extreme pH and salinity conditions

Dinka Mandakovic\*, Daniela Fuentes\*, Jonathan Maldonado\*, Mauricio Latorre\*, Verónica Cambiazo\*, Mauricio González\*

\*Inta-Universidad de Chile, Chile.

**Introduction.** Extreme environments exhibit conditions that are challenging for most life forms. One of the most extreme environments worldwide is the Atacama desert (north of Chile), considered the most arid desert on earth. This desert is also exposed to variable saline and pH levels, becoming a model environment to study the tolerance of microorganisms that populate these extreme conditions. Objective. To identify bacteria present in soils from variable-contrasting sites of the Atacama desert and to characterize bacteria tolerant to extreme pH and salt contents.

**Materials and methods.** The sampling site is located at the Atacama desert (23°30's and 68°20'w) in a 2 km gradient pH (4.7 to 8.5) and salinity (0.03 to 2.11 ms/cm) transect. Soil samples from the transect were collected for otus (operational taxonomic units) determination by illumina hiseq 100 paired end technology, and for bacterial culturing and isolates identification.

**Results.** Around 15 bacterial phyla were observed in the different samples by otus determination, while only three of these pPhyla were identified in the ~30 isolates. When comparing isolates with uncultured bacteria, most isolated strains were from *Firmicutes phylum*, which represent less than 1% of the otus present in the samples. The site with the highest richness but less abundance in isolated strains, was the one with the higher salt concentrations. All isolates obtained were grown at different pH and salt concentrations, being the most tolerant bacteria capable to grow at pH 5, pH 12 and conductivity of 281.25 ms/cm.

**Conclusions.** The abundance and richness of cultivable bacteria do not represent the real bacterial content present in the environment. Firmicutes seem to have more abilities to grow independently than other desert bacteria. Bacteria obtained from the Atacama desert display tolerance to more extreme conditions than the settings present in the environment.

### TLP-2. The synthesis and role of hopanoids during *Methylobacterium mesophilicum* sr1.6/6 host plant interaction

Daiene Souza S.\*, Manuella Nóbrega D.\*, Jennifer Katherine Salguero L.\*, Wellington Luiz de A.\*

\*Laboratório de Biologia Molecular e Ecologia Microbiana, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade De São Paulo, Brasil.

**Introduction.** *Methylobacterium* spp. Are found in association with several plant species and may be involved in pHytohormon production, pathogen interaction, plant growth promotion or even induction of systemic resistance. *M. mesophilicum* sr 1.6/6 presents in its genome a complete pathway of hopanoids biosynthesis, which are bacterial lipids cell membrane components responsible for membrane stabilization, regulation of fluidity, permeability and might be involved in the interaction between bacteria in different environments. The present project aimed to characterize the gene expression profile of hopanoid biosynthetic pathway in *M. mesophilicum* sr 1.6/6 during interaction with soybean roots, in order to understand the strategies used by the bacteria to colonize the host plant.

**Materials and methods.** Soybean (glycine max) axenic seedlings were transplanted in vials containing sterile deionized water. Aliquots of *M. mesophilicum* sr 1.6/6 cell suspension were added and were kept at 28°C for 72 h under agitation. RNA samples were obtained from the planktonic cells fraction; biofilm on the roots surface; interaction (endophyte+biofilm) and control cells (without plant). Cdna synthesis was performed and the quantification of gene expression was done by real-time qpcr.

**Results.** The results showed that gene expression of hopanoids biosynthesis varied according to the condition of interaction between the bacteria and plant. Most genes involved in the synthesis of hopanoids were up-regulated in biofilm condition, while in the interaction treatment there was a down-regulation of all hopanoids genes.

**Conclusions.** Such results showed that during the bacteria-plant interaction, changes in the bacteria transcriptional profile can be associated

with the maintenance and adaptation of bacteria in plant. The interaction study between *M. mesophilicum* sr 1.6/6 and soybean should be improved with analysis of bacterial mutants defective in synthesis of hopanoids, verifying the alterations on the ability colonization of plant roots surface. (financial support: CNPQ).

### TLP-3. Bacterial synthesis of fluorescent nanoparticles (Quantum Dots): Elucidating the role of sulfur metabolism

Vicente María Durán T.\*, Thomas G. Chasteen\*, José Manuel Pérez D.\*

\*Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Univ. de Chile.

**Introduction.** Cadmium sulfide (CDS) Quantum dots (QDS) are fluorescent semi-conductor nanoparticles (NPS) used in solar cells. Generation of CDS QDS by *E. coli* is a novel and promising alternative of synthesis. Nevertheless, little is known about the role of sulfur metabolism during CDS QDS biosynthesis. The objective of the present work is study the role of sulfur metabolism during the biosynthesis of CDS QDS in *E. coli*.

**Materials and methods.** To study differences in sulfur metabolisms, *E. coli* QDS biosynthesis was evaluated in minimal medium with mgso4 or taurine as sulfur sources. QDS biosynthesis was evaluated by determining the fluorescence of cells (ex. 360 nm). Also, differences in sulfide sources produced during biosynthesis was determined using pb-acetate for H<sub>2</sub>S and SCD-GC for volatile organic sulfur compounds (VOSC). Biosynthesized QDS were purified and their spectroscopic properties characterized.

**Results.** Despite that sulfate and taurine allows similar growth rate during cadmium exposure in QDS biosynthesis, a better fluorescence emission of cultures was detected using taurine. In literature, H<sub>2</sub>S has been related with CDS QDS synthesis, but here we report that only cultures grown with sulfate presented small amounts of this gas. Furthermore, SCD-GC results determined the generation of another sulfide source, di-methyl sulfide (DMS) which was present on both sulfur sources (higher levels are produced in the presence of taurine). A decrease in dms levels was determined in cells exposed to biosynthetic conditions (cadmium treatment), suggesting a role in QDS biosynthesis. Finally, absorbance and fluorescence spectra of purified qds confirmed a typically behavior for CDS QDS.

**Conclusions.** Based on our results, the differences in emission colors obtained during qds biosynthesis using different sulfur sources could be consequence of differences in sulfides species generated, suggesting for the first time a novel role for VOSC. These results give great relevance to the sulfur sources and sulfur metabolism in bacterial QDS biosynthesis.

### TLP-4. Synthesis of silver nanoparticles by weed extract and its antimicrobial potential against the pathogenic plant bacteria *Ralstonia solanacearum*

Gonzalo Tortella\*, Macarena Navas\*, Marcela Diaz\*, Maribel Parada\*, Olga Rubilar\*

\*Universidad de La Frontera, Chile.

**Introduction.** Silver nanoparticles (AGNP) are well known to be biosynthesized by plant extract and for its antimicrobial ability. Several plants have been evaluated, but little information is provided in relation to the use of weed and its potential to mediate the synthesis of metal nanoparticles. On the other hand, few studies have been focused on the use of metal nanoparticles as antimicrobial agent against *Ralstonia solanacearum*, a pathogenic bacterial that causes important plant diseases on solanaceous plants. Objective: the objective of this work was to evaluate the synthesis of agnp using weed extracts and evaluate its antimicrobial potential against *Ralstonia solanacearum*.

**Materials and methods.** Extracts of nine native chilean weeds (10 mL), pH (6 to 10) and agno3 concentration (1-5 mm) were evaluated in the synthesis of ag nanoparticles. Characterization was made by UV-VIS spectrophotometry, tem and ftir. Size distribution of agnp was evaluated using zetasizer nano zs90. Antibacterial activity was evaluated by disk diffusion method (DDM) and minimum inhibitory concentration (mic) and minimum bactericidal concentration (mbc) were determined using 96 well microtiter plate

**Results.** Between nine weed evaluated only two species (*Taraxacum officinalis* and *Hypericum perforatum*) showed high capacity to synthesize agnp. pH 10 and 1 mm of agno3 were the optimal conditions to

synthesize small agnp (<20 nm). Ddm assay with agnp showed clear zones of inhibition of *R. solanacearum* cultures and mic and mbc determined were 60 and 80 µg mL<sup>-1</sup> respectively.

**Conclusions.** This study demonstrated that weed extract can be considered as a source to synthesize effectively agnp. Moreover, the results obtained demonstrated that agnp synthesized by weed extract could be used as an important antimicrobial agent to the control of *Ralstonia solanacearum*.

### TLP-5. Distribution of communities of sulfur oxidizing and reducing bacteria in wastewater treatment plants from southern Brazil

Daniel Derrossi M.\*, Pedro Avelino Maia De A.\*, Ademir Durrer B.\*, Fernando Dini A.\*, Gertrudes Corção\*, Adriano Brandelli\*

\*UFRRGS/ESALQ-USP Brasil,

**Introduction.** Wastewater treatment plant (WWTP) usually have problems with emission of H<sub>2</sub>S generated by sulfur reducing bacteria (SRB). On the other hand, sulfur oxidizing bacteria (SOB) contribute to control the production of this gas. The aim of the study was to evaluate the profile of communities of sob and SRB in 6 WWTPs.

**Materials and methods.** We carried out the extraction of DNA from 18 samples of sludge/effluent from 6 WWTPs, using power-soil kit (in triplicate), being three samples of bioreactors, two of stabilization ponds and one of activated sludge. Amplification was performed V6 region of the 16s rRNA gene by PCR, using primers 967f and 1046r. The reaction conditions were 1x PCR-buffer, 2 mm mgcl2, 200 m DNTPS, 0,3 m of each primer, 1 u/ul taq-platinum-dna. The samples were purified and sent for sequencing ion-torrent. Was performed the assessment of bacterial communities by qiime program, in which the groups were ranked by operational taxonomic units.

**Results.** The main groups of sob and SRB, described in the literature, were selected from the sequences obtained whose incidence was, respectively, 14/17 (82.35%) and 8/13 (61.35%) families for six WWTPs. It was observed that sob and SRB communities were more similar when the samples were compared with the same sampling sites, although at different wwtp. For sob, pHyllum and their more abundant families were, respectively, proteobacteria (66.9%) Spirochaetaceae (33%), Chromatiaceae (20.9%) and Helicobacteraceae (11.5%). For SRB, phylum and their more abundant families were proteobacteria (deltaproteobacteria) (82%), syntrophaceae (33.6%), desulfomicrobiaceae (14.3%) and desulfobacteraceae (13.4%). The sob and SRB communities (families) were considered rare in the samples when analyzed with the total community of bacteria.

**Conclusions.** Better understand the profile of the oxidizing and reducing communities in wwtps contribute to studies of bioaugmentation from bacterial consortia that operate in the control of emissions of H<sub>2</sub>S.

### TLP-6. Modulación de la concentración de ácido indol-3-acético mediante su degradación por *Burkholderia xenovorans* lb400

Paulina Andrea Vega C.\*, María José Romero S.\*, Myriam González, Michael Seeger P.\*

\*Universidad Técnica Federico Santa María Chile.

**Introducción.** La fitohormona ácido indol-3-acético (AIA) es la principal auxina en plantas, controlando diversos procesos fisiológicos como la elongación y división celular, diferenciación de tejidos y las respuestas a la luz y gravedad. La modulación de la concentración de AIA no sólo es realizada por plantas, sino también por la acción de bacterias. *Burkholderia xenovorans* lb400 es una bacteria no patógena reconocida por su capacidad para degradar compuestos aromáticos. Recientemente se ha demostrado que la cepa lb400 tiene la capacidad de sintetizar AIA y promover el crecimiento de raíces de nicotiana tabacum. El objetivo de este estudio fue analizar la capacidad de *B. xenovorans* lb400 de degradar aia para determinar su potencial capacidad moduladora de la concentración de esta fitohormona.

**Materiales y métodos.** Estudios bioinformáticos se utilizaron para analizar el genoma de la cepa lb400. La degradación de AIA y su posible ruta catabólica se analizaron por cuantificación por HPLC y expresión de genes por RT-PCR.

**Resultados.** Análisis del genoma de la cepa lb400 indicaron la presencia de los genes IAC involucrados en la degradación de AIA hasta catecol. *B. Xenovorans* lb400 degradó AIA, en cultivos con medio MM9, utilizando esta fitohormona como única fuente de carbono y energía. Células en reposo de la cepa lb400 degradan en forma eficiente AIA. En presencia de AIA, *B. xenovorans* lb400 transcribió el gen IACC, que codifica para la dioxigenasa clave en el catabolismo de AIA y expresó el gen CATA, que codifica para la catecol 1,2-dioxigenasa. Estos resultados sugieren que la cepa lb400 cataboliza AIA mediante una vía periférica que converge en la ruta central de catecol.

**Conclusiones.** Este estudio demostró que *B. xenovorans* lb400 posee la capacidad de degradar AIA y por lo tanto el potencial de modular la concentración de esta fitohormona durante la interacción con plantas.

### TLP-7. Mecanismos de resistencia a mercurio confieren tolerancia a telurito en aislados bacterianos antárticos

Fernanda Jimena Rodríguez R.\*, Pablo Roberto Muñoz D.\*, Waldo Andrés Díaz V.\*, Claudio Christian Vásquez G.\*

\*Universidad de Santiago de Chile, Chile.

**Introducción.** Los iones mercurio (Hg<sup>2+</sup>) y telurito (Teo<sup>3-2</sup>) exhiben concentraciones mínimas inhibitorias muy bajas para *Escherichia coli*. Ambos producen daño celular por depleción de tioles, inactivación de enzimas y estrés oxidativo. La resistencia a mercurio está dada por el operón mer, el cual finalmente reduce mercurio (ii) a mercurio elemental por actividad de la flavoenzima mera. Por otro lado, los mecanismos de detoxificación de telurito no se conocen del todo. La Antártica se caracteriza por estar expuesta a diversos tipos de estrés abióticos, como por ejemplo bajas temperaturas y radiación UV, entre otros, que causan estrés oxidativo. Últimamente se ha evidenciado un aumento drástico de contaminación por metales pesados en ese continente debido al fenómeno de destilación global. El estudio de los mecanismos moleculares de resistencia a mercurio y telurito, podría permitir el diseño de nuevas estrategias de biorremediación de sitios contaminados en ambientes con bajas temperaturas.

**Materiales y métodos.** En este contexto, hemos aislado bacterias psicrotolerantes desde la Antártica que son resistentes a mercurio y telurito. Sin embargo, estas bacterias sólo son resistentes a telurito en presencia de mercurio. Para demostrar el fenómeno se analizó concentraciones mínimas inhibitorias, halos de inhibición del crecimiento, curvas de crecimiento, parámetros fisiológicos indicativos de daño oxidativo, y presencia o ausencia del operón mer.

**Resultados.** Los resultados mostraron que en presencia de mercurio hay respuesta cruzada de resistencia a telurito en algunos de los aislados bacterianos y que esto se correlaciona con la presencia del operón mer y con la alteración de especies reactivas de oxígeno. Adicionalmente, se demostró que sólo mercurio -en comparación con otros metales- induce una respuesta de resistencia a telurito.

**Conclusiones.** Se concluye que el mercurio gatilla una respuesta de resistencia relacionada con la resistencia a estrés oxidativo que confiere resistencia tanto a mercurio como a telurito en los aislados antárticos.

### TLP-8. Chemical study of the secondary metabolites produced by endophytic *Clonostachys pseudocholeuca* to control *Colletotrichum gloeosporioides* in guava

Andrea Cristina Bogas\*, Simone Possedente L.\*, João Lúcio Azevedo\*

\*Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - Esalq/Usq, Brasil.

**Introduction.** Brazil is one of the largest producers of guava in the world. Nevertheless, only a small part of this production is exported, mainly due to a phytosanitary barrier related to post-harvest diseases, such as anthracnose, caused by colletotrichum species. Its control is based on commercial applications of fungicides in post-harvest period, which can leave residues and induce resistant pathogens, generating impacts on the environment and on human health. In the last years, the exploration of biological activity of secondary metabolites produced by endophytic fungi, especially those isolated from tropical biomes, has been suggested as a viable and sustainable alternative for the plant disease control. Within this context, the aim of this study was perform a chemical study of natural compounds produced by *Clonostachys pseudocholeuca*, an endophytic isolated from guarana trees at Amazon, to control *Colletotrichum gloeosporioides* in guava.

**Materials and methods.** *C. pseudochroleuca* was grown in potato dextrose medium at 28°C for 7 days. The secondary metabolites produced were extracted using ethyl acetate and partially purified using silica gel column chromatography. Fifteen fractions were obtained and submitted to biological assays against *C. gloeosporioides* mycelial growth *in vitro*. Active fractions were analyzed by HPLC-UV-MS.

**Results.** The HPLC-UV-MS analysis of one fraction with the desired antifungal activity revealed values of mass/charge 151.2, 191.2, 263.3, which did not present match to earlier known fungal metabolites in databases, and mass/charge 495.3, which corresponds to bionectin b with antimicrobial activity. These results will be further confirmed at the end of the total isolation and characterization of secondary metabolites.

**Conclusions.** There are no reports of research on secondary metabolites obtained from endophytic fungus of guarana with antifungal activity against *C. gloeosporioides*. Thus, our results suggest that *C. pseudochroleuca* has a great potential to be explored to control anthracnose in guava.

### TLP-9. Actinomicetos marinos productores de metabolitos activos contra patógenos humanos multi-drogo-resistentes

Nadia Galindo C.\*, Ulrike Tarazona J.\*, Marisol Vallejos\*, Emilio Marquet\*, Jorge León Quispe\*

\*Universidad Nacional Mayor De San Marcos, Perú.

**Introducción.** Las actinobacterias son ampliamente estudiadas por su habilidad para producir una gran variedad de compuestos bioactivos de importancia farmacológica. El 70% de las moléculas bioactivas reportadas son producidas por estos microorganismos. En las últimas décadas el descubrimiento de nuevos metabolitos secundarios son provenientes de ambientes poco explorados como lo es el medio marino. El objetivo del siguiente trabajo fue determinar la producción de metabolitos antimicrobianos por parte de actinomicetos marinos.

**Materiales y métodos.** Se evaluó la actividad inhibitoria de 15 cepas de actinomicetos aislados de sedimentos e invertebrados de la costa central peruana contra cepas de *Enterococcus* vancomicina resistentes (evr) y *Escherichia coli* productoras de betalactamasa de espectro extendido (blee), mediante la técnica de la doble capa. En forma paralela se evaluó la actividad enzimática extracelular sobre almidón, gelatina, tween 80 y caseína. Sobre la base de los resultados obtenidos en la prueba de antagonismo se seleccionó la cepa m11-116 (proveniente de sedimento) para la obtención de extractos orgánicos. El cultivo de la cepa citada se llevó a cabo en caldo marino a 150 rpm durante 7 días a 20°C. Posteriormente, el caldo se centrifugó y el sobrenadante se extrajo con diclorometano (v/v). La fase orgánica se evaporó en un rotavapor hasta obtener un residuo seco; posteriormente se resuspendió en una solución acuosa de dimetilsulfóxido y se enfrentó a las cepas patógenas para determinar la concentración mínima inhibitoria (cmi).

**Resultados.** El extracto de la cepa m11-116 mostró una cmi de 62 µg/mL para las cepas *E. faecium* van a y van b, mientras que para la cepa *E. faecalis* ATCC 51922 se determinó una CMI de 125 µg/mL.

**Conclusiones.** Estos resultados demostrarían la factibilidad de obtener potenciales productos bioactivos contra patógenos resistentes.

### TLP-10. Avaliação da degradação de hidrocarbonetos por bactérias provenientes de compostagem

Aline Márcia Silva Araújo E Oliveira\*, Renata Castiglioni Pascon\*, Cristina Viana-Niero\*

\*Universidade Federal De São Paulo, Brasil.

**Introdução.** A compostagem tem atraído atenção como uma alternativa viável para o tratamento de resíduos orgânicos gerando húmus, nutrientes e minerais que podem ser utilizados como fertilizante. Esta transformação ocorre predominantemente pela ação dos microorganismos residentes. Sendo assim, espera-se que este nicho ecológico tenha microorganismos com capacidade de degradar os mais diversos compostos. O objetivo deste trabalho é isolar bactérias com capacidade de degradação de hidrocarbonetos através de meio de cultivo seletivo.

**Materiais e métodos.** Foram estudadas três amostras de compostagem provenientes da fundação parque zoológico de São Paulo utilizando dois métodos de isolamento bacteriano. No primeiro, a amostra de compostagem foi cultivada diretamente em meio pobre em nutrientes

e enriquecido com 1% de n-Hexadecano como fonte de carbono. No segundo método, realizou-se uma etapa de descontaminação com SDS3% / NaOH4% previamente ao cultivo das amostras com o objetivo de obter microrganismos resistentes a este processo. A identificação dos microrganismos foi realizada por espectrometria de massas (maldi-tof) ou sequenciamento da subunidade 16s. Os microrganismos foram submetidos ao teste qualitativo de degradação do hidrocarboneto pireno.

**Resultados.** Doze microrganismos foram capazes de crescer em presença de 0,5 µg/mL de pireno como única fonte de carbono. Destes, nove microrganismos foram obtidos após o processo de descontaminação e três do processo de cultivo direto. Oito microrganismos foram identificados por maldi-tof como *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *Stenotrophomonas* sp. e *Elizabethkingia* sp. DNA dos quatro microrganismos não identificados por maldi-tof foram sequenciados e identificados como *Aquamicrobium* sp., *Stenotrophomonas maltophilia* / *Pseudomonas geniculata*, *Chryseobacterium indologenes* e *Gordonia sihwensis* / *Gordonia cholesterolivorans*.

**Conclusões.** Os resultados sugerem que a compostagem estudada possui microrganismos com capacidade de degradar pireno. A degradação deste hidrocarboneto por estes microrganismos será confirmada por cromatografia a gás.

### TLP-11. Análisis comparativo de la reducción de telurito y cobre por cepas de *Shewanella*

Mauricio Valdivia\*, David Loyola\*, Matias Jara\*, Joaquin Vargas\*, Javier Salazar\*, Daniel Aguayo\*, Claudio Vasquez\*

\*Universidad de Santiago de Chile, Chile.

**Introducción.** Durante una expedición a la Antártica chilena se aisló una bacteria marina que pertenece al género *Shewanella*. La principal característica de este género es la utilización de metales como aceptores de electrones en condiciones anaeróbicas, permitiendo de este modo la generación de energía en ambientes donde los aceptores de electrones son limitados. El objetivo de este trabajo es comparar la reducción de telurito y cobre por la cepa ambiental de *Shewanella* aislada desde la Antártica y una cepa control (*S. oneidensis* mr-1).

**Materiales y métodos.** La concentración remanente de telurito y cobre se determinó en los sobrenadantes de células tratadas. La cuantificación de metales se realizó por espectroscopia óptica de emisión de plasma inductiva. Además, se cuantificó flavinas extracelulares, las que se detectaron por fluorescencia en un equipo tecan infinite m200pro. Las células para la observación al microscopio electrónico Ivm5 (delong instrument) se obtendrán directamente de los cultivos tratados con telurito o cobre.

**Resultados.** Los resultados muestran que la cepa Antártica reduce telurito a concentraciones 1 mM (250 veces más que la concentración inhibitoria mínima de *E. coli*), mientras que, el cobre agregado como catión divalente (Cu<sup>2+</sup>) es reducido a cobre elemental (Cu<sup>0</sup>). Esta reducción se observa fenotípicamente en la formación de una película metálica en la interfase líquido-aire del medio de cultivo en condiciones anaeróbicas. Por su parte, *S. oneidensis* es menos eficiente en la reducción de telurito a la misma concentración (1 mM) y con cobre no forma la película metálica en la interfase líquido-aire. En ambas cepas se observa que la reducción ocurre principalmente en el espacio extracelular.

**Conclusiones.** Aunque pertenecientes al mismo género, los fenotipos de reducción son muy distintos, siendo la cepa Antártica mucho más eficiente en la reducción de telurito y cobre.

### TLP-12. Microrganismos promotores de crecimiento vegetal para especie arbórea amazónica

Ulisses Brigatto A.\*, Maíra De Souza C.\*, Milena Pupo R.\*, Sônia Alvim Veiga P.\*, Marcos Pileggi\*

\*Universidade estadual de Ponta Grossa, Brasil.

**Introdução.** Uma alternativa para diminuir o desmatamento na Amazônia é o cultivo de espécies madeireiras. *Schizolobium amazonicum* é uma destas, amplamente cultivada, mas com exigências nutricionais que tornam o cultivo caro. Microrganismos promotores de crescimento podem acelerar o ciclo e diminuir os custos em plantios. Objetivo geral. Selecionar microrganismos promotores de crescimento, isolados da rizosfera de *S. Amazonicum*, para compor um biofertilizante aplicável a esta planta.

**Materiais e métodos.** Soluções de solo rizosférico e raízes maceradas inoculadas em meios de cultivo revelaram uma diversidade de colônias

bacterianas aisladas. Esporos de hongos micorrízicos arbusculares (fma) foram separados do solo por peneiramento e cultivados isoladamente em plantas iscas. Culturas puras de bacterias e fma foram inoculados em plântulas de *S. amazonicum* em casa de vegetação. Foi analisada a influência de cada isolado na altura, massa, comprimento de raízes e produção foliar das plântulas. Isolados promissores foram caracterizados quanto à capacidade enzimática e morfologia, alguns sendo identificados por sequenciamento da região genômica 16s. Quatro bacterias promissoras foram submetidas a experimento em campo, com e sem fma, e comparadas a um fertilizante industrial.

**Resultados.** Foram isoladas 58 bacterias e 4 fma's diferentes. O experimento em casa de vegetação apontou 35 bacterias potencialmente promotoras de crescimento de *S. amazonicum*. Os fungos fma somente interferiram nas plantas quando inoculados conjuntamente. As bacterias avaliadas em campo foram: *Enterobacter* sp., *Enterobacter aerogenes*, *Bacillus* sp. e *Pantoea* sp. As quatro juntas e associadas com fma promoveram crescimento em altura 16% maior que no tratamento com fertilizante industrial.

**Conclusões.** No ambiente amazônico as plantas se relacionam com uma gama de microrganismos fundamentais ao seu desenvolvimento. Alguns desses microrganismos podem ser selecionados e compor um biofertilizante com aplicação em plantios comerciais, diminuindo custos e acelerando o ciclo desta cultura, que vem suprimindo a indústria madeireira, contribuindo para a diminuição do desmatamento na Amazônia brasileira.

### Tlp-13. Avaliação da desinfecção da água por radiação ultravioleta

Karen Santos S.\*, Júlio César de S. I. Gonçalves\*, Mônica Hitomi Okura\*

\*Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil.

**Introdução.** A preocupação com a qualidade da água é importante e atualmente caracteriza uma crise que ameaça permanentemente a humanidade. Objetivo: avaliar a eficiência do processo de desinfecção de águas com radiação ultravioleta (UV), com base na inativação de um microrganismo indicador *Escherichia coli*.

**Materiais e métodos.** A contaminação microbiológica da água testada foi efetuada a partir de cepa ATCC de *E. coli*. Os testes realizados consistiram em analisar: (1) água contendo a *E. coli* sem radiação e sem rotação; (2) água contendo a *E. coli* com radiação a 51,7 mw/cm<sup>2</sup> em rotação a 50 rpm e a 120 rpm; (3) água contendo a *E. coli* com radiação a 26,2 mw/cm<sup>2</sup> em rotação a 50 rpm e a 120 rpm. Após tempo de exposição (3, 6, 9, 12, 15, 20, 25 e 30 min), a luz foi desligada e a amostragem foi retirada realizando diluições para a contagem em placa.

**Resultados.** Com respeito ao tempo de exposição à radiação uv, observou-se que a radiação a 51,7 mw/cm<sup>2</sup> mostrou que indiferente do movimento (rotação proposta) da água, é possível inativar 99% da contaminação na água em 3 minutos de radiação. Já a radiação de 26,2 mw/cm<sup>2</sup>, apresentou inativação de 99% na rotação de 50 rpm a 6 min e a rotação de 120 rpm a 12 min. Acredita-se que a rotação rápida, ocorra a exposição muito rápida da radiação sobre os microrganismos, diminuindo sua eficiência. Pode-se observar que o processo de desinfecção por radiação uv é um processo eficiente e econômico.

**Conclusões.** Acredita-se que este estudo possa representar um campo fecundo de desenvolvimento de novos métodos, lembrando que à vantagem de serem facilmente implementados em sistema de fluxo, mais rápidas que as reações químicas convencionais e podem ser tomadas facilmente mais seletivas, com a escala do comprimento de onda incidente.

### TLP-14. Análisis preliminar de la diversidad microbiana presente en biosólidos de la planta de tratamiento de aguas residuales San Fernando, Itagüí – Antioquia

Angela Janeth Arévalo A.\*, Katherine Bedoya U.\*, Felipe Cabarcas J.\*, Juan Fernando Alzate R.\*

\*Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

**Introducción.** Los biosólidos generados en el tratamiento de aguas residuales son utilizados en actividades agrícolas y forestales, por esta razón deben ser controlados muy detalladamente a nivel microbiológico. En Colombia no se han realizado estudios profundos de diversidad microbiana en biosólidos utilizando tecnologías de secuenciamento de alto rendimiento, es por eso que estos análisis preliminares proveerán información acerca de la diversidad de bacterias presentes en

biosólidos de PTAR. Estudiar la microbiota presente en biosólidos generados por la ptar San Fernando.

**Materiales y métodos.** Se extrajo DNA del biosólido, se amplificó por pcr las regiones variables v1-v3 y v6-v9 del gen ribosomal 16s. El producto de PCR se secuenció utilizando la tecnología 454 flx + en el cns. Los reads fueron procesados usando FASTQC y amplicon noise antes de hacer la asignación taxonómica con la herramienta rdp classifier y la base de datos ribosomal database project -rdp.

**Resultados.** En el secuenciamento se obtuvieron para la región variable v1-v3 un total de 150.000 reads crudos con longitud promedio de 238 pares de bases. Para la región variable v6-v9 un total de 90.000 reads crudos con longitud promedio de 412 pb. Se eliminó el ruido de las secuencias de los reads, y se obtuvo un total de 34.184 reads para la región variable de la v1-v3 y 40.984 reads. Los filos de bacterias más abundantes para ambas regiones variables según la asignación taxonómica por rdp fueron proteobacterias, chloroflexi, bacteroidetes, actinobacteria y firmicutes.

**Conclusiones.** Se secuenció exitosamente las regiones variables v1-v3 y v6-v9 del gen ribosomal 16s. Los filos más predominantes son proteobacterias, chloroflexi, bacteroidetes, actinobacteria y firmicutes, lo que es consistente con los resultados de otros estudios que se han realizado en plantas de tratamiento de otros países.

### TLP-15. Solubilización de roca fosfórica por levaduras resistentes a metales pesados aisladas de pasivos mineros

Jennifer Herencia H.\*, Pablo Ramírez R.\*, Tito Libio Sánchez R.\*, Yerson Duran R.\*

\*Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú.

**Introducción.** El fósforo es un macronutriente esencial para el desarrollo de las plantas, pero su disponibilidad y concentración en el suelo son escasas, por ello el uso de roca fosfórica, como fertilizante, y los microorganismos del suelo tiene gran importancia. Sin embargo la minería es uno de los grandes problemas en la degradación de suelos, afectando a los microorganismos asociados a la solubilización de fosfato y en la fertilidad de los suelos. El objetivo del siguiente trabajo es determinar la capacidad de solubilización de roca fosfórica por levaduras resistentes a metales pesados, como una alternativa en la recuperación de suelos degradados.

**Materiales y métodos.** Material biológico, cepas de levaduras resistentes a metales pesados del banco de microorganismos del laboratorio de microbiología molecular y biotecnología, aisladas de suelos y aguas ácidas de pasivos mineros. La selección de cepas solubilizadoras de fosfato se realizó en agar pikovskaya modificado con 0.5% de  $Ca_3(PO_4)_2$  y se determinó su capacidad mediante el índice de solubilización (is). La capacidad de solubilización de la roca fosfórica (rf) se realizó en caldo pikovskaya modificado con 0.5% de rf, tomando sub-cultivos a los 2, 5 y 10 días y midiendo la concentración de fosfato libre (ortofosfato) por el método de molibdovanadato con el test de fosfatos-spectroquant® fosforo (Merck).

**Resultados.** Se obtuvieron tres cepas con mayor is *Pichia guilliermondii* AMP6, *Rhodospiridium toruloides* AMP3 y *Rhodotorula mucilaginosa* 9JAL1. de estas solo la cepa amp3 demostró mayor solubilización de rf al obtenerse una concentración promedio de 6.540 mg/l de fosfato libre.

**Conclusiones.** Si bien *Rhodospiridium toruloides* AMP3 se aisló a partir de pasivos mineros, también demostró capacidad para solubilizar rf y puede constituirse en una alternativa en la recuperación de la fertilidad de suelos degradados por la actividad minera.

### TLP-16. Levaduras psicotolerantes resistentes a alta radiación UV

Pablo Alfonso Villarreal D.\*, Mario Andres Carrasco T.\*, Jennifer Cecilia Alcaino G.\*, Victor Hugo Cifuentes G.\*, Marcelo Enrique Baeza C.\*

\*Universidad de Chile, Chile.

**Introducción.** Los microorganismos que habitan la región Antártica, uno de los ambientes más extremos conocidos, han desarrollado diferentes adaptaciones para contrarrestar las condiciones ambientales adversas, como la alta radiación ultravioleta. Nuestro grupo de trabajo aisló e identificó 18 especies de levaduras desde muestras de suelo de la Antártica. El objetivo del presente trabajo fue determinar la resistencia de diferentes especies de levaduras psicotolerantes a la radiación UV y

la producción de metabolitos fotoprotectores tales como pigmentos carotenoides y aminoácidos tipo micospirinas (MAAS). Ambos tipos de compuestos poseen un gran potencial aplicado en la industria farmacéutica.

**Materiales y métodos.** Se determinó el porcentaje de sobrevivencia de las levaduras a diferentes tiempos de exposición a radiación UV (254 nm). Los pigmentos y MAAS se obtuvieron desde los pellets celulares mediante extracción con acetona/éter de petróleo y etanol 80%, respectivamente. La composición de las muestras obtenidas fue determinada mediante cromatografía líquida de fase reversa utilizando columnas C<sub>18</sub> y utilizando una fase móvil de acetonitrilo:isometanol:isopropanol (75:20:5) para los pigmentos y de agua: metanol:ácido acético (99,3: 0,5:0,2) para las MAAS.

**Resultados.** Las levaduras que presentaron mayor resistencia al UV fueron *Diosegia* sp., *Rhodotorula laryngis*, *Rhodotorula mucilaginosa* y *Leuconeuospora* sp., y las con menor tolerancia fueron *Leucosporidium creatinivora*, *Mrakia robertii* y *Rhodotorula glacialis*. *Rhodotorula laryngis* presentó la mayor producción de MAAS (480 ppm), mientras que *Leuconeuospora* sp. Presento la mayor cantidad de pigmentos carotenoides (130 ppm). Las levaduras con menor tolerancia a UV no presentaron cantidades detectables de pigmentos carotenoides ni MAAS.

**Conclusiones.** Con estos resultados podemos decir que las levaduras que presentan alguno de estos metabolitos o una combinación de ellos están mejor adaptadas y presentaron una mayor tolerancia a la radiación UV.

### TLP-17. Do padrão gênico ao proteico: comparação de métodos na identificação de micro-organismos com resistência ao cobre

Ingrid Regina A.\*, Louise Hase G.\*, Marcela Dos Passos Galluzzi B.\*, Luciana Jandelli G.\*, Bruno Karolski\*, Elen Aquino P.\*, Claudio Augusto Oller Do N.\*

\*Centro de Pesquisa e Capacitação em Meio Ambiente Cepema - Poli/Usf Brasil.

**Introdução.** A biossorção, adsorção de metal em biomassa, já está bem caracterizada entre os micro-organismos ambientais, porém, as maiores taxas são encontradas em micro-organismo isolados de áreas de mineração. Ferramenta de grande potencial na bioprospecção e biorremediação dessas áreas, sua eficiência está intimamente relacionada ao estudo de comunidades microbianas incluindo metodologias de isolamento e identificação. O método convencional de identificação de micro-organismos (amplificação do gene ribossomal 16s) exige maior complexidade e tempo para a identificação, quando comparado à nova metodologia que está ganhando cada vez mais espaço em trabalhos científicos: o maldi-tof. Esse método está condicionado ao reconhecimento de padrões espectroscópicos de proteínas conservadas e características para distintas espécies microbianas. O presente trabalho visa comparar as duas técnicas, além de viabilizar estudos posteriores de remediação de locais contaminados por minas, ou efluentes industriais contendo metais pesados, através da utilização dos isolados bacterianos.

**Materiais e métodos.** Foram estudadas bactérias isoladas de amostras ambientais provenientes de uma mina de processamento de cobre no Pará (Brasil). Estes isolados foram cultivados em meio mjs+cobre a 28°C e submetidos a métodos de identificação por espectrometria de massas (maldi-tof) e sequenciamento do gene 16s.

**Resultados.** Das 86 cepas estudadas, a identificação bacteriana pelo método de espectrometria de massas obteve 51% de concordância com a metodologia de identificação convencional (16s), 14% não obtiveram resultados em maldi-tof e 6% não obtiveram sequência de identificação pelo 16s.

**Conclusões.** A técnica de maldi-tof tem o potencial para ser uma ferramenta na identificação de bactérias providas de amostras ambientais através da complementação de seu banco de dados. Esta técnica barata, rápida e viável auxiliará em estudos de bioprospecção, podendo aumentar as chances de sucesso de remediação de áreas contaminadas.

### TLP-18. Nuevo método bioinformático para la búsqueda de enzimas con aplicaciones industriales en librerías metagenómicas de suelos agrícolas colombianos

Carolina Villamil\*, Luis Peña\*, Álvaro Mongui\*, Martha Cepeda\*, Juan Carlos García\*, Angélica Suárez\*, Juan M. Anzola\*, Patricia Del Portillo\*

\*Corpogen, Colombia.

**Introducción.** Colombia como uno de los países de mayor diversidad, es una fuente importante de nuevas moléculas con aplicaciones biotecnológicas.

cas. La metagenómica permite explorar este potencial en diferentes ambientes sin la necesidad de aplicar técnicas de cultivo tradicionales. En el presente trabajo se demuestra la aplicación de un nuevo método bioinformático que permite el análisis de secuencias obtenidas a partir de una librería metagenómica para la identificación de enzimas relevantes a la industria nacional.

**Materiales y métodos.** En el presente estudio, se evaluó una librería ADN metagenómico proveniente de suelo dedicado al cultivo de papa criolla (*Solanum p. Hureja*), por métodos bioinformáticos y tamizaje funcional, con el fin de encontrar actividad celulolítica, xilanolítica, proteolítica, y lipolítica. Para la secuenciación de dicha librería se utilizó una metodología innovadora que combina las técnicas sanger y pirosecuenciación a un precio más bajo comparado con el método tradicional.

**Resultados.** El tamizaje funcional de la librería arrojó 40 clones con actividad enzimática. Los análisis bioinformáticos de las secuencias revelaron la presencia de una lipasa no detectada por métodos funcionales. Esta enzima fue identificada, analizada y posteriormente caracterizada para evaluar su aplicación biotecnológica en la industria de alimento para pollos y cerdos.

**Conclusiones.** Los ensayos funcionales no son suficientes para evaluar la totalidad de la diversidad de funciones y roles de las enzimas en un determinado ambiente. La metodología descrita en este estudio permite evaluar la diversidad de un metagenoma y explorar su potencial industrial de una manera rápida y económica.

### TLP-19. Multi locus sequence typing-based characterization of the intraspecific variability of sulfur oxidizing acidithiobacilli

Harold Núñez\*, Juan Pablo Cardenas\*, Ana Moya-Beltrán\*, Francisca Issotta\*, Mónica González\*, David B. Johnson\*, Raquel Quatrini\*

Fundación Ciencia y Vida, Chile.

**Introduction.** MLST is a genotyping method based on profiling single-nucleotide polymorphisms (SNPs) on housekeeping genes (HKGS). MLST-based pHylogeny has proven to be very congruent with whole-genome-based pHylogeny. Recently, MLST-based analyses have been put to test on biomining acidophiles. Genomic variability within the group of iron-oxidizing acidithiobacilli has been firmly established and resulted in recent description of two novel iron-oxidizing species (*At. ferrivorans* and *At. ferridurans*) in addition to the well known *At. ferrooxidans*. Conversely, information on the diversity of obligatory sulfur oxidizing species of this genus (*At. caldus* and *At. thiooxidans*) is scarce, limited exclusively to 16s and/or 16s-23s rDNA spacer polymorphism and a number of variable phenotypic traits. Here we combine a powerful MLST marker selection scheme, together with targeted metagenomics of MLST-libraries, to profile at high coverage and resolution variability within *At. caldus* and *At. thiooxidans* strains held in culture collections and occurring in acidic environmental samples.

**Materials and methods.** Allele profiles for each isolate were obtained using PCR and conventional sequencing. Phylogenetic relationships between strains were explored using maximum-likelihood (ML) methods and sequence types (STs) were derived. Next, environmental MLST-libraries were analyzed by Illumina-based deep sequencing and contrasted to artificial strain mixes built upon strains obtained from culture collections.

**Results.** Bioinformatic analysis of SNPs and STs successfully identified allele variants representing phenotypically coherent groups and conveyed relative strain abundances in both control and test samples. Sequence and allelic profile phylogenetic analyses showed the presence of six genetically isolated groups within *At. caldus* and *At. thiooxidans*.

**Conclusions.** While only moderate amounts of genetic diversity could be uncovered within *At. caldus* and *At. thiooxidans* using this strategy, heterogeneity of strains indicates further characterization of intraspecific variability is mandatory. Acknowledgements: fondecyt 3130376 and 1140048; conicyt basal pfb16; conicyt beca 21100618.

### TLP-20. Influence of genotype, storage period and plant maturity on bacterial diversity in corn grain for silage

Paula De Almeida C.\*, Ademir Durrer B.\*, Diogo Paes Da C.\*, Maximiliano H. Oliveira P.\*, Juliana Fernandes\*, Fernando Dini A.\*, Luiz Gustavo Nussio\*

\*ESALQ/USP Brasil.

**Introduction.** The agronomic background of crops, in general, explains microbial community present in silage, however, diversity and contamination status may help on understanding silage fermentation profile and



aerobic stability, since establishment of distinct microbial communities in ensiled mass results in the determination of distinct patterns of fermentation. The objective of this study was to determine the influence of genotype, plant maturity and storage period on the composition of bacterial communities in high moisture corn silage.

**Materials and methods.** On this way, maize cultivars ag 1051 and iac 8390 were harvested in three physiological stages and ensiled for 0, 7 and 120 days. Silage samples DNA were extracted using a laboratory protocol and pcr products were sequenced by illumina miseqtm system.

**Results.** It was demonstrated that in high moisture corn silage, different stages of plants development are main determinants of bacterial community composition rather than plants genotypes and storage time. In addition in the samples of reconstituted dry grain, after 120 days of storage, sequences affiliated to the gender *Clostridium* accounted for approximately 40% of the total sequences affiliated to genera found, while *Lactobacillus* represented less than 7%.

**Conclusions.** Probably dried grains suffer more stress at field conditions, which in turn can interfere with the sanitary hygienic quality of silages obtained from these grains. At least, based on these results it is clear the possibility of performing potential specific additives recommendations, unique at each stage of maize plants development. Moreover, reconstitution did not ensure the viability of most bacterial cels, therefore inoculation with *L. plantarum* and *L. buchneri* at ensiling could be a strategy to prevent clostridial development during storage.

### TLP-21. Aproximación a la biodiversidad de eucariotas y virus en biosólidos generados en una planta de tratamiento de agua residual de Colombia

Katherine Bedoya U.\*, Felipe Cabarcas J.\*, Juan Fernando Alzate R.\*

\*Universidad de Antioquia, Colombia.

**Introducción.** Los biosólidos generados en las plantas de tratamiento de aguas residuales tienen un gran potencial para ser usados como abono orgánico, sin embargo, existen pocos estudios sobre la biodiversidad de los microorganismos presentes, por lo tanto se desconocen los riesgos reales de su aplicación en suelos y su uso potencial en biotecnología. Estudiar la biodiversidad eucariotas y virus presentes en biosólidos generados en la planta de tratamiento de agua residual San Fernando, Itagüí-Antioquia.

**Materiales y métodos.** La extracción del DNA se realizó mediante el kit MOBIO POWERMAX for soil siguiendo las indicaciones del fabricante. Se hizo el secuenciamiento masivo del metagenoma mediante la tecnología 454-gs-flx. La calidad de los reads obtenidos fue evaluada mediante el FASTQC, el ensamblaje se realizó mediante newbler 2.9. La aproximación a la clasificación taxonómica de las secuencias se realizó usando el programa el megan-versión: 5.1.5 y la herramienta blastx-NCBI.

**Resultados.** Las secuencias tuvieron una longitud entre 300 y 600pb, la calidad estuvo entre 24 y 35. Se ensamblaron 1.266.410 (63.51%) reads. Se obtuvieron 75.346 contigs con un n50 de 2.335 pb, el contig más largo fue de 101.568 pb. El 59%, 2,9%, y 0,2% de las secuencias fueron similares los dominios bacteria, arquea y eucariota respectivamente, el 0,4% fue similar los virus. En el programa megan sólo se clasificaron bacterias. Los resultados del blastx mostraron que los top-hits mas frecuentes con especies eucariotas fueron con secuencias reportadas de *Bombus impatiens*, *Ceratitidis capita* y *Trichomonas vaginalis*. En cuanto a los virus, se encontraron secuencias de fagos relacionados con los géneros bacterianos *Cronobacter*, *Acinetobacter* y *Thermoanaerobacterium*.

**Conclusiones.** La presencia secuencias con similaridad a proteínas de patógenos de humanos en el biosólido plantean la necesidad de desarrollar estrategias de clasificación más confiables y métodos para evaluar los riesgos reales para la salud.

### TLP-22. Aislamiento y caracterización de bacterias Antárticas capaces de metabolizar fenantreno en presencia de metales pesados

Alejandro Alberto Gran S.\*, Edwar Rosamel Fuentes P.\*,  
Paris Leonardo Lavín S.\*, Nicolás Alexis Órdenes A.\*,  
Juan Pablo Monrás C.\*, José Manuel Pérez D.\*

\*Universidad de Chile, Chile.

**Introducción.** Una de las principales preocupaciones ambientales en Antártica es la contaminación con diésel, principalmente por su conte-

nido de hidrocarburos aromáticos policíclicos (fenantreno) y metales pesados. Un potencial tratamiento biológico de suelos (biorremediación), requeriría el uso de microorganismos nativos ya que el tratado Antártico prohíbe ingresar organismos foráneos al continente. Además, es necesario caracterizar el sitio de origen debido a que los microorganismos usados en biorremediación se desempeñan mejor en condiciones nativas. Objetivo general. Caracterizar química y biológicamente suelos antárticos expuestos a diésel, y aislar y caracterizar bacterias Antárticas degradadoras de fenantreno resistentes a metales pesados.

**Materiales y métodos.** A los suelos se les determinó pH, concentración de metales (icp-ms), actividad biológica y concentración de fenantreno por un nuevo método quimiométrico. De las muestras de suelo se aisló microorganismos en distintos medios de cultivo los cuales fueron caracterizados (t° óptima de crecimiento, mic a metales pesados, batería bioquímica, sem, consumo de fenantreno, entre otros).

**Resultados.** Desde 8 suelos (caracterizados química y biológicamente), se aisló 350 microorganismos. Se predijo el porcentaje de degradación de fenantreno y se seleccionó 3 aislados capaces de degradar >80%. En base a las características microbiológicas y su resistencia a metales se seleccionó un aislado capaz de degradar 95% de fenantreno y metabolizarlo en presencia de 0.5 µg/mL de cd<sup>2+</sup>. A este aislado se determinó la cinética y mecanismo de degradación de fenantreno.

**Conclusiones.** La caracterización de los suelos confirmó que los suelos expuestos a diésel presentan altos niveles de este hidrocarburo. Además, se aisló una bacteria capaz de crecer con fenantreno como única fuente de carbono en presencia de cadmio. El mecanismo de degradación se asoció a la adhesión sobre el hidrocarburo (descartando quimiotaxis y producción de biosurfactantes). El trabajo tiene profundas implicancias para estudios en biorremediación y potencialmente representa una alternativa de descontaminación de ecosistemas antárticos.

### TLP-23. Avaliação e caracterização de exopolissacarídeos por bactérias isoladas de esponjas marinhas do arquipélago São Pedro e São Paulo

Camila Pansa\*, Suikinai Santos\*, Danilo Tosta\*, Fábio Souza\*,  
Roseli Almeida\*, Vanessa Kavamura\*, Itamar Melo\*

\*Embrapa Meio Ambiente, Brasil.

**Introdução.** Muitas bactérias de ambiente marinho são produtoras de exopolissacarídeos (EPS), que as ajudam a suportar condições extremas de temperatura, salinidade e limitação de nutrientes e assim produzindo eps com composições químicas únicas que têm se verificado ser apropriada a potenciais aplicações, tais como agentes espessantes, emulsificantes e estabilizantes. O objetivo deste trabalho foi avaliar e caracterizar os eps produzidos por bactérias isoladas de esponjas marinhas do Arquipélago São Pedro e São Paulo.

**Materiais e métodos.** Para avaliar a melhor condição para a produção de EPS, por bactérias isoladas das esponjas *Aplysina fulva* e *Chondrosia collectrix* foi utilizado o meio de cultura de guimarães, et al. (1999) modificado (2% de extrato de levedura; 1.5% k2hpo4; 0.02% mgso4; 0.0015% mns04; 0.0015% feso4; 0.003% cacl2; 0.0015% NaCl; 1.5% agar) suplementado de 10% de cinco fonte de carbono (frutose, galactose, glicose, maltose e sacarose) múltiplos pH (5,0; 7,0 e 9,0) e diferentes temperaturas (17°C, 28°C e 34°C) por 7 dias. Para a caracterização do eps, foi utilizado o método químico de açúcares de parede. E para identificação dos isolados foi utilizado a técnica de sequenciamento 16s rRNA.

**Resultados.** As linhagens identificadas como *Pseudoalteromonas tetraodonis* e *Pseudoalteromonas issachikanni* foram os dois isolados produtores de EPS. A primeira com obtenção de boa produção em galactose e a outra em glicose, ambas em temperatura de 28°C com pH 7. Seus EPS foram caracterizados como galactose e frutose para *P. tetraodonis* e somente frutose para *P. issachikanni*.

**Conclusões.** O estudo determinou que ambas as linhagens pertencem ao mesmo gênero, e produzem o monossacarídeo frutose, e que a melhor condição de produção de EPS para *P. tetraodonis* e *P. issachikanni*, foram nos meios de galactose e glicose, respectivamente sugerindo assim que as bactérias possuem enzimas específicas para a quebra desse açúcar.

## TLP-24. Metabólitos com propriedade herbicida produzido por actinobacteria isolada de esponja marinha

Camila Cristiane Pansa\*, Fábio Paulino Silva\*, Danilo Tosta S.\*, Roseli De Almeida\*, Suikinai Santos\*, Itamar Soares M.\*

\*Embrapa Meio Ambiente, Brasil.

**Introdução.** Resistência a modos de ação de diversos herbicidas tem sido relatada em culturas de diversas regiões do globo, destacando a tolerância de ervas daninha ao glifosato. Estas resistências associada a demorados processos de desenvolvimento de novos defensivos químicos resultam em uma urgente busca por novas moléculas de ação herbicida. Metabólitos produzidos pela microbiota (principalmente actinobactérias) associada a espécies de esponjas marinhas possuem atividade algicida inibindo a fixação de micro-algas na superfície do porífero, impedindo a asfixia do animal por obstrução dos poros de filtração. Acredita-se que o mecanismo de ação das moléculas com propriedade algicida possa ter atividade herbicida. Este trabalho objetiva identificar espécies de actinobactérias associadas a esponjas marinhas do arquipélago de São Pedro e São Paulo (ASPP) e possíveis novos herbicidas.

**Materiais e métodos.** Amostras de esponja marinha *Aplysina fulva* coletadas no ASPP foram trituradas e semeadas em meios de cultivos seletivos para isolamento de actinobactérias. No screening inicial o extrato bruto de todos os isolados foi extraído com metanol diretamente das placas com cultura pura. O extrato bruto de cada isolado foi aplicado em sementes de *Agrostis* sp. (*monocotiledonea*) e *Lactuca* sp. (*dicotiledonea*). Isolados que apresentaram bioatividade foram fermentados em meio líquido e seu metabólito extraído com diclorometano, evaporados para a recuperação do extrato bruto e quantificados para o cálculo da dose letal (DL 50). A identificação do isolado selecionado foi confirmada pela técnica de sequenciamento do gene 16s rRNA.

**Resultados.** Um isolado foi selecionado por apresentar melhor atividade herbicida pré-emergência em monocotiledonea. De acordo com a análise da sequência do gene 16s rRNA o isolado possui 95,85% de similaridade com *Streptomyces violascens*, podendo ser uma nova espécie. A DL 50 mostrou atividade na fração de 700 µg/mL do extrato inibindo a germinação de *Agrostis* sp.

**Conclusões.** Estes resultados demonstram um novo e potencial herbicida seletivo para gramíneas.

## TLP-25. Analysis of genes expression associated to the interaction of *Methylobacterium mesophilicum* SR 1.6 / 6 with the host plant

Jennifer Katherine Salguero L.\*, Manuella Nóbrega D.\*, Daiane Santos S.\*, Wellington Luiz A.\*

\*Universidade de São Paulo, Brasil.

**Introduction.** The *Methylobacterium* genus is composed of pink-pigmented facultative methylotrophic bacteria. Some species of this genus are able to promote growth, increase photosynthetic activity of the host plant and reduce the incidence of pathogens. *M. mesophilicum* (strain sr1.6/6) is a bacterium isolated from citrus, which presents a beneficial interaction with the plant, inhibiting a citrus pathogen *Xylella fastidiosa*, has been the focus of several studies. The mechanisms of interaction of the bacterium with the host plant has not yet been elucidated, some studies of transcriptome and proteome show the up-regulation of genes related to stress in the interaction. Therefore, this work aimed to evaluate gene expression of methanol oxidation and stress related genes that could be involved in *Methylobacterium*-soybean interaction.

**Materials and methods.** We evaluated bacterial cells adhered to the roots forming biofilm and bacterial cells in suspension (planktonic-called interacts with root exudates) and compared with control treatment. For analysis of expression, were selected genes related to methanol metabolism of the bacteria (pqqb, pqqc, pqqe and pqqf) and stress response (txn, cat1, cat4, sodc, gpx, gsh, gst, rnd1, rnd2, hsp90 and pHyr) by quantitative PCR technique.

**Results.** The results showed differences in gene expression of the different treatments. Overall, the genes cat4, gpx, gsh and gst, responsible for stress response were up-regulated in both of biofilm and planktonic, but from those related to the metabolism of methanol only pqqc gene was up-regulated in biofilm, showing that during interaction with the host plant, both in the initial phase (influenced by exudates) as the next

phase (during the colonization of the root), oxidative stress genes are activated, specially genes related to glutathione metabolism.

**Conclusions.** These results indicate that glutathione may be involved in the recognition of any plant molecule responsible for this communication.

## TLP-26. Bactérias endofíticas e epifíticas do guaranazeiro (*Paullinia cupana*) e controle da antracnose causada por *Colletotrichum*

Maria Leticia Bonatelli\*, Sarina Tsui\*, Bruna D. Batista\*, José Odair Pereira\*, Elliot W. Kitajima\*, Maria Carolina Quecine\*, João Lucio Azevedo\*

\*ESALQ - Universidade de São Paulo, Brasil.

**Introdução.** O guaranazeiro (*Paullinia cupana*) tem importância no Brasil do ponto de vista econômico e social. Os frutos (guaraná) são usados na fabricação de refrigerantes, sucos, fármacos, e cosméticos com aceitação no mercado exterior. A produção de guaraná na região amazônica: é afetada pela antracnose causada por fungos do gênero *Colletotrichum*. O presente trabalho visou o isolamento e caracterização de bactérias endofíticas, epifíticas e da rizosfera de guaranazeiros sadios e atacados por *Colletotrichum* como possíveis agentes no controle biológico da antracnose e promoção de crescimento da planta.

**Materiais e métodos.** Foram coletados em maués (Amazonia Brasileira), folhas de plantas com e sem sintomas de antracnose, e solo rizoférico de plantas sadias, e as bactérias isoladas foram identificadas por sequenciamento do gene 16s rDNA. Foi avaliado o potencial *in vitro* dessas bactérias como agentes de controle, produtoras de enzimas, fitohormônios, fixação biológica de nitrogênio, solubilização de fosfatos e sideróforos. A comunidade bacteriana não cultivável das folhas foi estudada por pirosequenciamento.

**Resultados.** Folhas de plantas com sintomas apresentaram maior número de unidades formadoras de colônias (UFC) comparadas com as sadias. Em plantas sadias os gêneros *Acinetobacter* e *Bacillus* e na rizosfera *Bacillus* e *Burkholderia* foram mais frequentes. Nas plantas com sintomas, os gêneros *Stenotrophomonas*, *Pseudomonas* e *Pantoea* prevaleceram. Enzimas hidrolíticas foram frequentemente encontradas em *Bacillus*. Vários isolados da rizosfera produziram fitohormônios, sideróforos e solubilizaram fosfatos mostrando potencial de promoção de crescimento. A comunidade bacteriana não cultivável de folhas com sintomas apresentaram *Acinetobacter*, *Acidobacter* gpi e *SpHingobacteria* e nas sadias, *Methylobacterium*, *Beijerinckia*, *Bacillus* e um grupo de rizobiais.

**Conclusões.** O controle da antracnose do guaranazeiro poderá ser realizado com sucesso pelo emprego de bactérias isoladas da própria planta, bem como por bactérias produzindo maior vigor às plantas, reduzindo os efeitos da antracnose.

## TLP-27. Efecto benéfico de *Pseudomona aeruginosa* en el control de los derivados del petróleo en aguas residuales

Silvia Eugenia Campuzano F.\*, Aura Patricia Chaparro\*, Ana Cecilia Ospino\*

\*Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca Colombia.

**Introducción.** Las industrias productoras de detergentes contribuyen con contaminación, ambiental porque gran parte de los detergentes de uso doméstico e industrial (desengrasantes), son preparados con derivados de alqui-bencen-sulfonato de sodio, moléculas orgánicas derivadas del petróleo "de cadenas ramificadas" muy resistentes a la acción de los microorganismos. *Pseudomona*, es una bacteria que tiene alta capacidad de biodegradar el alqui-bencen-sulfonato de sodio y otros derivados del petróleo, porque produce alkyl sulfatasas, razón por la que se puede emplear para un bioaumentación en aguas residuales con hidrocarburos, esperando que los niveles de estas sustancias decrezcan. El objetivo del estudio es demostrar la biotransformación de residuos tóxicos derivados de hidrocarburos generados en la fabricación de desengrasantes industriales por bacterias del género *Pseudomona*.

**Materiales y métodos.** Para esto se trabajaron muestras de agua residual, provenientes de la producción de un desengrasante industrial de una fábrica de Bogotá; las cuales se dividieron para el análisis en dos áreas: química y microbiológica. En el área microbiológica se realizaron diferentes análisis con el fin de aislar e identificar bacterias nativas del género *Pseudomona*, y

posteriormente comprobar su efecto biotransformador sobre los hidrocarburos. Se hizo control con *P. aeruginosa* ATCC 28753 en el área química se trabajó la misma muestra buscando comprobar la presencia de hidrocarburos y se cuantificaron antes y después del contacto con la bacteria. Los hidrocarburos se obtuvieron mediante la extracción con tetracloruro de carbono, y una posterior separación de este con un rotovapor, para así lograr la pureza de los hidrocarburos totales; se utilizaron técnicas de medición de hidrocarburos por espectrofotometría UV a 256 nm.

**Resultados.** Antes de hacer el bioaumentación la concentración de hidrocarburos era de 23.289.40 ppm y después de este fue de 9.797.77 ppm.

**Conclusiones.** Al comparar estos resultados se demostró una eficacia de la bacteria del 57.93 %.

### TLP-28. Isolation and selection of bacteria from mangrove sediment with potential production of cellulolytic enzymes

Matheus Maitan V.\*, José Daniel Gonçalves V.\*, Ana Júlia Fernandes\*

\*Universidade Estadual Paulista Brasil.

**Introduction.** Micro-organisms are essential to the function in gulf ecosystems such as mangroves, which have particular environmental characteristics being reservoirs of new micro-organisms with potential biotechnological applications. Objective: isolate and select from mangrove sediments, bacteria that produce cellulases.

**Materials and methods.** 10 g mangrove sediment were added to 90 mL of dilute sea water 50% (w/v) of its salt concentration. The samples were pre-incubated with stirring diluted (up to 10-5) and inoculated in the TSA agar 30°C. For the selection of bacteria that produce cellulases, the bacterial isolates were inoculated in different growing medium to determine enzyme activity: BH agar supplemented with 0.1% (w/v) yeast extract and 0.1% (w/v) microcrystalline cellulose (exoglucanase activity) or 1% (w/v) carboxymethylcellulose (endoglucanase activity), and esculin (0.2% (w/v) ferric ammonium citrate (0.05% (w/v) to  $\alpha$ -glucosidase activity. Subsequently was determined the enzymatic indices (ei) of those isolates that showed enzyme activity by measuring the diameter of the halo produced by the isolated enzyme and the size of their colony in millimeters.

**Results.** Of the 13 isolates tested, 11 had endoglucanase and exoglucanase activity, and the isolated 3 showed, after 24 and 72 h of growth, the top enzymatic indexes of 5 and 11, 25 respectively. The  $\alpha$ -glucosidase activity was only observed in five isolates were isolated from the 17 best ei (6) for this enzyme. The  $\alpha$ -glucosidase activity was only observed in five isolates where in the isolated 17 have best ei (6) for this enzyme.

**Conclusions.** The results suggest that these isolate have potential for future use in biotechnological processes cellulose degradation, mainly in the production of biofuels, being required the continuation of studies to understand and better the characteristics of these enzymes.

### TLP-29. Aplicação de biomassa de *Cunninghamella elegans* ucp/wfcc 0542 no tratamento de efluente de indústria de curtume em sistema de batelada

Ednaldo Ramos S.\*, Rosileide Fontenele S. Andrade\*, Roberto A. Lima\*, Dafne Luana Ramos R.\*, Everaldo S. Santos\*, Sérgio Paiva\*, Aline Elesbão Do Nascimento\*, Kaoro Okada\*, Galba Maria Campos-Takaki\*

\*Universidade federal de Pernambuco Brasil.

**Introdução.** Os curtumes são os principais responsáveis pela liberação de grandes quantidades de cromo no efluente, devido ao processo de curtimento do couro. Várias investigações demonstram que biomassa microbiana apresenta habilidade para remover grandes quantidades de íons metálicos através do processo de bioadsorção ou por meio de biotransformação. Neste sentido, neste trabalho foi investigado o potencial biotecnológico do uso da biomassa de *Cunninghamella elegans* ucp/wfcc 0542 na remoção de cromo presente no efluente da indústria de curtume.

**Materiais e métodos.** As investigações foram realizadas com o efluente bruto, cedido gentilmente pela indústria de curtume. O efluente foi inicialmente caracterizado através de parâmetros físico-químicos e, posteriormente, tratado com biomassa de *C. elegans*, em diferentes concentrações de biomassa: 0,6, 1,2, 1,8 e 2,4g. L-1. A quantificação do cromo residual foi realizada por espectroscopia de absorção atômica (EAA).

**Resultados.** O efluente de curtume demonstrou elevados níveis de cálcio, magnésio e cloreto. A análise do cromo residual no efluente indicou uma eficiência da bioadsorção de 92%, com uma adsorção máxima do cromo correspondente a 5,3 mg/g de biomassa. O efluente de curtume após o tratamento com a biomassa fúngica reduziu os parâmetros físico-químicos de turbidez, dureza em ca e mg e o teor de cloreto.

**Conclusões.** A biomassa de *C. elegans* ucp/wfcc 0542 demonstrou eficiência e elevado potencial biotecnológico como bioadsorvente, com habilidade para remover a cor, além de excelente bioadsorvente na remoção do metal pesado cromo e minimização dos parâmetros físico-químicos.

### TLP-30. Controle da brusone (*Magnaporthe grisea*) em trigo por fungicida produzido por actinobacteria isolada de esponja marinha

Roseli De Cassia De A.\*, Fábio Paulino Silva\*, Danilo Tosta S.\*, Camila Cristiane Pansa\*, Ana Gabriele Barbosa C.\*, Vanessa Nessner K.\*, Itamar Soares M.\*

\*Embrapa Meio Ambiente Brasil.

**Introdução.** O trigo (*Triticum aestivum* L.) ocupa papel de destaque dentre os cereais produzidos no Brasil, tendo uma importante função econômica e social. Porém uma grande limitação da cultura é o frequente aparecimento de doenças que causam queda da produtividade. Dentre estas a brusone do trigo, uma doença causada por *Magnaporthe grisea* (hebert) barr., vem ocupando um papel de destaque por proporcionar perdas em peso por espiga de até 72,5%. A busca por fungicidas para o efetivo controle químico da doença é de grande importância fitossanitária. O presente trabalho teve como objetivo a busca por novos fungicidas seletivos para o controle da brusone a partir de biomoléculas produzidas pelo metabolismo secundário de actinobactérias isoladas de esponjas marinhas do arquipélago de São Pedro e São Paulo (ASPP), organismos estes conhecidos por serem grandes produtores de biocompostos ativos.

**Materiais e métodos.** Amostras de esponja marinha *Aplysina fulva* coletadas no ASPP foram trituradas e plaqueadas em meios de cultivos seletivos para isolamento de actinobactérias. Testes de antagonismo com os isolados foram realizados contra *Magnaporthe grisea*. O isolado positivo para antagonismo foi cultivado em meio líquido e seu extrato recuperado com acetato de etila. O extrato foi utilizado para teste de antibiose contra o patógeno. A identificação do isolado foi confirmada por sequenciamento e análise da sequência do gene 16S rRNA.

**Resultados.** O teste de antagonismo mostrou atividade de inibição de 94% do isolado contra *magnaporthe grisea*. A antibiose mostrou atividade fungicida do extrato quando aplicado em uma concentração de 500 µg/ml. De acordo com a análise da sequência do gene 16S rRNA o isolado possui 88% de similaridade com *Streptomyces violascens*, podendo ser uma nova espécie.

**Conclusões.** Estes resultados demonstram um novo e potencial fungicida para a proteção da cultura do trigo contra a brusone.

### TLP-31. Investigation of antiviral potential of bacteria isolated from Antarctica

Mariana Bueno De Paula N.\*, Luciana Konency K.\*, Ana Paula de Moraes\*, Fabiana Fantinatti G.\*

\*Unicamp Brasil.

**Introduction.** In recent decades the research for secondary metabolites has been explored mainly from micro-organisms, which has presented a wide variety of natural products with pharmaceutical properties. Most research involving active metabolites of actinobacteria, mainly of the genus *Streptomyces*, with about 10,000 isolated compounds. The Antarctic marine ecosystem is an extreme and unique environment that remains relatively unexplored, and considering that only a small part of the biodiversity of the planet is known, this environment can reveal and promote the discovery of new secondary metabolites. This study aimed to assess the diversity of bacteria from the Antarctica and to investigate the antiviral potential of these bacteria against the herpes simplex virus type-1.

**Materials and methods.** Samples of marine macro-organisms and sediments derived from Admiralty Bay, King George Island, Antarctica were used to isolation of bacteria. Among the genera identified by sequence analysis of the ribosomal RNA gene few were selected for the production of microbial extracts for assays of antiviral activity. Microbial ex-

tracts were produced from microbial growth on medium with nutrient broth and artificial salt water at 20°C and then subjected to liquid-liquid extraction with ethyl acetate.

**Results.** About 151 bacteria were isolated and grouped into 29 different genera. About 15 microbial extracts were produced and tested for anti-herpetic activity and 2 of them showed greater activity than 90%.

**Conclusions.** These results show the great diversity of bacteria on the antarctic environment and their anti-herpes potential.

### TLP-32. Efecto de la aplicación de herbicidas ácidos sobre la estructura de bacterias en suelos tratados con urea

Luis Marileo\*, Milko Jorquera\*, Gabriela Briceño\*, Rolando Demanet\*, Tatiana Fernández\*, María De La Luz Mora\*, Graciela Palma\*

\*Scientific and Technological Bioresource Nucleus, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

**Introducción.** La aplicación de herbicidas y urea es una práctica habitual en el manejo de las praderas para maximizar su rendimiento y persistencia, aunque se ha observado un efecto negativo de algunos herbicidas en el proceso de mineralización de la urea. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de mcpa y flumetsulam en la estructura de las comunidades bacterianas en suelos tratados con urea.

**Materiales y métodos.** Se realizó un experimento en condiciones controladas aplicando al suelo, urea (200 y 400 kg n ha<sup>-1</sup>), y los herbicidas mcpa (750 y 1500 g i.a. há<sup>-1</sup>) y flumetsulam (75 y 150 g i.a. há<sup>-1</sup>). El análisis de las comunidades bacterianas en las muestras de suelo fue realizado mediante DGGE utilizando los genes 16s rDNA y amoA. El gel de DGGE mostrando el patrón característico de cada comunidad bacteriana fue analizado con el software de análisis de imágenes pHoretix 1d. La matriz numérica resultante de este análisis fue luego sometida a un análisis de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS), utilizando el software past con el modelo estadístico Bray-Curtis.

**Resultados.** Los resultados mostraron que mcpa indujo cambios significativos en las comunidades bacterianas basado en el gen 16s rDNA a las 24 h y 15 días de incubación, comparado con los controles y flumetsulam. También, se observaron cambios en las comunidades bacterianas en suelos sin aplicación de urea, con un marcado efecto de la dosis de mcpa. En relación al gen amoA para mcpa tanto la dosis de urea como de herbicida presentaron diferencias significativas en la estructura de las comunidades, durante el período de evaluación. Para flumetsulam no se encontraron diferencias significativas cuando se aplicó urea.

**Conclusiones.** Este estudio indica que a diferencia de flumetsulam, mcpa afecta la estructura de las comunidades bacterianas, incluyendo a las bacterias amonificantes. Agradecimientos: proyecto fondecyt 1120467.

### TLP-33. Presencia de *Bacillus cereus* en "arroz chaufa" comercializado en restaurantes en los alrededores a la Universidad Ricardo Palma, Santiago de Surco - Perú

Juan Carlos Ramos G.\*, Alexandra Canales C.\*, Adriana Castillo C.\*, Javier Bejarano V.\*

\*Universidad Ricardo Palma, Perú.

**Introducción.** La inocuidad alimentaria a nivel global debe ser tomada por las entidades prestadoras de servicios alimentarios masivos como una medida que controle los niveles de riesgos alimentarios que pueden ocasionar enfermedades transmitidas por los alimentos. El objetivo de este trabajo de investigación es evaluar la presencia de *Bacillus cereus* en arroz chaufa comercializado en restaurantes de los alrededores a la Universidad Ricardo Palma, Lima – Perú, por ser un patógeno de importancia clínica.

**Materiales y métodos.** Se evaluaron a 6 restaurantes de comida china de los alrededores a la Universidad Ricardo Palma, se procedió a la toma de las muestras durante tres semanas consecutivas, se utilizó la metodología para el análisis de alimentos de presencia /ausencia y recuento por diseminación en placa en agar cromogénico *Bacillus cereus* marca Merck.

**Resultados.** Los resultados obtenidos fueron para la primera, segunda y tercera toma de muestra de 34%, 16% y 67% de los restaurantes evidencio la presencia de *Bacillus cereus* respectivamente. Finalmente para el recuento bacteriano de *Bacillus cereus* fueron de 3.9x10<sup>3</sup>UFC/g., 2,3x10<sup>3</sup>UFC/g. Y 5,2x10<sup>3</sup>UFC/g de los restaurantes Hemisferio, Mon Kao y Nuevo Siglo respectivamente.

**Conclusiones.** En la presente investigación se determinó la presencia de *Bacillus cereus* y el potencial riesgo que tiene de producir enfermedades transmitidas por los alimentos de no tomarse las medidas de control respectivas.

### TLP-34. Potencial de bacterias Antárticas para sintetizar nanopartículas fluorescentes: Explotando la biomineralización de metales pesados

Daniel Orlando Plaza\*, Carla Gallardo\*, Nicolás Bruna\*, Denise Bravo\*, José Manuel Pérez\*

\*Bionanotechnology and Microbiology Lab, Center for Bioinformatics and Integrative Biology CBIB, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andrés Bello, Chile.

**Introducción.** Las nanopartículas fluorescentes o quantum DOTS (QDS), estructuras de CD, TE y se entre otros, poseen propiedades únicas en comparación a materiales de mayor escala. Actualmente, es posible producir QDS ambientalmente más amigables utilizando microorganismos. Nuestro grupo desarrolló un método de biosíntesis en *Escherichia coli*, demostrando que defensas antioxidantes celulares son esenciales en el proceso. Bajo este contexto, la Antártica presenta condiciones ambientales idóneas (baja temperatura, alta radiación UV, alta salinidad, etc.) Para aislar bacterias con defensas antioxidantes reforzadas. El objetivo es aislar bacterias Antárticas resistentes a metales pesados capaces de biosintetizar QDS.

**Materiales y métodos.** Se aisló bacterias desde muestras Antárticas utilizando 8 medios de cultivo incubando a 3 temperaturas. Se seleccionó los aislados resistentes a CDCL2 y k2teo3 que producen QDS (pellets fluorescentes al excitar con UV). Estos aislados se clasificaron por 16s y pruebas bioquímicas. La resistencia a metales se obtuvo mediante concentración mínima inhibitoria. La biosíntesis de QDS se evaluó a 3 temperaturas y diferentes concentraciones de metales. Su localización celular y los cambios estructurales, se realizaron mediante microscopía de fluorescencia y electrónica, respectivamente. La separación de los QDS se realizó por filtración en gel y su caracterización mediante espectroscopía.

**Resultados.** Obtuvimos 410 aislados, 12 de ellos (psicrótrofos), géneros *Pseudomonas*, *Psychrobacter* y *Shewanella*, fueron resistentes a CDCL2 y k2teo3 y capaces de sintetizar QDS intracelularmente. Se encontró alta resistencia a metales (mic cd<sup>2+</sup>: 500-1.400 mg/l y teo3-2: 62,5-1.200 mg/l). La mayoría de las bacterias sintetizó a 28°C y a elevadas concentraciones de CD. La fluorescencia se observó en polos celulares, y se sugiere una producción de vesículas y aumento de espacio periplásmico en células sintetizando. Los QDS presentaron un amplio espectro de absorción y emisión.

**Conclusiones.** Este trabajo muestra el potencial de bacterias Antárticas en biosíntesis de QDS bajo condiciones ambientales de forma segura para el entorno.

### TLP-35. Genes relacionados a factores de virulencia em *Enterococcus* spp. Isolados de amostras fecais de *Spheniscus magellanicus* recuperados no litoral norte do Rio Grande do Sul, Brasil

Janira Prichula\*, Guilherme Raffo Wachholz\*, Leonardo Almanza C.\*, Rebeca Inhoque P.\*, Naiara Aguiar S.\*, Pedro Alves D'azevedo\*, Maurício Tavares\*, Ana Paula Guedes F.\*

\*Universidade Federal De Ciências Da Saúde De Porto Alegre e Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul, Brasil.

**Introdução.** *Enterococos* possuem uma natureza ubiqüitária que os permite sobreviver sob condições adversas em diferentes nichos. Fatores de virulência são determinantes que facilitam a adesão e colonização no hospedeiro, dificultando a atuação do sistema de defesa e aumentando a habilidade do micro-organismo em causar doenças. Há poucos estudos que reportam as características de virulência de enterococos no ambiente marinho. O objetivo desse estudo foi avaliar a incidência dos genes gele, cyla, ace e asa, relacionados à virulência de enterococos, em amostras fecais de pinguins-de-magalhães recuperados no litoral norte do rio grande do sul, Brasil.

**Materiais e métodos.** Neste estudo, 172 isolados de *Enterococcus* spp. Obtidos de nove suabes cloacais de pinguins pertencentes à espécie *Spheniscus magellanicus*, previamente identificados, foram submetidos à detecção da presença dos genes de virulência gele, cyla, ace e asa pela técnica da reação em cadeia da polimerase (pcr). Os oligonucleotídeos iniciadores utilizados foram gele com produto esperado de 402 pb, cyla (517 pb), ace

(320 pb) e asa (101 pb). Os produtos de pcr foram analisados em gel de eletroforese com 2% de agarose e corados com brometo de etídio. Como controles positivos foram utilizados *E. faecalis* 623 e *E. faecalis* 1233.

**Resultados.** A maior incidência observada, nos 172 enterococos, foi para o gene gele com 43,6% (75/172), seguido de ace com 43% (74/172). Uma menor incidência foi encontrada para o gene asa com 36% (62/172) e nenhum isolado avaliado apresentou o gene cyla. Além disso, cinco das nove amostras avaliadas apresentaram pelo menos um dos genes de virulência, sendo a maioria dos isolados virulentos pertencentes à espécie *E. faecalis*.

**Conclusões.** Genes codificadores de proteínas que podem desempenhar um papel fundamental na patogenicidade dos enterococos e que possibilitam uma vantagem seletiva sob outros micro-organismos foram encontrados em enterococos isolados do trato gastrointestinal de pin-guins-de-magalhães, principalmente na espécie *E. faecalis*.

### TLP-36. Investigation of *Escherichia coli* O157:H7 presence in the lettuce production destined for school meal in farms of family farming in southern Brazil

Elis Regina Gomes A.\*, Susana de Oliveira E.\*, Daniela Comparsi L.\*, Mariângela Santiago T.\*, Ana Beatriz Almeida de O.\*, Eduardo César Tondo\*

\*Universidade Federal do Rio Grande do Sul Brasil.

**Introduction.** Lettuce (*Lactuca sativa*) is one of the most commonly consumed leafy vegetables in Brazil and is widely used in the public schools menus of many cities in rio grande do sul. However, the sanitary conditions of Brazilian rural properties are largely unknown and may not be ideal. This vegetable is offered for 159 public schools located in the cities of the five cities in southern Brazil totaling 86,142 students monthly. This study aimed to evaluate the primary production chain of lettuce from conventional (not organic) farms, investigating the presence of *Escherichia coli* O157:H7.

**Materials and methods.** Four farms located on the northern coast of southern Brazil were investigated in the period July/2013 until May/2014. The analyses of total coliforms and *E. coli* were made with samples of lettuce, soil, manure, chemical fertilizer, totaling 162 samples collected. Petrifilm plates was used for counting. The samples were analyzed for *E. coli* o157:h7 according to ISO16654:2001.

**Results.** A total of 54 samples lettuce were collected in five visits presented *E. coli* counts ranging from 2.0 to 3.4 log<sub>10</sub> cfu/g and coliforms counts from 2 to 6.2 log<sub>10</sub> CFU/g. In the 54 soil samples presented *E. coli* counts ranging from 2.0 to 4,06 log<sub>10</sub> CFU/g and coliforms counts from 2,3 to 5,9 log<sub>10</sub> CFU/g. Only two farms used manure with total of 27 samples and showed high *E. coli* counts ranging from 4.0 to 6.05 log<sub>10</sub> CFU/g and coliforms counts from 2.5 to 6.2 log<sub>10</sub> CFU/g.

**Conclusions.** The results suggest the need of the good agricultural practices implementation in these farms, in order to prevent further outbreaks involving this kind of food, as well as the cleaning of these vegetables with chlorinated water before consumption.

### TLP-37. Avaliação de ácidos glicônicos totais em cultivo da bactéria fixadora de nitrogênio *Gluconacetobacter diazotrophicus*

Carolina Nachi R.\*, Kátia Regina Dos Santos T.\*

\*Laboratório de Genética e Bioquímica - Embrapa Agrobiologia Brasil.

**Introdução.** A bactéria diazotrófica, *Gluconacetobacter diazotrophicus* é capaz de sintetizar ácidos glicônicos que, além das diversas aplicações industriais, auxiliam na solubilização de nutrientes do solo. No entanto, a determinação específica destes compostos em relação ao açúcar precursor (d-glicose) tem sido limitada devido a grande semelhança estrutural entre eles. Este trabalho teve por objetivo estabelecer um método para detecção quantitativa de ácidos glicônicos totais na presença de d-glicose por clae e quantificação em cultivo de *G. diazotrophicus*.

**Materiais e métodos.** A análise de padrões de ácidos d-glicônico e ceto-derivados foi conduzida por clae com coluna de fase reversa e detector uv-vis. A estirpe referência de *G. diazotrophicus* pal5t (ATCC 49037) foi cultivada em meio lgi suplementado com glicose (50 mg mL<sup>-1</sup>) e (nh<sub>4</sub>)<sub>2</sub>so<sub>4</sub> (1 mm), sob agitação orbital a 30°C. Após seis dias o cultivo foi interrompido e o sobrenadante liofilizado. Para a análise por

clae o sobrenadante foi suspenso em água. A dosagem de d-glicose foi realizada por método enzimático colorimétrico.

**Resultados.** As condições cromatográficas otimizadas consistiram de fase móvel (FM) ácido orto-fosfórico (0,1%):acetonitrila (85:15 v/v), fluxo de 1 mL min<sup>-1</sup>, temperatura de 35°C e detecção a 210 nm. Não foi possível a separação dos analitos, contudo, o método demonstrou baixa sensibilidade para d-glicose. Os percentuais de detecção e os coeficientes de determinação e correlação obtidos foram superiores ao recomendado pela legislação brasileira. Os limites de detecção e quantificação foram de 0,45 e 0,53 mg de ácidos glicônicos totais mL<sup>-1</sup> de cultivo, respectivamente. Não houve interferência de d-glicose e da matriz da amostra nas análises. Foram detectados 33,10 mg de ácidos glicônicos totais mL<sup>-1</sup> de cultivo de pal5 e um consumo de 76 mg de d-glicose mL<sup>-1</sup> de cultivo.

**Conclusões.** *G. diazotrophicus* acumulou mais de 30% de ácidos glicônicos totais indicando potencial de atuação na solubilização de minerais.

### TLP-38. Transformación enzimática del 2, 4, 6-trinitrotolueno (TNT) en las cepas t30a y t30b

Karol Rodríguez\*, Ziv Arbeli\*, Sonia Ospina\*

\*Universidad Nacional - Pontificia Universidad Javeriana Colombia.

**Introducción.** Dentro del macroproyecto que busca el diseño de un sistema con microorganismos degradadores de TNT y tetranitrato de pentaeritritol (PETN) dentro de un explosivo comercial, se aislaron distintos microorganismos capaces de degradar tnt a partir de ambientes contaminados. Entre éstos, las cepas *Stenotrophomonas* sp. T30a y *Rhizobium* sp. T30b, se destacaron por su habilidad para usar el TNT como fuente de nitrógeno. Objetivo general: estudiar la transformación enzimática del explosivo en las cepas t30a y t30b.

**Materiales y métodos.** La actividad TNT-reductasa, se evaluó en presencia de NADH y NADPH, tanto en la fracción citoplasmática y membranal. Así mismo se determinó si la actividad era inducida por el explosivo y mediante el uso de iniciadores degenerados y la secuenciación del genoma de *Stenotrophomonas* sp. T30a, se identificaron los genes putativos asociados a la degradación. Las actividades enzimáticas se cuantificaron mediante espectrofotometría, cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) y cromatografía de gases (GC).

**Resultados.** Se identificó al NADPH como el donador implicado en la reducción del TNT. Como subproducto se identificaron derivados amino dinitrotoluenos (ADNT) y la formación de un metabolito desconocido. Así mismo, se observó la liberación de una mol de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> por cada dos moles de TNT reducido y la formación de una coloración amarillo-café que se asocia a la presencia de los complejos meisenheimer. Se determinó que las enzimas implicadas en la degradación no dependen de la presencia del explosivo para su expresión y que esta actividad se encuentra asociada a la fracción citoplasmática. Tanto en *Stenotrophomonas* sp. T30a como en *Rhizobium* sp. T30b, se identificaron proteínas homólogas a la familia de proteínas de las oye tipo II.

**Conclusiones:** Las enzimas producidas por las cepas estudiadas realizan el proceso de denitrificación del TNT, generando productos similares a lo ruta metabólica descrita para las oye tipo II.

### TLP-39. Degradação de fenol por isolados de bactérias do solo do cerrado Goiano - Goiás, Brasil

Anna Paula Almeida\*, Bruno Francesco Rodrigues De O.\*, Petain Jose Ferreira N.\*, Aysha Jussara Ivonilde C.\*, Thaís Maitan V.\*, Marcus Vinicius Forzani A.\*, Renan De Souza S.\*, Ariana Alves R.\*

\*Universidade Federal de Goiás Brasil.

**Introdução.** O fenol e derivados são compostos orgânicos reconhecidos como uma das principais causas de contaminação do solo e águas subterrâneas em áreas industrializadas. São altamente tóxicos, mesmo em baixas concentrações, quando ingeridos, inalados ou em contato com a pele e mucosas. Objetivo: avaliar bactérias da bacterioteca do laboratório de microbiologia ambiental e biotecnologia isoladas de solos de cerrado quanto a capacidade de crescimento em diferentes concentrações de fenol.

**Materiais e métodos.** Foram testados três micro-organismos, previamente isolados, segundo o procedimento apresentado por watanabe et al., 1998. A determinação do crescimento, em diferentes concentrações de fenol, consistiu na inoculação dos isolados em placas de petri conten-

do ágar nutriente (an) crescido de gradativas concentrações de fenol variando de 0 a 2.000 mg/L. A capacidade de utilização do fenol pelos micro-organismos, como fonte única de carbono, foi realizada em ágar bh contendo fenol nas mesmas concentrações utilizadas no an. As placas de petri foram incubadas a 30°C por 24-48 h e observado quanto ao crescimento microbiano.

**Resultados.** Observou-se que os isolados testados apresentaram crescimento máximo na concentração de 1.500 mg/L de fenol quando crescidos em an. Os mesmos isolados bacterianos (dois cocos Gram-positivos e um bastonete Gram-positivo), foram capazes de crescer em fenol como uma única fonte de carbono, sendo a concentração máxima de 500 mg/L. **Conclusões.** Os estudos sugerem que os isolados bacterianos apresentam potencial de utilização em processos de biorremediação. Observou-se que as bactérias testadas foram capazes de crescer em an, mesmo em altas concentrações de fenol, porém só conseguiram sobreviver com fenol, como única fonte de carbono, em uma concentração três vezes menor, necessitando de mais estudos que otimizem tais micro-organismos em degradarem fenol em concentração equivalente ao observado em an. Atualmente os isolados estão em processo de identificação, via 16s rDNA e a determinação dos parâmetros de crescimento e utilização do fenol.

### TLP-40. Comprehensive study of active microbial mat communities of non-acidic porcelana hot spring through pyrosequencing and biogeochemical techniques

Estrella Alcamán\*, Javier Tamames\*, Carlos Pedrós-Alío\*, Camila Fernández\*, Antonio Delgado\*, German Marchandon\*, Beatriz Díez\*

\*Depto. de Genética Molecular Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Chile.

**Introduction.** The pHototrophic microbial mat communities of porcelana hot spring (Northern Chilean Patagonia; 42° 27' 29.1''s - 72° 27' 39.3''w), were investigated considering that the chloroflexi and cyanobacteria members occurring in these microbial mats are potential nitrogen fixers, therefore nitrogen metabolism was analyzed in detail.

**Materials and methods.** Metagenomic and metatranscriptomic by 454 pyrosequencing, and isotopic incubation (15n2, 15nh4cl, k15no3) approach were applied for this study.

**Results.** The taxonomic composition of the microbial mat community at 58 and 66°C, confirmed that pHyla *Chloroflexi* and *Cyanobacteria* were prevalent in these non-acidic hot springs. These groups of pHototrophic bacteria accounted for up to 80% of total community in porcelana. Members of pHyla Bacteroidetes, Proteobacteria and Deinococcus-thermus contributed with less than 15%, while rare members of the community represented only 5%. Carbohydrates (40%), amino acids (18%), virulence (17%), respiration (15%) and nitrogen (4%) represented the principal metabolisms occurring at midday in the microbial mat. Members of *Chloroflexi* were 95% responsible for all metabolisms found at 66°C, while at 58°C *Cyanobacteria* were the main group responsible for all active metabolisms. Ammonium assimilation and denitrification were active at 66°C where chloroflexi dominates. In contrast at 58°C, ammonium/nitrate assimilation and nitrogen fixation were the only activated routes. *In situ* biogeochemical analysis at 58°C microbial mat using isotopically labeled nitrogen (15n2, 15nh4cl, k15no3), confirmed that nitrogen fixation by *Cyanobacteria* was an active process, reaching 97% of the total nitrogen contribution to the microbial mat. Ammonium and nitrate uptake, on the other hand, only reached about 3% of the total contribution to the community.

**Conclusions.** Therefore, nitrogen fixation represents the most important route for the incorporation of new nitrogen into the system, supporting the total demands of the pHototrophic microbial mats at porcelana.

### TLP-41. Integração de processos (biodegradação e adsorção em carvão ativo) para o tratamento de águas residuárias fenólicas

Bruno Karolski\*, Louise Hase Gracioso\*, Ingrid Regina Avanzi\*, Marcela dos Passos Galluzzi B.\*, Luciana Jandelli Gimenes\*, Claudio Augusto Oller Do N.\*, Elen Aquino P.\*

\*Centro de Pesquisa e Capacitação em Meio Ambiente Cepema - Poli/Usp Brasil.

**Introdução.** A água ácida, resíduo do processo de refinarias de petróleo, é um desafio a parte para as empresas do setor petrolífero. Neste resíduo são encontrados contaminantes de núcleo benzênico como fe-

nóis, H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub>, HCN, mercaptanas e outros hidrocarbonetos impossibilitando que esta água seja destinada a estações de tratamento comum ficando então estocada. Tratamentos químicos como ozonização, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV e membranas são opções muitas vezes onerosas e inefazes no tratamento deste rejeito, tornando o tratamento biológico uma das melhores opções disponíveis. Muitas bactérias podem ser utilizadas para tratamento de efluentes uma vez que elas se utilizam dos contaminantes como fonte de carbono transformando-os em substâncias menos nocivas ou até mesmo eliminando-as do meio ambiente. Este trabalho mostra os resultados e desenvolvimento de um processo de tratamento de água ácida utilizando-se de um micro-organismo isolado de ambiente contaminado.

**Materiais e métodos.** O micro-organismo foi isolado em meio mínimo mineral com 300 mg l<sup>-1</sup> de fenol como única fonte de carbono e a identificação da cepa foi realizada através do sequenciamento do gene ribossomal 16s. O teste quanto à degradação de contaminantes e curva de crescimento foram realizados em água ácida previamente caracterizada em hplc, que após processada pelo micro-organismo, passou por tratamento em carvão ativo.

**Resultados.** O sequenciamento do gene ribossomal revelou que a bactéria isolada pertence ao gênero *Achromobacter*. A curva de crescimento apresentou dois estágios que foram relacionados aos diferentes tipos de fontes de carbono utilizadas, fenol e cresol, presentes na água ácida. Os testes de degradação mostraram um consumo de 550 mg l<sup>-1</sup> dos contaminantes fenólicos em 82 h formando um intermediário ainda não identificado.

**Conclusões.** O processo de biodegradação desenvolvido obteve sucesso no tratamento da água ácida resultando em um produto com qualidade para reutilização na cadeia produtiva.

### TLP-42. Triagem da produção de Ácido Indol-Acético (AIA) e da capacidade de solubilização de fosfato por micro-organismos endofíticos de bambu

Alves Ribeiro Igor D.\*, Ariana Alves R.\*, Renan De Souza S.\*, Bruno Francesco Rodrigues de O.\*, José Daniel Gonçalves V.\*, Cris Hanny Pires A.\*, Paulo Roberto Faria\*, Sérgio Tadeu S.\*

\*Universidade Federal de Goiás Brasil.

**Introdução.** Micro-organismos endofíticos estão envolvidos em diferentes mecanismos de promoção do crescimento vegetal, atuando, por exemplo, na produção de auxinas ou mesmo na solubilização de compostos inorgânicos do solo. O estudo tem como objetivo selecionar micro-organismos endofíticos de bambu capazes de solubilizem fosfato e sintetizarem ácido indol-acético.

**Materiais e métodos.** Os micro-organismos foram obtidos a partir de brotos de *Dendrocalamus* sp. E *Bambusa odhamii*. Os isolados foram crescidos em meio BHI e inoculados, para teste de produção de aia, em meio TSA (1/10 da força) suplementado e não suplementado com L-triptofano a 5 mm. Após 24 h de incubação (30°C), sob agitação de 120 rpm, acrescentou-se, em poços de microplaca, cerca de 200 µl de reagente de salkowski a um volume equivalente de sobrenadante do meio com crescimento. Para teste de solubilização de fosfato, os isolados foram semeados com o auxílio de inoculador de stryer em meio específico com fosfato de cálcio monobásico a 0,08 % (m/v). Após 48 h de incubação (30°C) realizou-se a medição do halo de solubilização.

**Resultados.** Para produção positiva de ácido indol-acético há desenvolvimento de coloração avermelhada em meio tratado com reagente de salkowski. De 12 isolados testados, 11 apresentaram resultado positivo para produção de aia em meio suplemento e 6 sintetizaram o hormônio em meio com ausência de L-triptofano. Para o teste de solubilização de fosfato, 9 isolados apresentaram resultados positivos, com is variando de 1,23 a 1,95.

**Conclusões.** A capacidade de produção de aia e solubilização de fosfato obtida para alguns isolados demonstra uma possível potencialidade biotecnológica destes micro-organismos na promoção do crescimento vegetal. Trabalhos estão sendo realizados para sua identificação e utilização como inoculante na indústria do bambu.

### TLP-43. Evaluation of bacterial interaction with skin fragments of the caecilian *Siphonops annulatus*

Instituto Butantan Brasil, Flávia Ferreira Barbosa, Marta Maria Antoniazzi, Carlos Jared, Cecilia Mari Abe.

**Introduction.** *Siphonops annulatus* is an amphi-bian species from south America with fossorial habits and living in soils rich in organic matter.

Due to the subterranean environment, besides the common function in cutaneous breathing and defense through venom secretion, the skin of these caecilians must play an important role in secretion of substances acting in maintenance of the delicate balance between microorganisms and amphibian. This study aims to morphologically analyze the interaction between different bacterial strains and skin fragments of *S. annulatus*.

**Materials and methods.** After animal sacrifice, skin fragments were collected and maintained in culture medium (*in vitro*). Each fragment was infected with different bacterial strains (*Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae* and non-pathogenic *E. coli* HB101) and incubated for 24-48 h, at 37°C. Preparations were then fixed, processed and analyzed by light and electron microscopy.

**Results.** Presence of bacteria was mainly observed in areas of cutaneous depressions formed by the body characteristic rings. Among tested strains, *C. freundii* and *E. coli* showed higher capacity to adhere to the fragments. They were usually associated with the mucus secreted by the glands. Histological analysis showed that these glands were structurally altered after exposure to pathogens. Association of bacteria with granular glands was also observed. Ventral fragments infected with *E. coli* and *C. freundii* for 48 h showed epithelium with desquamated or even completely detached areas, suggesting that both strains presented a strong ability to damage the skin fragment.

**Conclusions.** *C. freundii* has been associated with red-leg syndrome in some species of frogs, causing severe skin lesions. Present work shows for the first time that *C. freundii* and *E. coli* are able to adhere and cause skin lesions in *S. annulatus* in *in vitro* model, and can be considered potential pathogens for this amphibian species.

#### TLP-44. High throughput illumina-based assessment of stability and shifts in the microbiome of the marine sponge *Xestospongia muta* at microhabitat transitions in two different seasons and derived metabolome patterns

Marcela Villegas P.\*, Dietmar Pieper\*, Olivier Thomas\*  
Juan Armando Sánchez\*, Howard Junca\*

\*Rg Microbial Ecology: Metabolism, Genomics and Evolution of Communities of Environmental Microorganisms, Corpogen, Colombia.

**Introduction.** *Xestospongia muta* is an abundant marine sponge member of the coral reef communities across the caribbean sea. It is also recognized by producing secondary metabolites in large quantities and presenting bioactive fractions. It has associated microbial communities in high densities. It is classified into the bacteriosponges group, generally harboring stable amounts and compositions of microbial communities across both distance and time for a given hosting sponge species. Its ecological importance makes *X. muta* an ideal model for studying evolution of marine eukaryote-microbe associations and the relationships between symbiotic communities and metabolites production.

**Materials and methods.** To improve this knowledge, we analyzed the composition of sponge associated microbial communities and metabolomic patterns of 30 different specimens of *X. muta* across a depth gradient in two different climatic seasons at caribbean sea locations. The culturability of marine symbionts is very low, therefore we applied a culture-independent approach. To estimate microbial composition and diversity in the samples, reads were generated from amplicons of the 16s rRNA gene hypervariable region v5-v6 sequenced by illumina-miseq. Additional metabolite profiles were obtained by HPLC.

**Results.** Our results indicated some predominant pHyla across *x.muta* specimens and the presence of specific groups of microorganisms that seems to be affected by depth and season, particularly inside the pHyla *Cyanobacteria*, *Crenarchaeota*, *Gemmatimonadetes*, *Bacteroidetes* and *Verruimicrobia*. We estimated that there is 60% to 70% similarity between communities and based on the linages shared, a seasonal clustering is evidenced.

**Conclusions.** Based in our results, constitutes a baseline to define the core community of *X. muta* consists in approximately 130 different otus, most of them from the pHyla *Proteobacteria* and *Chloroflexi*. Details of that composition will be presented. The performance of complementary analysis of metabolites profiles showed common patterns but some distinct metabolites across the samples representing different specimens from depth gradients or across the contrasting seasons compared.

#### TLP-45. Aislamiento y caracterización de actinobacterias de 'aguas miel' (residuo post-cosecha), generadas en un sistema de producción de café orgánico

María Fernanda Súa R.\*, Oriana Danuta Serna D.\*,  
Viviana Sánchez T.\*, Jorge Hernández T.\*

\*Laboratorio de Biología Molecular (CINBIN),  
Universidad Industrial de Santander (UIS) Colombia.

**Introducción.** La industria cafetera en Colombia, libera al medio ambiente cerca de 5 L de agua residual por cada kg de café pergamino. Las aguas residuales del beneficio o "aguas miel", son sustratos orgánicos complejos en cuya degradación participan bacterias del pHylum actinobacteria con alto potencial biotecnológico por la producción de antibióticos, agentes antitumorales, agentes inmunosupresores, enzimas y gases. Objetivo general. Caracterizar mediante técnicas microbiológicas y moleculares actinobacterias aisladas de piscinas de tratamiento de mucílago de un cultivo cafetero orgánico, en la mesa de los Santos, Santander.

**Materiales y métodos.** Los aislados fueron obtenidos mediante por selección en medio Czapek Dox - casaminoácidos - levadura (cyc) suplementado con nistatina (50 ug/mL). La descripción macro y microscópica de los aislados se complementó con la amplificación del gen 16s rRNA.

**Resultados.** Un total de 25 cepas de actinobacterias fueron aisladas. La caracterización de los aislados evidenció la presencia de los géneros *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Actinomyces*, *Nocardia* y *Streptomyces*, siendo este último el género más representativo (70%) en muestras de 'aguas miel'.

**Conclusiones.** Los resultados obtenidos muestran un conocimiento primario de la composición de la comunidad de actinobacterias asociadas a 'aguas miel' de un cultivo de café 100% orgánico, con uso potencial en el mejoramiento de procesos de descomposición de residuos agrícolas de cosecha.

#### TLP-46. Calidad microbiológica del agua de las playas del sector turístico de Santa Marta, caribe Colombiano

Jorge Alberto Luna F.\*, Isaac Manuel Romero B.\*

\*Univ. del Magdalena Colombia.

**Introducción.** Las playas por lo general son aprovechadas por el hombre realizando actividades de contacto primario mediante uso recreativo y éstas deben cumplir con los requisitos de calidad sanitaria establecidos por la normatividad competente. El objetivo de este trabajo fue determinar la calidad microbiológica del agua en tres playas del sector turístico de santa marta en temporadas turísticas altas y bajas.

**Materiales y métodos.** Los sitios de estudios fueron las playas de El Rodadero, Taganga y Bahía Concha, los monitoreos se realizaron durante seis meses del año 2013, ubicando tres estaciones en cada una de éstas. Las muestras fueron colectadas a una profundidad de 0,5 m, 1,0 m y 1,5 m en frascos plásticos estériles de 1.000 mL y posteriormente se trasladaron al laboratorio de calidad de agua de la Universidad del Magdalena. Los parámetros microbiológicos evaluados fueron coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF) a través de la técnica del sustrato definido Colilert®-18/Quanti Tray® y recuento de enterococos fecales (EF) por la técnica de filtración por membrana.

**Resultados.** Los valores más altos de CT, CF y EF se registraron para la playa de Taganga con 10,111 nmp/100 mL, 5,335 nmp/100 mL y >200 ufc/100 mL respectivamente, obtenidos en el mes de enero (temporada de vacaciones), similar comportamiento se observó para la temporada turística baja (mes de mayo). La playa de El Rodadero presentó resultados por debajo de 1,000 nmp/100 mL tanto para CT y CF, y EF con 170 UFC/100 mL. La playa del sector de bahía concha obtuvo los valores más bajos de CT, CF y EF en las dos temporadas.

**Conclusiones.** Los resultados de CT y CF obtenidos superan los valores de referencia establecidos por la normatividad nacional vigente. La presencia de microorganismos indicadores de contaminación del agua de las playas obedece a factores como la capacidad de carga turística, vertimiento de aguas residuales y condiciones climáticas (precipitaciones).

### TLP-47. Isolation of thermophilic bacteria of vinasse from sugar cane

Flavia Talarico S.\*, Elen Aquino P.\*, Dryelle Kamida\*,  
Eloisa Pozzi\*, Marcia Helena Rissato D.\*

\*Universidade Federal de São Paulo e Universidade de São Paulo Brasil.

**Introduction.** Thermophilic anaerobic digestion can be used to treat wastewater from sugar cane industry, such as vinasse. Vinasse has a high organic content (cod of 20-40 g/L) and it is produced under high temperature and by auto fermentation process, has the potential to be used of the inoculum of bioreactors. The aim of this work was to isolate thermophilic fermentative bacteria present in vinasse.

**Materials and methods.** Thermophilic anaerobic bacteria were isolated by serial dilution technique followed by isolation on plates containing vinasse fermented with pH of 6.5. Incubation was at 500 c. Colonies were identified by maldi-tof mass spectrometry technique.

**Results.** At least three thermophilic bacteria isolated from fermented were of sugar cane vinasse. Among them, one was identified like as the bacillus thermoamylovorans, facultatively anaerobic and amylolytic bacterium isolated from palm wine. This strain ferments carbohydrate producing lactate, acetate, ethanol and formate but not hydrogen. The presence of this bacterium and other fermenting bacteria shows that vinasse is a source of microorganisms that can be used for inoculating the anaerobic treatment of vinasse.

**Conclusions.** Vinasse is a source of fermented microorganisms that can be used for inoculating the anaerobic treatment of this wastewater.

### TLP-48. Evaluation of microbiota isolated in mangrove crab (*Ucides cordatus*, Linnaeus, 1763) from Guanabara bay, Rio de Janeiro, Brazil and its susceptibility to antimicrobial agents

Monica Nunes\*, Marcellly Jayme\*, Alessandro Salles\*, Gabrielle Arenázio\*, Eduardo Mere Del Aquila\*, Selma Leite\*, Fábio Araújo\*

\*Universidade Federal do Rio de Janeiro Brasil.

**Introduction.** The mangrove crab is a species found and exploited in large scale in Brazilian mangroves because its consumption by population. The crabs were collected in Guanabara bay, RJ that suffers an impact of oil spills and dumping of domestic and industrial effluents. We evaluated the presence of vibrio and *Escherichia coli* by molecular techniques from the crabs collected and marketed for consumption, and it was determined the resistance and susceptibility of these pathogens against to antimicrobial agents.

**Materials and methods.** Two hundreds grams of meat of crab were mixed with saline solution for isolate suspected colonies of vibrio and *Escherichia coli* and to identify by PCR and tested with different antimicrobial agents using disc diffusion method.

**Results.** Our results demonstrate that 100 % of collected samples are above the standard determined by Anvisa ( $5 \times 10^1$  mpn/g for crabmeat and similar) for counting of fecal coliforms, largest amount in Itaóca ( $6,2 \times 10^2$  nmp/g), Surui ( $3,2 \times 10^2$  nmp/g) and Piedade ( $2,4 \times 10^2$  nmp/g). Thirty-three isolates were confirmed as *E. coli*, however, only 24 isolates showed virulence genes (03 stx, 09 eata and 13 lt), which only two present resistance to tetracycline and one to cephalosporin and 129 strains were confirmed as *Vibrio* (84/ 129) *Vibrio* spp., (43/129) *V. parahaemolyticus* and (02/ 129) *V. Cholera*. Seventeen antimicrobial of 9 belonging to different classes are used: penicillins, actâmicos beta / beta-lactamase inhibitor, cepHems, aminoglycosides, tetracyclines, fluoroquinolones, inhibitors of folic acid and pHenicols. Among the identified strains like vibrio three strains showed resistance to ampicillin, six to cefotaxime, one to gentamicin, seven to amikacin, one to ciprofloxacin and one to ofloxacin.

**Conclusions.** The results indicate the risk potential of consumption of crabs collected in polluted areas that may result in human infection, considering the spread of enteropathogens containing relevant resistance markers.

### TLP-49. Eficiência de biorreatores sulfato reductores empleados para el tratamiento de drenajes ácidos de minería

Yaneth Vásquez\*, María Camila Escobar\*, Fabio Roldán\*,  
Ziv Arbeli\*, Carmen Neculita\*

\*Univ. Central, Pontificia Universidad Javeriana,  
Univ. de Quebec en Abitibi-Témiscamingue Colombia.

**Introducción.** Durante la explotación de carbón en el distrito minero de Zipaquirá se generan 74,000 m<sup>3</sup>/día de drenajes ácidos de mina (DAM), los cuales son caracterizados por un bajo pH, alto contenido de iones metálicos disueltos y sulfatos. El objetivo es: evaluar la eficiencia de un biorreactor sulfato reductores bajo tres tiempos de retención hidráulica (TRH).

**Materiales y métodos.** Siete columnas de acrílico fueron empacadas con una mezcla de sustratos orgánicos e inorgánicos y operados bajo tres TRH (1, 2 y 4 d), durante 35 semanas. Para monitorearlos se determinaron parámetros fisicoquímicos pH, alcalinidad, potencial de óxido reducción, sulfatos, sulfuros, carbono orgánico disuelto y los metales Fe<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> y Mn<sup>2+</sup>, así como microbiológicos (bacterias sulfatoreductoras) a través del número más probable.

**Resultados.** Los biorreactores incrementaron el pH y la alcalinidad del DAM y removieron significativamente la concentración de sulfato (60-80%), Fe<sup>2+</sup> y Zn<sup>2+</sup> (100% y 99% respectivamente). En cuanto al Mn<sup>2+</sup> durante las primeras 21 semanas se observó un incremento de la concentración en el efluente, producto de su lixiviación desde los sustratos orgánicos, pero en las últimas 14 semanas realizó una remoción del 70% bajo los tres TRH. Se ha encontrado que si el TRH es muy largo favorece la generación de sulfuros afectando la población de bacterias sulfato reductoras. Por otro lado, TRH muy cortos reduce el porcentaje de remoción de los metales y de sulfato así como la pérdida de microorganismos en el efluente por efecto arrastre.

**Conclusiones.** La eficiencia de los reactores sulfato reductores en el tratamiento de los DAM es dependiente del TRH. Se encontró que el de 2 días es más eficiente, sin embargo se recomienda evaluar TRH entre 1 y 2 días antes de iniciar su implementación en campo, porque un menor TRH permite la biorremediación de un mayor volumen de DAM, reduciendo los costos del tratamiento.

### TLP-50. Identificação e verificação de atividade celulolítica de microrganismos isolados de compostagem

Thaís Pires Martins P.\*, Cristina Viana Niero\*,  
Renata Castiglioni P.\*, Marcelo Afonso V.\*

\*Universidade Federal de São Paulo, Brasil.

**Introdução.** A celulose é a principal fonte de carbono presente na compostagem. Portanto, muitos dos microrganismos que habitam este nicho ecológico são capazes de degradar estes sustratos, pela síntese das enzimas celulases. A importância dessa degradação está na aplicação nas indústrias têxtil, alimentícia, de papel e celulose, enriquecimento da ração animal e também na conversão da biomassa vegetal em etanol. Objetivo. Isolamento direcionado e análise dos microrganismos celulolíticos provenientes da compostagem.

**Materiais e métodos.** Foram realizadas três coletas de compostagem no parque zoológico de São Paulo, das quais foi feito um cultivo em meio contendo carboximetilcelulose/papel de filtro como fonte única de carbono. A avaliação qualitativa da atividade celulolítica dos microrganismos foi feita pelo teste do halo de degradação. Foram selecionados 10 microrganismos para continuidade e houve a identificação dos mesmos pelo sequenciamento dos genes que codificam as subunidades 16s e 18s. Para análise quantitativa da degradação, foram realizados ensaios enzimáticos (FPA) e protéico (Bradford), e avaliação da atividade específica.

**Resultados.** Foram isolados 54 microrganismos, dentre os quais 27 apresentaram halo de degradação. Dos 10 selecionados 9 foram identificados como *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas luteola*, *Gordonia paraffinovorans*, *Geotrichum candidum*, *Candida tropicalis*, *Cryptococcus diffluens*, *Cryptococcus diffluens*, *Pseudomonas putida*, *Salmonella entérica* e um não obteve identificação. Os microrganismos que demonstraram uma atividade específica acima do isolado utilizado como controle positivo foram a *Gordonia paraffinovorans* e o isolado não identificado.

**Conclusões.** É possível afirmar que a compostagem é um ambiente que engloba microrganismos com alta capacidade de degradação da celulose, o que pode se tornar uma ferramenta para a obtenção dessas enzimas para finalidades biotecnológicas.



### TLP-51. Detection of antimicrobial action of crude extracts of *Actinobacteria* from diverse origins against Gram-positive and Gram-negative bacterial strains

Bruno Francesco Rodrigues De O.\*, Igor Daniel Alves R.\*, Juliane Carvalho M.\*, Renan De Souza S.\*, Marcus Vinícius Forzani A.\*, Aysha Jussara Ivonilde C.\*, José Daniel Gonçalves V.\*

\*Universidade Federal de Goiás Brasil.

**Introducción.** The research for new antimicrobials by the pharmaceutical industry declined to a level at which in a few years, there will be a total depletion of effective drugs for the treatment of infections caused by multidrug resistant microorganisms. Soil microorganisms, especially members of the phylum actinobacteria, are the main producers of molecules with antibiotic activity and, therefore, still represent a valuable source to search for new drugs. Detect the antimicrobial action of crude extracts derived from isolates of actinobacteria against standard strains of bacteria.

**Materials and methods.** The isolates were grown in ISP-2 broth and agar during two weeks. Following the differential extraction with organic solvents and concentration using a rotary evaporator, the extracts derived by the cultivation in liquid (elc – extract from liquid cultivation) and solid (esc – extract from solid media) media were obtained. The well diffusion method was applied for the evaluation of antibiotic action of the extracts against a group of 12 bacterial standard strains, six Gram-positive and six Gram-negative.

**Results.** Among the 16 tested extracts, 10 (62.5%) exhibited biocide action when tested against all the Gram-positive strains. The esc of the isolate a22 showed greater activity against the Gram-positive bacteria, especially against *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (diameter of the inhibition zone: 32 mm), being the only one capable of inhibiting the development of five of the six Gram-negative microorganisms (6,25%). Both the extracts of isolate adu 1.3 presented a great level of antagonism of the growth of Gram-positive bacteria.

**Conclusions.** The obtained data by the screening assay are promising to the coming steps of the work, focused exclusively on the isolation and characterization of antibiotic biomolecules and molecular identification of the producers.

### TLP-52. Caracterización de nuevos aislados de *Streptomyces* del sur de Chile con actividad antimicrobiana

Agustina Undabarrena\*, Fabrizio Beltrametti\*, Fernanda Claverías\*, Myriam González\*, Michael Seeger\*, Beatriz Cámara\*

\*Universidad Técnica Federico Santa María Chile.

**Introducción.** La aparición de patógenos microbianos multiresistentes a compuestos terapéuticos genera la necesidad de descubrir nuevos compuestos antibióticos. De los 22.500 compuestos bioactivos provenientes de microorganismos, casi la mitad son producidos por el phylum *Actinobacteria*, donde el mayor productor corresponde al género *Streptomyces* que aporta con el 75% de antibióticos conocidos. Estos metabolitos pueden ser producidos por sintetasas de péptidos no ribosomales (nrps). Bajo este contexto, se propuso aislar y caracterizar actinobacterias provenientes de sedimentos marinos de los fiordos del golfo de Ancud, Chile, y evaluar la actividad antimicrobiana de los aislados encontrados.

**Materiales y métodos.** Se identificaron mediante la secuenciación del 16s rRNA dos aislados correspondientes al género *Streptomyces*. Estas cepas se caracterizaron morfológicamente en distintos medios de cultivo, observándose diferencias en sus pigmentos y producción de exudados.

**Resultados.** Se caracterizó uno de ellos mediante microscopía electrónica de barrido (sem) donde observó su compleja estructura celular de hifas entrelazadas formando micelios diferenciados. Se evaluó su potencial actividad antimicrobiana mediante ensayos cualitativos en placas, frente a cepas tipo de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae* y *Listeria monocytogenes*. Se encontró una mayor inhibición para cepas Gram positivas. La actividad inhibitoria observada varía en los distintos medios de cultivo, siendo esta mayor en medios ISP2 y TSA/ASW. Se evaluó la presencia de genes que codifican para nrps, siendo positivos ambos aislados. La identificación del cluster biosintético de nrps permitirá una predicción de la estructura de los antibióticos producidos.

**Conclusiones.** Los resultados indican la presencia de genes biosintéticos y la producción de antibióticos de estas cepas, confirmando la potencialidad de producir compuestos bioactivos de interés biotecnológico.

### TLP-53. Dinâmica de crescimento de potencial probiótico da aquicultura (*Bacillus sp.*) Na presença de predadores

Alessandro Del'duca\*, Yasmine De Souza\*, Dionéia Cesar\*

\*Universidade Federal de Juiz de Fora Brasil.

**Introdução.** O uso de probióticos na aquicultura tem sido cada vez mais frequente, sendo uma alternativa ao uso de antibióticos. Entretanto, estes microrganismos probióticos também estão sujeitos aos controles ascendentes (nutrientes) e descendentes (predadores). Nosso objetivo foi avaliar a dinâmica de crescimento de um potencial probiótico para aquicultura (*Bacillus sp.*) em diferentes condições de pressão de predação.

**Materiais e métodos.** Um experimento laboratorial foi realizado com água de tanques de um sistema de recirculação para produção de tilápias na fazenda experimental de Leopoldina, felp/epamig, Brasil. Todos os tratamentos receberam inóculo de 25 mL como a seguir: controle – água dos tanques (225 mL) com inóculo de meio tsb com potencial probiótico *Bacillus sp.*; tratamento redução+probiótico – 225 mL de água dos tanques filtrada em gf-3 (0,6 µm) + água dos tanques não filtrada na proporção 9:1 com inóculo de bacillus sp. Em meio TSB; tratamento adição+probiótico – água dos tanques (225 mL) com inóculo do potencial probiótico + raspagem de dois filtros que concentraram organismos maiores que 0,6 µm de 2 L de água dos tanques cada um. Amostras foram coletadas, fixadas (pfa) e filtradas (0,2 µm) no início, a cada 24 h nos dois primeiros dias e no final (4º dia) do experimento. A quantificação de *Bacillus* foi realizada através da técnica de hibridização *in situ* fluorescente (FISH).

**Resultados.** A densidade máxima de probióticos no tratamento controle ocorreu no final do experimento (5 x 10<sup>9</sup> células/mL). No tratamento com redução de predadores, a densidade máxima foi encontrada no primeiro dia de experimento (3 x 10<sup>9</sup> células/mL). Menor variação entre os valores máximos e mínimos de *Bacillus* (0,4 x 10<sup>9</sup> células/mL) ocorreu no tratamento com aumento do número de predadores (tratamento adição + probiótico).

**Conclusões.** Os resultados mostram a importância de avaliar os predadores durante a utilização de probióticos para sua maior eficiência nas produções aquícolas.

### TLP-54. Aislamiento microbiológico de acidófilos hierro oxidantes de relaves de oro y minerales de cobre con potencial uso en biominería

Mario Rodrigo Esparza M.\*, Gisela Francisca Yupanqui S.\*, Luis Alberto Salcedo M.\*, María Elizabeth Reyes C.\*, Andrea Diestra C.\*

\*Laboratorio de Biominería, Facultad de Recursos del Mar, Universidad de Antofagasta, Chile. Laboratorio de Microbiología e Inmunología. Facultad de Ciencias Naturales y Matemática. Universidad Nacional Federico Villarreal, Perú. Unidad de Biominería Perú.

**Introducción.** La biominería es el uso de microorganismos para recuperar metales valiosos (ejemplo: Au, Ag, U, Cu, Pb, Zn, entre otros) (referencia 1). El uso de microbios en el procesamiento de minerales tiene distintas ventajas sobre los métodos fisicoquímicos convencionales (Rawlings, 2002). Las fuentes para la obtención de metales valiosos por medio de microorganismos quimiolitótrofos hierro-oxidantes y azufre-oxidantes, se ha extendido ampliamente, fuentes en las que se utilizan, minerales de baja ley, minerales de alta ley, concentrados, circuitos integrados electrónicos, relaves. En estos procesos el ion férrico (Fe<sup>3+</sup>) es el principal agente lixiviante. La biodiversidad peruana esta escasamente documentada.

**Materiales y métodos.** Muestras, una mina de cobre y una planta artesanal de procesamiento de oro de las ciudades de Nasca-Acarí (500 km al sur de Lima). Se colectó aprox. 1 kg de muestra de sulfuro de baja ley de cobre y 500 g de muestra de relave de oro. Los aislamientos se realizaron con el medio líquido t&k, pH ~ 2, con inóculo al 30%, sometido en agitación constante a 200 rpm. Se analizó la concentración celular en todo el proceso, y se realizaron pruebas de crecimiento en medio sólido, además de coloración de gram.

**Resultados.** Se logró aislar 2 consorcios hierro-oxidantes (cobre y relave-oro), luego de aproximadamente 8 enriquecimientos secuenciales. Estos consorcios tienen características Gram negativas, la mayoría de forma bacilar, y un pequeño grupo de forma leptospira en el consorcio relave, en el consorcio cobre, se observó solamente forma bacilar.

Las pruebas de oxidación de hierro en medio sólido fueron positivas en ambos consorcios, confirmando con alta probabilidad la presencia de *Acidithiobacillus ferrooxidans* en los consorcios se logró determinar bacterias Gram negativas de forma leptospira característica del género *Leptospirillum*.

**Conclusiones.** El aislamiento de bacterias del género *Leptospirillum* (más importante en biolixiviación) están relacionadas a muestras de oro.

### TLP-55. Fermentation of liquor of sisal pulp enzymatic hydrolysis for the production of biosurfactants by *Bacillus subtilis*

Claudia Patricia Marin A.\*, Joice Jaqueline Kaschuk\*,  
Elisabete Frollini\*, Marcia Nitschke\*

\*Universidade de São Paulo, Brasil.

**Introducción.** Biosurfactants (BS) are amphiphilic molecules synthesized by a variety of microorganisms including bacteria, yeast and filamentous fungus. These substances possess remarkable detergency, emulsifying and foaming characteristics, due to their ability to reduce the surface (liquid-air) and interfacial (liquid-liquid) tension. BS are commercially promising alternatives for chemical surfactants, since their lower toxicity and higher biodegradability. However, their large-scale production is currently limited by the high costs of production. One strategy used to face this issue is the use of cheap waste materials as carbon source. This work reports the production of surfactin by *Bacillus subtilis* using the liquor from enzymatic hydrolysis of sisal pulp (EH), a cheap renewable substrate. Its potential for BS production was evaluated and compared with the production in conventional medium with glucose.

**Materiales y métodos.** *B. Subtilis* ATCC 21332 was cultivated in nutrient broth during 9 h at 30°C, 150 rpm (od 610 nm 0.52) and 5% (v/v) of this inoculum was transferred to 250 mL erlenmeyer flasks containing 20 mL of synthetic medium with glucose and enzymatic hydrolysate as carbon sources. The cultures were grown at 30°C, 150 rpm for 72 h and samples were submitted to surface tension (ST), critical micelle dilution (CMD) and critical micelle concentration (CMC) measurements using du nouy ring method.

**Results.** The CMD-2 values about 40 mn.m<sup>-1</sup> indicate a good BS production using enzymatic hydrolysate yielding 136 mg.l<sup>-1</sup> of surfactin when compared to the glucose medium that showed a CMD-2 of 60 mn.m<sup>-1</sup>. The surfactin produced in EH medium presented a ST 28.71 mn.m<sup>-1</sup> and CMC 64 mg.l<sup>-1</sup> and also showed potential for bioremediation of diesel oil.

**Conclusiones.** In conclusion the liquor from enzymatic hydrolysate of sisal cellulose demonstrated potential as alternative low cost substrate for surfactin production.

### TLP-56. Estudio de microorganismos no cultivados del filo *Chloroflexi* en reactores metanogénicos mediante T-RFLP

Patricia Bovio Winkler\*, Ángela Cabezas\*, Claudia Etchbehere\*

\*Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable Uruguay.

**Introducción.** La presencia de organismos no cultivados del filo *Chloroflexi* (OFC) ha sido ampliamente reportada en reactores metanogénicos de tratamiento de aguas residuales. Debido a su morfología de filamentos, algunos trabajos sugieren que son fundamentales para la formación de gránulos en reactores UASB, pero también que su sobrecrecimiento puede causar problemas de sedimentación. Por lo tanto, el conocimiento sobre este grupo de microorganismos, servirá para poder diseñar estrategias de operación que minimicen las fallas y permitan sistemas más robustos y eficientes. En este trabajo se propone conocer la identidad, diversidad y dinámica de estos organismos en muestras tomadas de reactores metanogénicos de tratamiento de aguas residuales de industrias de nuestro país.

**Materiales y métodos.** Para ello se tomaron muestras de a lo largo de un año de los siguientes bioreactores: reactor sr (industria láctea), reactores a y b (reactores operados en paralelo de otra industria láctea), reactor al (de una biorefinería) y reactor m (de una procesadora de malta para cervecería).

**Resultados.** Se diseñó un método para estudiar específicamente los OFC mediante la técnica "terminal restriction fragment length polymorphism" (T-RFLP) utilizando primers específicos para el gen del ARNr de

16s del filo *Chloroflexi*. Se determinó las condiciones óptimas de amplificación por PCR y de tratamiento con enzima de restricción. Los resultados del análisis de las muestras mediante la técnica diseñada muestran que existe un pico predominante de 511 pb en la mayoría de las muestras. Se detectó un promedio de 6 picos presentes en cada reactor (mínimo 5, máximo 8). Un 50% de los picos presentes se mantuvieron a lo largo del tiempo en cada reactor.

**Conclusiones.** Estos resultados indican que los OFC presentan una gran estabilidad y persistencia dentro de los reactores. Posteriormente se determinará la identidad de estos organismos mediante la correlación de los picos del T-RFLP con secuencias de bancos de datos.

### TLP-57. Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata y su potencial uso como agente antimicrobiano

Nixon Manosalva\*, Yoselyn Velasquez\*, Gonzalo Tortella\*,  
Maribel Parada\*, Macarena Navas\*, Marcela Diaz\*, Olga Rubilar\*

\*Univ. de la Frontera, Chile.

**Introducción.** La nanobiotecnología ha emergido como uno de los campos científicos más innovadores con gran potencial en la agricultura, siendo las nanopartículas metálicas una herramienta novedosa para el control de plagas. En este contexto, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto antimicrobiano de nanopartículas de plata sintetizadas a partir de extractos de *Galega officinalis* sobre la bacteria fitopatógena *Pseudomonas syringae*.

**Materiales y métodos.** Para la obtención del extracto, las hojas de *G. officinalis* fueron hervidas, filtradas y diluida a una concentración de 5% v/v. Luego, se adicionó AgNO<sub>3</sub> para obtener una concentración de 3 mM y la biosíntesis de las nanopartículas de plata se evaluó mediante espectroscopia UV-visible entre 300 y 800 nm. Se determinó la distribución de tamaño de las nanopartículas por dispersión de luz dinámica (DLS) y la morfología por microscopía electrónica de transmisión (TEM). Además, se evaluó el efecto antimicrobiano de la nanopartículas sobre *P. syringae*.

**Resultados.** Los resultados demostraron que la síntesis de nanopartículas de plata tiene una máxima absorbancia a los 420 nm. Las micrografías TEM confirmaron la síntesis de nanopartículas, las cuales mostraron una morfología esférica y monodispersa. Asimismo, el análisis por DLS mostró que un 72% de las nanopartículas tenían una distribución de tamaño de 50 nm. En cuanto a la actividad antimicrobiana, se demostró que una concentración de 100 mg/L de nanopartículas de plata inhibe el crecimiento de la bacteria *P. syringae*.

**Conclusiones.** Por lo tanto, en base a los resultados obtenidos es posible concluir que el estudio antimicrobiano de nanopartículas metálicas provee una oportunidad para estudiar estrategias nanotecnológicas para combatir enfermedades fitopatógenas. Agradecimientos: fondecyt 1130854.

### TLP-58. Influência de concentradores solares na desinfecção solar de águas contaminadas artificialmente

Naira De Resende O.\*, Bruno Ramos B.\*, Hélen Cristina Oliveira Dos R.\*, Pâmila Nayana Ferreira R.\*, Eduardo Beraldo De M\*,  
Danila Soares C.\*, Zoraidy Marques De L.\*

\*Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Mato Grosso, Brasil. Programa de Mestrado em Recursos Hídricos, Universidade Federal de Mato Grosso, Brasil.

**Introdução.** Dados recentes indicam que 748 milhões de pessoas carecem de uma fonte segura de água potável, situação que acarreta diversos problemas de saúde pública, uma vez que água contaminada pode matar. Em muitos casos o fornecimento de água potável nas residências tornou-se uma tarefa dos próprios moradores para reduzir a elevada incidência de doenças diarreicas. Dentre as técnicas para esta finalidade, a desinfecção pela radiação solar (sodis) destaca-se por ser simples e de baixo custo. Por meio do sodis, uma água microbiologicamente contaminada é colocada em garrafas transparentes do tipo PET e estas são dispostas em locais que tenha a incidência da radiação solar por no mínimo 6 h. Objetivo geral. Avaliar a influência de três concentradores solares de baixo custo na desinfecção solar de águas contaminadas artificialmente.

**Materiais e métodos.** Os concentradores solares foram construídos de madeira e as superfícies refletoras de materiais recicláveis (lata de bebi-

das de aluminio, embalagem aluminizadas do tipo tetrapak e espelhos). A contaminação artificial da água foi efetuada por meio das cepas de *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis*.

**Resultados.** Foi possível aumentar a radiação solar incidente nas garrafas as quais apresentaram valores da temperatura da água maiores em até 13°C quando comparados aos valores obtidos para o controle não submetido aos concentradores. Assim, houve redução do tempo necessário para a inativação das bactérias presentes nas águas contaminadas artificialmente nos concentradores. Vale destacar que tais resultados são válidos para dias com radiação solar moderada e forte. Não se recomenda aplicar o sodis em dia com alta nebulosidade.

**Conclusões.** Os concentradores solares desenvolvidos nesse estudo foram eficientes para reduzir o tempo necessário para a inativação microbiana. Esses são de baixo custo uma vez que são feitos com materiais recicláveis facilmente encontrados e são simples de serem construídos e operados pela própria população. Agradecimentos: ao cnpq pelo aporte financeiro (processo 455007/2012-8).

### TLP-59. Estimación de la diversidad bacteriana e identificación de microorganismos electrogénicos asociados a la biopelícula anódica de celdas de combustible microbianas

Alexander Mora\*, Enrique Bravo\*

\*Univ. del Valle. Depto. de Biología; Grupo de Investigación en Biología de Plantas y Microorganismos. Laboratorio de Investigaciones Microbiológicas, Colombia.

**Introducción.** Las celdas de combustible microbianas (mfc), son dispositivos con la capacidad de convertir sustratos energéticos en energía eléctrica, además tienen el potencial para ser aplicados en procesos biotecnológicos, industriales y biorremediación. El presente trabajo evaluó el potencial de microorganismos presentes en dos ambientes (agua residual doméstica e industrial) en su capacidad para generar electricidad; de igual modo se estudió y caracterizó la diversidad bacteriana asociada a la biopelícula anódica de las mfc.

**Materiales y métodos.** Se construyeron mfc de una cámara que permanecieron en operación durante 30 días utilizando la muestra ambiental como sustrato e inóculo microbiológico; posterior a esto se realizó la identificación molecular, cultivo y aislamientos de los microorganismos cultivables asociados a la biopelícula anódica; los microorganismos que fueron cultivados se caracterizaron mediante análisis del gen del arnr 16s, descripción de su morfología y formas de crecimiento, pruebas bioquímicas y su potencial para generar energía en las mfc.

**Resultados.** Se reportan valores de densidad de potencia máxima de 4,85 mw/m<sup>2</sup> con disminuciones de 71% de dbo para el agua residual doméstica y de 1,85 mw/m<sup>2</sup> con 59% de disminución de dbo para el caso del agua residual industrial; se recuperaron 17 secuencias únicas provenientes de la amplificación del gen del arnr 16s obtenidas a partir de las biopelículas anódica, el análisis filogenético ubicó estas secuencias en la clase delataproteobacterias; se aislaron 16 microorganismos, de los cuales se identificaron 11 organismos diferentes, pertenecientes a los géneros clostridium, citrobacter, comamonas, enterobacter, serratia y pseudomonas; 8 de los 11 microorganismos, mostraron una producción de energía significativa, con un mayor valor reportado de densidad de potencia de 3,98 mw/m<sup>2</sup> para un aislado del género *Clostridium*.

**Conclusiones.** Los dos sustratos ambientales contienen una importante e interesante diversidad microbiana, mostrándolos muy promisorios para la construcción y operación de mfc y la implementación de procesos biotecnológicos.

### TLP-60. Predicción de los niveles diarios de esporas de *Cladosporium* en el aire aplicando modelos de regresión logística

Andrés M Vélez-Pereira\*, Concepción de Linares\*, Miguel Angel Canela\*, Jordina Belmonte\*

\*Instituto de Ciencia y Tecnología Ambientales – ICTA y Unidad de Botánica- Facultad de Ciencias, Univ. Autónoma de Barcelona, Spain.

**Introducción.** *Cladosporium*, hongo causante de problemas de salud humana y en cultivos, es uno de los más representados en forma de

conidias en los espectros aerobiológicos. El estudio de su comportamiento en el aire es un paso necesario para su control y prevención. El objetivo de este trabajo es estimar la presencia de conidias de *Cladosporium* en el aire y la superación de determinados umbrales de concentración utilizando un modelo de regresión logística basado en temperatura y precipitación.

**Materiales y métodos.** Las regresiones logit emplearon los datos de concentraciones medias diarias de *Cladosporium* (metodología hirst) de 8 localidades de la red aerobiológica de Catalunya (NE España), y los datos diarios de temperatura máxima y mínima y de precipitación de las agencias aemet y meteocat. Se elaboraron ecuaciones aplicadas a la presencia de conidias y a la superación de los umbrales de 200, 500, 1000 y 1500 conidias/m<sup>3</sup>. El modelo se desarrolló con datos del período 1995-2012, y la validación con datos de 2013.

**Resultados.** La concentración media diaria varió entre las 479 y 1742 conidias/m<sup>3</sup>. Las regresiones mostraron que la temperatura y la precipitación acumulada de 3 días tienen un efecto positivo y significativo sobre las concentraciones de *Cladosporium*; mientras que la precipitación del mismo día un efecto negativo y poco significativo. Los modelos presentaron un porcentaje de validación superior al 60% (47,5- 97,9%), siendo mayor para los umbrales 1000 y 1500 conidias/m<sup>3</sup>.

**Conclusiones.** La predicción de la exposición a conidias de *Cladosporium* por umbrales mediante un modelo logit es un proceso sencillo, práctico y con valores confiables de estimación, recomendable para ser empleado en sistemas de información aerobiológicos.

### TLP-61. Produção de biosurfactantes por *Penicillium* sp. Av4 isolado de efluente de usina de biodiesel

Caroline Alves Dávalos Dos S.\*, Thamires Silva M.\*, Letícia Auxiliadora Da Silva D.\*, Rossen Golin\*, Eduardo Beraldo De M.\*, Zoraidy Marques De L.\*

\*Laboratório de Microbiologia Sanitária e Ambiental, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Mato Grosso, Brasil.

**Introdução.** A maioria dos surfactantes disponíveis comercialmente é sintetizada a partir de derivados de petróleo. Entretanto, o crescimento da preocupação ambiental entre os consumidores, combinado com novas legislações de controle do meio ambiente levaram à procura por surfactantes naturais como alternativa aos produtos existentes. Os surfactantes são moléculas anfipáticas constituídas de uma porção hidrofóbica e uma porção hidrofílica. Os compostos de origem microbiana que exibem propriedades surfactantes, isto é, que diminuem a tensão superficial e possuem alta capacidade emulsificante, são denominados biosurfactantes e são subprodutos metabólicos de bactérias, fungos e leveduras. Neste trabalho, a produção de biosurfactantes por *Penicillium* sp. Av4 isolado de efluente de usina de biodiesel foi avaliada.

**Materiais e métodos.** O biosurfactante foi produzido em meio mineral formulado com 2% de inóculo (suspensão de esporos fúngicos, 108/mL) e 2% de diferentes substratos utilizados como única fonte de carbono e energia. Os substratos utilizados foram: óleo de fritura, biodiesel, azeite, glicose, sacarose, maltose e um resíduo de frigorífico bovino, denominado farinha de carne e osso. Incubou-se por 5 dias a 25°C, sendo que após este período, o meio mineral foi centrifugado a 10000 rpm por 10 minutos para a obtenção do líquido metabólico que foi submetido ao teste de emulsificação. Neste, o líquido metabólico foi acrescido a querosene (1:1) em tubos de ensaios e agitados em vórtex por 2 minutos. A quantidade de biosurfactante foi determinada por meio do índice de emulsificação que correlaciona altura da camada emulsificada e altura total.

**Resultados.** Os resultados mostraram que foram produzidos biosurfactantes em todos os tipos de substratos. Os maiores percentuais de emulsificação foram obtidos no substrato farinha de carne e osso.

**Conclusões.** Conclui-se que a farinha de carne e osso possui potencial para ser aplicado na produção de biosurfactantes uma vez que apresenta viabilidade econômica por ser considerado um resíduo da atividade frigorífica.

### TLP-62. Biofiltración de metano en presencia de ácido sulfídrico y amoníaco

Daniel Valenzuela H.\*, Germán Aroca A.\*

\*Escuela de Ingeniería Bioquímica,  
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile.

**Introducción.** La biofiltración es una tecnología propuesta para la oxidación de metano utilizando la capacidad metabólica que poseen los metanotrófos. Las emisiones de metano, las que impactan el balance químico y térmico de la atmósfera, en muchos casos no pueden ser valorizadas energéticamente. Estas emisiones gaseosas contienen otros gases que pueden interferir en los procesos de biofiltración, entre ellos amoníaco (nh3) y ácido sulfídrico (h2s). El objetivo fue establecer el efecto y los mecanismos a través de los cuales el ch4, nh3 y h2s afectan la oxidación biológica de metano en un biofiltro metanotrófico.

**Materiales y métodos.** Los biofiltros corresponden a cilindros de 1.8 metros de altura y 0.15 metros de diámetro. Como soporte se utilizó una mezcla de suelo orgánico:mineral. Se inoculó el biofiltro con consorcios microbianos metanotróficos. Se varió la concentración de ch4, nh3 y h2s, así como el flujo de la corriente gaseosa de alimentación. Se monitoreó la concentración de metano y dióxido de carbono en la entrada y la salida. Se monitoreó la composición de la comunidad bacteriana mediante DGGE16srRNA y la de la comunidad metanotrófica mediante DGGEpmoa.

**Resultados.** Se alcanzó una remoción de metano de 100%, correspondiente a una capacidad de eliminación (ce) de 15 grch4m-3h-1. La comunidad bacteriana y metanotrófica se mantuvo estable durante la operación del sistema. Entre 50-500 ppmv de nh3, aumenta la ce de metano. El máximo incremento en la ce ocurre a 250 ppmv de nh3. Concentraciones de nh3 mayores a 500 ppmv inciden negativamente sobre el desempeño del sistema. Si bien, concentraciones inferiores a 50 ppmv de h2s no afectan la capacidad de oxidación de metano, 300 ppmv de h2s generan una disminución de 20% en la ce.

**Conclusiones.** El amoníaco tiene una incidencia dual sobre la bio-oxidación de metano. La bio-oxidación de metano disminuye con la presencia de ácido sulfídrico.

### TLP-63. Hydrolytic enzymes production and antagonistic activity of *Trichoderma asperellum* on two strains of fusarium isolated from tomato crop (*Solanum lycopersicum*)

Harold Alexander Vargas H.\*, Elizabeth Gilchrist R.\*

\*Univ. de Antioquia. Institución Universitaria Lasalle, Colombia.

**Introduction.** The soil fungi genera trichoderma presents global distribution. There are different biological strategies associated to its high rate of survival on different environments. To control pHytopathogenic fungi the most featured strategies are the antagonism and the production of cell wall degrading enzymes. The objective of this work was to determinate the antagonistic capacity of the isolate *T. asperellum* t109 against two native isolates of the fungus fusarium sp. (m2root; m3stem) and to evaluate the effect of different carbon sources on the production of glucanases and chitinases.

**Materials and methods.** Growth by pHytopathogen was determined by mycelial radius (RI) compared to the controls (uninoculated). Enzyme activity was evaluated according to the methodology proposed by (bara et al. 2003) as amended by marcello (et al. 2010). Sugar production was determined by the dns method described by miller (1959). The carbon sources evaluated were starch, cell wall of rhizoctonia solani (CWRS), colloidal chitin and laminarin. One enzyme unit was defined as the amount of enzyme that produces 1 µm of reducing sugar per minute under the described conditions.

**Results.** *Trichoderma asperellum* t109 showed good antagonistic activity against both pHytopathogenic isolates. We determined a 60% and 40% decrease in growth for m2root and m3stem, respectively. It was observed production of both lytic enzymes on all evaluated carbon sources. The glucanase activity was higher (p<0,05) on the substrate made with cwrs. Chitinase activity was not significative different in all substrates evaluated.

**Conclusions.** With these results we can confirm the *in vitro* antagonistic activity of *T. asperellum* t109 against pHytopathogens presents on tomato crop, and determinate that t109 isolate is a good producer of glucanases especially in minimum media with 0.5% cwrs. Still, it is essential to know the pathway used by this microorganism on such processes, in order to enhance its capacity on biotechnology.

### TLP-64. Análisis de las actividades enzimáticas extracelulares lipasa, esterasa, proteasa y pectinasa producidas por distintas especies de levaduras psicrotolerantes

Mario Esteban Carrasco T.\*, Salvador Karim Barahona C.\*, Pablo Alfonso Villarreal D.\*, Jennifer Cecilia Alcaino G.\*, Victor Hugo Cifuentes G.\*, Marcelo Enrique Baeza C.\*

\*Univ. de Chile, Chile.

**Introducción.** Una de las adaptaciones desarrolladas por levaduras para sobrevivir en ambientes fríos, es la producción de enzimas hidrolíticas extracelulares activas a bajas temperaturas, importantes para la utilización de variadas fuentes de carbono. Nuestro grupo aisló 22 especies de levaduras desde muestras de suelo de la región Antártica y analizó la existencia de 8 actividades enzimáticas en colonias de estas. El objetivo del presente trabajo fue evaluar las actividades lipasa, esterasa, proteasa y pectinasa en muestras de proteínas extracelulares.

**Materiales y métodos.** Para ello, se obtuvo sobrenadantes libres de células desde 100 mL de cultivo de cada levadura, a los cuales se adicionó sulfato de amonio (80%) y se incubó con agitación a 4°C por 45 minutos. Las muestras se centrifugaron (10.00 g, 15 min, 4°C) y las proteínas obtenidas se dializaron (10 kda tamaño de corte) en 1000 mL de buffer tris-hcl (100 mm, pH 7,0) por 12 h a 4°C. Las actividades enzimáticas fueron ensayadas a diferentes condiciones de pH y temperatura y el contenido proteico se analizó mediante sds-page y tinción de plata.

**Resultados.** Para cada actividad enzimática se observó gran variabilidad respecto a las temperaturas y pH, entre las diferentes especies de levaduras. Las mayores actividades se observaron a: lipasas, 30°C (pH 7,0); proteasas, 15°C (pH 6,5); esterasas 30°C (pH 7,0); y pectinasas 37°C (pH 5,4-6,0). No se observó una banda proteica común para una actividad de enzimática en particular, entre las diferentes especies de levaduras.

**Conclusiones.** De acuerdo con los resultados, se puede concluir que si bien existen actividades comunes a varias especies de levaduras, las enzimas producidas por cada especie serían distintas.

### TLP-65. *Escherichia coli* increases production of granular secretion in the skin of the microhylid frog *Dermatonotus muelleri*

Instituto Butantan Brasil, Flávia Ferreira Barbosa, Naiara Cristina Mascarenhas Palumbo, Ligia Ferraz Avanzi, Carlos Jared, Marta Maria Antoniazzi, Cecilia Mari Abe.

**Introduction.** Amphibians present a moisturized skin that plays a key role in their homeostasis but favors the growth of microorganisms that usually live in a delicate balance on the skin surface. When balance is disrupted, some microorganisms can become opportunistic and potentially pathogenic, contributing to amphibian population decline. *Dermatonotus muelleri* is a fossorial frog widespread in Brazilian cerrado and Caatinga. This work aims to evaluate the interaction between bacteria and *D. muelleri* skin performing *in vitro* and *in vivo* experimental infection and analyzing the results by means of morphological studies.

**Materials and methods.** For *in vitro* model, skin fragments from *D. muelleri* were individually infected with *Citrobacter freundii* and *Escherichia coli* cultures for 24 and 48 h, at 37°C. The bacterial strain presenting higher ability to adhere to the fragment was used to perform the *in vivo* assay, in which 6 animals were experimentally infected for 7 days. After sacrifice, skin samples were morphologically analyzed by light and scanning electron microscopy, and compared with fragments from a non-infected animal.

**Results.** *In vitro* assay showed that both bacterial strains were present on tissue fragments after 48 h of incubation (*E. coli* more intense than *C. freundii*). Bacterial presence was slightly increased on ventral fragments, despite restricted to areas near gland pores on the skin, or associated to granules secreted from these pores. *In vivo* assays showed that *E. coli* were not able to colonize *D. muelleri* skin after 7 days. However, a clear change on the amount of granular secretion produced on infected animals, compared to non-infected ones, was observed. Very few bacteria were observed in these preparations.

**Conclusions.** This study clearly shows that *E. coli* is unable to colonize *D. muelleri*. But, also shows that its presence increases the amount of granules coming out of the skin glands, possibly as a protective skin reaction.

### TLP-66. Compatibilidad de *Trichoderma koningiopsis* con herbicidas usados en el cultivo de arroz

Paula Elizabeth Mesa\*, Adriana Marcela Santos D.\*,  
Alba Marina Cotes\*

\*Corporación Colombiana de Investigación  
Agropecuaria Corpoica Colombia.

**Introducción.** Uno de los limitantes en la producción de arroz es la enfermedad añublo de la vaina causada por *Rhizoctonia solani*. Esta enfermedad reduce el rendimiento hasta en un 50% y para su control se aplican fungicidas altamente contaminantes. Como una alternativa surge el control biológico con el hongo *Trichoderma koningiopsis* (Th003), el cual ha demostrado ser eficaz en el control de esta enfermedad. Sin embargo, en algunas zonas arroceras se realizan aplicaciones foliares de *Trichoderma* sp. En mezcla con herbicidas pos-emergentes.

**Materiales y métodos.** Se evaluó la compatibilidad del hongo mediante la germinación (%) y las unidades formadoras de colonia (UFC). Los ingredientes activos (i.a.) evaluados fueron butaclor, propanil+triclopyr, clomazone, pendimethalin y oxadiazon a las dosis recomendadas.

**Resultados.** Con respecto a la germinación, los resultados demostraron que no existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre el tratamiento control (no expuesto) (74,1%) y los conidios mezclados con los i.a. butaclor (59,0%), pendimethalin (60,5%) y oxadiazon (73,5%). En cambio cuando los conidios de th003 estuvieron en contacto con los i.a. clomazone (36,0%) y propanil+triclopyr (0,0%), se presentaron germinaciones significativamente inferiores ( $p > 0,05$ ). Con respecto a la variable ufc, solamente el tratamiento correspondiente al i.a. propanil+triclopyr fue significativamente inferior al tratamiento control.

**Conclusiones.** Teniendo en cuenta estos resultados, se recomienda no mezclar a *T. koningiopsis* con herbicidas que tengan como i.a. propanil+triclopyr debido a que se evidenció un efecto negativo de la germinación y una pérdida del 53% de las ufc después de 6 h de contacto. Sin embargo, es necesario realizar ensayos en condiciones *in vivo* por la posible acción de la microflora sobre las moléculas de los diferentes herbicidas.

### TLP-67. Aislamiento, caracterización e identificación bioquímica de bacterias productoras de polímeros extracelulares

Guido Ernesto Villota-Calvachi\*, Laura Estefanía Loaiza-Pabon\*

\*Tecnoparque Sena, Nudo Manizales, Colombia.

**Introducción.** Las elevadas tasas de contaminación de aguas y la dificultad para su manejo ha sido una preocupación de índole mundial. Durante los últimos años, diferentes métodos para el tratamiento de aguas han sido empleados; por ejemplo el uso de floculantes. La floculación consiste en la agregación y separación de la nueva biomasa formada a partir del tratamiento de efluentes. Éste mecanismo, fue considerado en primera instancia, como un resultado de la adhesión de partículas por el material gelatinoso excretado por bacterias, las cuales forman una matriz polimérica que atrapa todo al mismo tiempo causando la coalescencia de las partículas. Desde los inicios de la investigación del tratamiento biológico de contaminantes, la floculación bacteriana (bio-floculación) ha tenido un gran impacto. En consecuencia, la presente investigación logró el aislamiento y la caracterización de bacterias productoras de polímeros extracelulares con actividad floculante; a partir de efluentes de la industria alimenticia.

**Materiales y métodos.** Para ello se realizó el aislamiento de las bacterias a partir de muestras de efluentes en medio diferencial, su respectiva purificación y evaluación de 9 características morfológicas, tinción de gram y la determinación de características metabólicas mediante la realización de 23 pruebas bioquímicas. Su identificación se hizo mediante la aplicación de pruebas API®. Adicionalmente, se realizó la cinética de crecimiento, en medio sintético de cada uno de los aislados para determinar los tiempos de duplicación.

**Resultados.** Como resultados se obtuvo la identificación de tres aislados; *Bacillus coagulans*, *Pseudomonas luteola* y *Bacillus amyloliquefaciens*. Los tiempos de duplicación oscilan entre 30 y 35 minutos.

**Conclusiones.** Los aislados bacterianos mostraron un gran potencial para la producción de polímeros extracelulares, razón por la cual se pretende dar continuidad al proyecto con el fin de determinar su actividad floculante y definir futuros y posibles usos de los aislados microbianos como parte del tratamiento primario en empresas de alimentos.

### TLP-68. Detección de proteínas involucradas en la reducción de selenito a nanopartículas de selenio por *Pantoea agglomerans* uc-32

Carla Daza C.\*, Javiera Ravanal P.\*, Víctor Campos A.\*,  
Saddys Rodríguez L.\*, María Angélica Mondaca J.\*

\*Universidad de Concepción Chile.

**Introducción.** La obtención de nanopartículas metálicas derivadas de la síntesis bacteriana, constituye en la actualidad uno de los temas relevantes en biotecnología. Reportes indican que la etapa clave en la síntesis de estas estructuras sería la reducción del metal, proceso realizado por proteínas presentes en diferentes compartimentos celulares. En este contexto *Pantoea agglomerans* uc-32 es capaz de reducir selenito (tóxico) a nanopartículas de selenio elemental, útiles en aplicaciones a nivel biológico e industrial. El mecanismo de reducción aún no ha sido descrito en esta cepa por lo que el objetivo de este trabajo fue determinar la(s) proteína(s) involucradas en la reducción de se(IV) a se(0) y su ubicación celular.

**Materiales y métodos.** *P. Agglomerans* fue cultivada en presencia de concentraciones variables de se(IV) por 48 h y se determinó la concentración de se(IV) y de se(0) en el tiempo. Además se determinó el perfil de proteínas obtenidas por fraccionamiento celular de cultivos incubados en ausencia y en presencia de se(IV) y se realizó un zimograma con las proteínas de los distintos compartimentos celulares.

**Resultados.** Se demostró la reducción de se(IV) por su disminución en el medio seguido de la aparición de un precipitado rojo correspondiente a se(0) luego de 6 h de incubación. Se demostró que no existen diferencias en el perfil de proteínas de los cultivos incubados en ausencia y en presencia de se(IV) y de acuerdo al zimograma las proteínas con actividad reductora de se(IV) se ubican en la fracción de citosol y requieren NADPH como coenzima.

**Conclusiones.** La reducción de se(IV) es dependiente de la concentración inicial de se(IV) en el medio y ésta reducción es realizada por proteínas ubicadas intracelularmente.

### TLP-69. Aislamiento de Actinomicetos provenientes de agua y sedimentos del río Guaviare (Colombia) con actividad antibacterial

Natalia Pastrana C.\*, Luis Eduardo Díaz B.\*, Carolina Arango\*,  
Zulma Rocío Suárez M.\*, Carmenza Duque B.\*

\*Universidad de la Sabana Colombia.

**Introducción.** Los Actinomicetos continúan siendo la principal fuente de antibióticos usados en la industria. El reciente interés por descubrir nuevos agentes antimicrobianos hace que sea urgente llevar a cabo investigaciones en nuevas fuentes o en lugares poco explorados, por lo cual el objetivo de la presente investigación fue llevar a cabo un estudio de bioprospección en el río Guaviare con el fin de aislar actinomicetos que presentarán actividad antibacterial.

**Materiales y métodos.** Agua y sedimentos a dos profundidades (15 cm y 1 m) de cinco sitios distintos fueron recolectados y pre-tratados con los métodos: carbonato de calcio (cc) o dilución/calentamiento (dh) y sembrados en tres medios diferentes: isp3, sc y aca (suplementado con ácido nalidixico 10 mg/mL y cicloheximida 50 mg/mL). Aproximadamente se llevaron a cabo 374 aislamientos, los cuales fueron identificados y clasificados taxonómicamente mediante la secuenciación del gen 16s. A todos los aislamientos se les evaluó la actividad antibacterial contra bacterias patógenas *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*.

**Resultados.** El pretratamiento con cc permitió una mayor selección de colonias. Se obtuvo un mayor número de aislamientos en sedimentos que en agua y se encontró que a mayor profundidad aumentó la cantidad de aislamientos. En las colonias aisladas se evidenció una alta diversidad de especies que desarrollaron diferentes morfologías, colores y pigmentos en el medio de cultivo ISP3. En total 78 actinomicetos (21%) presentaron actividad antibacterial: *E. coli* (3%), *S. aureus* (5%), *A. baumannii* (1%), *B. subtilis* (11%) y *K. pneumoniae*.

**Conclusiones.** Con este estudio pionero en el país se contribuye al conocimiento de la microbiota, específicamente a la biodiversidad de actinomicetos acuáticos presentes en este lugar que pueden llegar a convertirse en fuente promisoría de nuevos antibióticos.

### TLP-70. Produção de endoglucanases por espécies do gênero *Penicillium* da restinga de Gaubim, bahia, Brasil

Náira Suele Da Conceição S.\*, Vinícius De Jesus N., Jackeline Pereira A.\*, Carina Sousa G.\*, Phellippe Arthur Santos M.\*

\*Universidade Federal do Recôncavo da Bahia Brasil.

**Introdução.** A restinga é um ecossistema frágil e suscetível à ação antrópica onde a reciclagem de matéria orgânica vegetal tem um papel central na manutenção de algumas estruturas vegetacionais, como a formação arbustiva aberta. Contudo existe uma carência de informações sobre a composição, estrutura da comunidade e potencial biotecnológico de fungos celulolíticos deste ambiente. Em geral o gênero *penicillium* é um dos mais frequentes no solo e são reconhecidamente produtores de celulases. Portanto, o objetivo desse estudo foi avaliar a produção de endoglucanase de 52 isolados do gênero *penicillium* provenientes da serapilheira da restinga de Guaibim, bahia, Brasil.

**Materiais e métodos.** Fragmentos de 8 mm das colônias de cada isolado foram transferidos para o centro de placas de petri com meio de sais minerais suplementado com carboximetilcelulose (CMC), em triplicatas. Após 4 dias de incubação a 28°C em bod as placas foram coradas com corante vermelho congo. O índice enzimático (IE) foi determinado por meio da razão entre o diâmetro de halo de hidrólise e o diâmetro da colônia. Os isolados com ie, acima de 1,5, foram considerados como potenciais produtores de endoglucanases.

**Resultados.** No total de 42 isolados apresentaram índice enzimático acima de 1,5 sendo considerados como potenciais produtores de endoglucanases, representando 80% dos isolados avaliados. O maior índice enzimático apresentado foi do isolado 2pe3mtn (3,28) seguido dos isolados pe3mos (2,72), pe2mon (2,71) e pe5mon (2,69).

**Conclusões.** Estes resultados mostram que a comunidade de fungos celulolíticos da restinga de Guaibim possui potencial biotecnológico para produção de endoglucanases. Adicionalmente, tais resultados também reforçam a necessidade de estudos sistemáticos de diversidade microbiana como um modo de minimizar os impactos da ação antropogênica na perda de diversidade ainda desconhecida.

### TLP-71. Studies of the emulsifying properties of the biosurfactant produced by *Pantoea* sp.

Fabiola Carolina Gomes De A.\*, Grayce Kelli Barbosa Da S.\*, Patrícia Mendes De S.\*, Thayse Alves De Lima E Silva\*, Elias Basile Tambourgi\*, Galba Maria De Campos T.\*

Brasil.\*

**Introduction.** Biosurfactants are surface active molecules that are produced from a variety of microorganisms. Due to their amphipathic nature, these molecules are capable of lowering surface tension and forming micro-emulsions to enable the blending of two immiscible solutions. The aim of this work was to study the emulsifying potential of biosurfactant produced by *Pantoea* sp. using low cost medium.

**Materials and methods.** Studies were performed using pineapple peel broth (25%), corn steep liquor (5%) and post-frying vegetable fat (2%) as culture medium. Erlenmeyer flasks were incubated at 35°C, 150 rpm for 72 h. After this, were performed the surface tension measurement, extraction and characterization of the biosurfactant. The index and emulsification activity and stability of emulsions using 1% (w/v) of biosurfactant in different oils (soybean, sunflower, diesel, kerosene, mineral and almond) were studied.

**Results.** The results showed surface tension reduction of 69.67mn/m to 30.50 mn/m. The characterization analysis suggests that the biosurfactant produced is a glycolipid with anionic character. The emulsification index presented emulsions between 64.3 and 100% with activities between 2,404 and 1,376. The stability of emulsions showed consistent and stable for 30 days in NaCl concentrations (2,4,6 and 8%) at temperatures (5, 28 and 40°C) and pH (6, 7 and 8) for all oils studied.

**Conclusions.** The excellent surface tension reducing, emulsification characteristics and stability over a wide range of temperatures, pH, and salt concentrations of the biosurfactant produced by *Pantoea* sp. Grown in a low cost medium suggest the possibility of the use of this biosurfactant in commercial applications and bioremediation.

### TLP-72. *Azospirillum* sp. Occurrence in agricultural soils at meridional Amazon, Brazil

Carolina Hortêncio Malheiros\*, Ana Carla Stieven\*, Daniela Tiago Da Silva C.\*, Luiz Antônio De O.\*

\*Universidade Federal de Mato Grosso Brasil.

**Introduction.** The nitrogen fixing bacteria has shown great efficiency in the utilization of carbon sources for n2 fixation by the wide diversity of these microorganisms in the soil. Thus, the present study aimed to evaluate the occurrence of *Azospirillum* sp. Under different soil management systems in an agricultural area located in meridional Amazon, Brazil (10°24'10"s, 55°43'22" w).

**Materials and methods.** Soil samples were collected at a depth of 0-10 cm in may 2013, at six integrated soil management systems: integrated crop-livestock-forest (iclf) consisting of single, double and triple lines of eucalyptus (*Eucalyptus grandis*) and the same with paricá (*Schizolobium amazonicum*) and soil under pasture and forest as control. The *Azospirillum* sp. Quantification was made by the most probable number (mpn) methodology and the results are expressed as mpn/g dry soil.

**Results.** The results demonstrate a high amount of azospirillum sp. In soils under single line system, in both systems, soil under eucalyptus (18 mpn/g dry soil) as paricá (11 mpn/g dry soil), compared to other systems. Soils under dual line system were those with lower occurrences of *Azospirillum* sp., 6 and 1 mpn/g dry soil in soil under eucalyptus and paricá. The soil under forest and pasture had the same density of bacteria (4 mpn/g dry soil), which was expected, since the biological fixation tends to be lower in forest, possibly influenced in larger instances of this bacterium fixative in single line systems.

**Conclusions.** The results demonstrated that the plant species composition and the management type influence the *Azospirillum* sp. Number, highlighting the importance of sustainable farming practices soil to maintain these microorganisms.

### TLP-73. Enzimas extracelulares hidrolíticas producidas por Actinobacterias Antárticas

Leticia Barrientos\*, Claudio Lamilla\*, Lorena Lagos\*, Fernanda Cid\*, Milko Jorquera\*, Luis Salazar\*

\*Universidad de La Frontera Chile.

**Introducción.** Los ambientes fríos han sido colonizados con éxito por numerosos organismos, en particular bacterias, levaduras, algas unicelulares y hongos, los que han desarrollado diversas adaptaciones que les permite compensar los efectos adversos de las bajas temperaturas. Entre estas adaptaciones, las enzimas de organismos psicrófilos se han convertido en un blanco interesante en la búsqueda de posibles aplicaciones biotecnológicas. Dado lo anterior, el objetivo de esta investigación fue determinar la presencia de enzimas hidrolíticas extracelulares en actinobacterias Antárticas.

**Materiales y métodos.** A partir de muestras de suelo, aguas de mar y sedimento marino, obtenidas desde las islas Shetland del sur y península Antártica, se conformó una colección de cepas de actinobacterias, a las cuales se les evaluó la producción de enzimas hidrolíticas. Para ello se hicieron crecer en placas con medio R2A, adicionado de leche en polvo descremada (30%) y gelatina (1%) para la determinación de la actividad proteolítica; almidón soluble (0,4%) para la determinación de la actividad amilolítica; carboximetilcelulosa y tripán azul (0,4% y 0,01%, respectivamente) para la determinación de la actividad celulolítica; y tween 80 (1%) para la determinación de la actividad lipolítica.

**Resultados.** Entre las doce cepas evaluadas nueve de ellas presentaron actividad proteolítica, y cuatro demostraron actividad amilolítica. Actividad celulolítica y lipolítica sólo fue observado en una cepa. Entre las cepas evaluadas, destacan tres de ellas, que mostraron tres actividades enzimáticas de las cinco evaluadas, presentando, además, una de ellas actividad celulolítica.

**Conclusiones.** Las actinobacterias Antárticas aisladas en este estudio son una fuente promisoría de biomoléculas de interés biotecnológico, ya que la mayoría de los aislados son productores de enzimas extracelulares. Estos hallazgos establecen un punto de partida para futuras investigaciones en este ámbito. Agradecimientos: proyecto inach rt\_14-12.

### TLP-74. Densidade populacional de nitrificadores no solo submetidos a diferentes sistemas de produção de soja

Andrea De Oliveira V.\*, Suzana Da Silva O.\*, Flávia Carolina Rodrigues L.\*, Taylor Da Silva Aquino C.\*, Heiriane Martins S.\*, Daniela Tiago Da Silva C.\*, Sebastião Carneiro G.\*

\*Universidade Federal de Mato Grosso, Brasil.

**Introdução.** Há evidências de que as culturas influenciam na seleção da microbiota do solo interferindo nos processos de mineralização do nitrogênio, portanto objetivou-se quantificar o efeito de sistemas de produção de soja sobre a densidade populacional de nitrificantes do solo.

**Materiais e métodos.** O trabalho foi realizado com solo coletado nos estádios de florescimento e maturação da soja, na profundidade de 0-10 cm da estação experimental da Fundação mt, Itiquira, mt, clima tipo aw segundo köppen, em latossolo vermelho distrófico e textura argilosa. Foram avaliados os sistemas de sucessão: soja/pousio; soja/milheto; soja/milho e dois sistemas de rotação: rot1 (soja/milheto, soja/crotalária e milho + brachiaria), rot2 (soja/crotalária, soja/milho+brachiaria e brachiaria). A quantificação de bactérias nitrificantes foi realizada com meio de cultivo descrito por alef e nannipieri (1998) em microplacas, verificou a transformação de amônio a nitritos e nitratos com fitas indicadoras após 14 dias de incubação a 28°C e a estimativa do número mais provável de acordo com a tabela de man (1993). O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com quatro repetições. Os sistemas de produção constituíram as parcelas, e os estádios de desenvolvimento as subparcelas. Os dados foram submetidos à análise de variância e feitas comparações das médias pelo teste de scott-knott a 5%.

**Resultados.** Houve efeito dos estádios de desenvolvimento para a população de micro-organismos nitrificantes. A população de nitrificantes foi maior na maturação da cultura da soja sugerindo maior participação deste grupo na decomposição dos resíduos visto a senescência total da planta e condições de altas temperaturas e umidades favoráveis à decomposição. A fase inicial é caracterizada pela decomposição dos compostos solúveis, portanto é predominante a comunidade microbiana que metaboliza fontes de c e n e que estão tipicamente presentes sobre a superfície dos resíduos.

**Conclusões.** Os estádios de desenvolvimento influenciam a densidade populacional de nitrificantes e não os sistemas de produção.

### TLP-75. Evaluación *in vitro* del potencial controlador de Basidiomycetes sobre poblaciones de *Meloidogyne spp.*

Jenifer Andrea Galeano S.\*, Janeth Alexandra Sierra M.\*, Patricia Eugenia Vélez A.\*, Juan Carlos López N.\*, Nelson Rodríguez V.\*

\*Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé Colombia.

**Introducción.** El trabajo se llevó a cabo en el centro nacional de investigaciones de café, cenicafé, Chinchiná-Caldas, con el objetivo de evaluar la acción biocontroladora de los hongos *Basidiomycetes*, *Pleurotus ostreatus*, *P. pulmonarius*, *P. sajor-caju* y su mezcla, en tres concentraciones diferentes, sobre poblaciones de nematodos del género *Meloidogyne spp.*, en estadio j2. Como testigo se evaluaron dos productos comerciales un químico y un biológico.

**Materiales y métodos.** Las pruebas de patogenicidad se realizaron *in vitro* utilizando cajas de petri como unidad experimental. Las variables evaluadas fueron: porcentaje de individuos móviles, afectados, inmóviles y muertos, con un tiempo de 24, 48 y 72 h de exposición de los j2 al tratamiento. El experimento se realizó bajo un diseño completamente aleatorio conformado por 10 repeticiones y 25 individuos en cada repetición.

**Resultados.** El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0,05$ ) y la prueba de comparación de promedios (duncan 95%) mostró que los tratamientos *P. ostreatus* y la mezcla de los tres hongos, a las 72 h de exposición a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , causaron los mayores porcentajes de población afectada (82,8% y 86,0%, respectivamente); para esta misma variable, los valores registrados con el producto químico y biológico fueron de 38,4% y de 56,8%, respectivamente.

**Conclusiones.** El efecto nematocida y/o nematostático demostrado, hace que la innovación de productos biológicos, para tal fin, tengan potencial de alcanzar desarrollos empresariales.

### TLP-76. Adaptação morfológica de bactérias crescendo com fenol como fonte de carbono e energia

Guillermo Ladino-Orjuela\*, Eleni Gomes\*

\*Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - IBILCE. Universidade Estadual Paulista - Júlio de Mesquita Filho - UNESP Brasil.

**Introdução.** É reportado que condições deficitárias de nutrientes, no meio de cultura, fazem com que as bactérias mudem a sua fisiologia, a expressão de genes, alterem a estrutura da parede ou da membrana celular, ou façam deslocamento. Os hidrocarbonetos aromáticos apresentam baixa biodisponibilidade. Estudos mostra que o uso dessas substâncias como fonte de carbono e energia gera condições semelhantes a uma deficiência nutricional. Objetivo. Determinar a resposta adaptativa morfológica de bactérias degradadoras de fenol.

**Materiais e métodos.** Bactérias isoladas de solos com histórico de contaminação por hidrocarbonetos foram cultivadas em erlenmeyer de 50 mL contendo 20 mL de meio líquido mineral -  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 1.0 g;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1.0 g;  $\text{MgSO}_4$ , 0.2 g;  $\text{CaCl}_2$ , 0.02 g,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 1.0 g,  $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ , 0.05 g - e querosene 2% como fonte de carbono e energia, durante sete dias em incubadora horizontal a 27°C, agitação de 200 rpm, escuridão total. Foi utilizado o método de coloração gram para determinar a morfologia celular. Utilizou-se a técnica de coloração de nankin para determinar a presença de cápsula nas bactérias. A identificação das bactérias foi por biologia molecular com amplificação do fragmento que codifica a subunidade 16S rRNA com clonagem em células miocromopentes *E. coli* DH5- $\alpha$ .

**Resultados.** Todas as UFC analisadas apresentaram formação de cápsula. A técnica de gram mostrou ufc redondas, cocoides. A identificação por técnicas moleculares mostrou que as bactérias correspondem com o gênero *Pseudomonas sp.*

**Conclusões.** As bactérias testadas são capazes de degradar o fenol e utiliza-lo como fonte de carbono e energia. As *Pseudomonas sp.* são reconhecidas morfológicamente como bacilos em condições ambientais favoráveis, o fato da coloração de gram evidenciar UFC cocoides mostra que a redução de tamanho é a resposta adaptativa dessas bactérias, em condições de crescimento com um hidrocarboneto aromático como o fenol.

### TLP-77. Catabolism of benzene by the bacterium *Cupriavidus metallidurans ch34*

Felipe Millacura\*, Valentina Méndez\*, Francisco Montero\*, Franco Cárdenas\*, Luis Rojas\*, Michael Seeger\*

\*Universidad Técnica Federico Santa María y Centro de Investigación Científico Tecnológico para La Minería, Cicitem Chile.

**Introduction.** *Cupriavidus metallidurans ch34* possesses resistance to a wide range of heavy metals mediated by efflux, complexation and reduction systems. On the other hand, strain ch34 possesses the genes for the degradation of aromatic pollutants, but their functions have not been studied. The aim of this study is to analyze the functionality of catabolic pathways from *C. metallidurans ch34* involved in the degradation of benzene.

**Materials and methods.** Bioinformatic analyses of benzene catabolic pathways in the genome of *C. metallidurans ch34* were performed. Bacterial growth on benzene at different concentrations as only carbon source was characterized. Additionally, the expression of genes encoding monooxygenases and dioxygenases from benzene pathways was analyzed by RT-QPCR. Dmpb and toma enzymatic activities were measured in resting cells assays and hplc analysis.

**Results.** *C. Metallidurans ch34* was able to grow on benzene at concentrations up to 5 mm as sole carbon source. Biotransformation of benzene by a multicomponent toluene-benzene monooxygenases (toma012345) was observed. Meta cleavage of the catechol ring by a catechol-2,3-dioxygenase (dmpb) was determined. The peripheral pathway converted benzene into catechol. The central pathway opened the catechol ring by a catechol-2,3-dioxygenase.

**Conclusions.** In conclusion, *C. metallidurans* strain ch34 has functional benzene degradation pathways. *C. metallidurans ch34* could have the capabilities to degrade aromatic compounds in heavy metals polluted soils, allowing novel bioremediation applications for complex polluted environments. Acknowledgments: fondecyt 11130117 (I/r), usm 131342 (ms), conicyt fellowships (vm) and cn&bs grants.

### TLP-78. Perfil metabólico de *Acinetobacter* sp. na presença de cobre

Louise Hase G.\*, Ingrid Regina A.\*, Marcela Dos Passos Galluzzi B.\*, Bruno Karolski\*, Luciana Jandelli G.\*, Claudio Augusto Oller Do N.\*, Elen Aquino Perpetuo\*

\*Centro de Pesquisa e Capacitação em Meio Ambiente Cepema - Poli/Usp Brasil.

**Introdução.** A poluição com metais pesados consiste em um dos problemas ambientais mais importantes desde a revolução industrial. Ambientes contaminados com metais pesados exercem uma pressão evolutiva em diversas populações de seres vivos e em especial nas populações microbianas, as quais apresentam mecanismos de resistência codificados por cromossomos, plasmídeos ou transposons a esses metais. Na tentativa de melhor entender esses mecanismos, a proteômica é uma ferramenta que vem sendo empregada no estudo de proteínas e metabolismos envolvidos nesta resistência, o que pode contribuir muito nas estratégias de biorremediação. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi de identificar as proteínas expressas na presença de cobre de uma cepa isolada de *Acinetobacter* sp., utilizando a técnica de eletroforese bidimensional e espectrometria de massas (maldi – tof/tof).

**Materiais e métodos.** A bactéria isolada da mina de sossego, estado do Pará, Brasil, identificada como *Acinetobacter* sp. Foi crescida em meio mjs (controle) e em meio mjs + cucl<sub>2</sub>(5 mm). Após 24 h de crescimento as proteínas citosólicas foram extraídas e submetidas ao processo de eletroforese bidimensional. Os spots destas proteínas foram digeridos com tripsina e identificados por espectrometria de massas (maldi- tof/tof).

**Resultados.** *Acinetobacter* sp. quando submetida a diferentes condições de crescimento, apresentou 150 proteínas expressas no controle (sem cobre) e 95 proteínas expressas na presença de cobre. Destas, 25 proteínas resultaram em expressão diferenciada, ou seja, apresentaram expressão aumentada ou diminuída. Das 16 proteínas identificadas até o momento, a proteína copb, membro de uma família proteica envolvida na ligação de íons livres cu<sup>+1</sup>/cu<sup>+2</sup> no periplasma, foi encontrada.

**Conclusões.** Este resultado sugere que a *Acinetobacter* sp. Possui um metabolismo de processamento de cobre e apresenta potencial de bioabsorção. Este mecanismo terá seu estudo aprofundado, visando a atualização do metabolismo descrito com vistas ao desenvolvimento de estratégias de biorremediação de efluentes metálicos.

### TLP-79. Triagem da produção de enzimas do complexo celulolítico por isolados de Actinobactérias do solo do cerrado goiano

Ariana Alves Rodrigues\*, Bruno Francesco Rodrigues De O.\*, Petain José Ferreira N.\*, Renan De Souza S.\*, Igor Daniel Alves R.\*, Thaís Maitan V.\*, Aysha Jussara Ivonilde C.\*, José Daniel Gonçal\*

\*Universidade Federal de Goiás Brasil.

**Introdução.** Celulases microbianas constituem um interessante foco na pesquisa biotecnológica, principalmente para a produção de biocombustíveis a partir de biomassa lignocelulolítica. As actinobactérias desempenham um papel ecológico fundamental nos estágios mais tardios de decomposição de polímeros vegetais complexos e recalcitrantes a partir da produção de celulases e hemicelulases solúveis, o que torna esses procariotos promissores para a bioprospecção dessas enzimas. Avaliar a geração de enzimas do complexo celulolítico por isolados de actinobactérias do solo do cerrado goiano.

**Materiais e métodos.** Para analisar a produção de enzimas celulolíticas foi empregado agar bushnell-hass (BH), suplementado com bagaço de cana-de-açúcar e serragem de bambu (celulase total) carboximetilcelulose (endoglucanase), celulose microcristalina (exoglucanase) e pó de sabugo de milho (xilanase). Para a atividade de  $\alpha$ -glucosidase, o ágar bh foi acrescido de esculina e citrato férrico amoniacal. Aliquotas de 25  $\mu$ l das suspensões de esporos dos isolados foram inoculadas na superfície das diferentes placas de petri e incubadas a 30°C por seis dias. O índice enzimático (ie) foi então calculado após a revelação dos testes com aplicação de solução de lugol, exceto para a determinação da atividade de  $\alpha$ -glucosidase.

**Resultados.** Dos 19 isolados testados, 17 (89,4%) apresentaram atividade de celulase total pela degradação de bagaço de cana-de-açúcar e 18 (94,7%) com serragem de bambu como substrato, assim como,

produção de endoglucanase, exoglucanase e xilanase. Os ies variaram de 1,5 a 5,16. Somente o isolado a18 exibiu resultado positivo para a geração de  $\alpha$ -glucosidases.

**Conclusões.** Notou-se que os isolados de actinobactérias testados apresentam potencial para a produção das enzimas do complexo celulolítico. Ensaio de padronização desta produção e caracterização enzimáticas estão sendo realizados para futura aplicação biotecnológica das mesmas.

### Tlp-80. The effect of alkaline pretreatment of sugarcane bagasse on enzymatic production by *Aspergillus* strains from Brazilian cerrado

Bruna Silveira Lamanes Dos S.\*, Gustavo De Castro S.\*, Mariana Alves H.\*, Daniel Pasquin\*, Milla Alves Baffi\*

\*Uberlândia Federal University Brasil.

**Introduction.** The increasing demand for energy has stimulated the research for alternative renewable sources. The second generation ethanol is one promising option, once it uses the residue from the ethanol production, the sugarcane bagasse, as raw material. An efficient hydrolysis of this waste involves the enzymatic attack of biomass which can also be facilitated by a chemical or pHysical pretreatment. In the present work, the effect of the alkaline pretreatment using hydrogen peroxide was evaluated on the production of cellulases and hemicellulases by *aspergillus fumigatus* and *Aspergillus sydowii* strains isolated from Brazilian cerrado.

**Materials and methods.** Solid state fermentation (SSF) using wheat bran and crude bagasse (BB) or pretreated bagasse (BT) as substrates was carried out for fungi growth. After ssf, the enzymatic activities were assayed.

**Results.** The production of  $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -xylosidase and xylanase using bt by *Aspergillus sydowii* showed maximum activities of 18.2 u/g, 5.97 u/g and 15.53 u/g, respectively. However, these values were lower than those produced when bb was used, respectively, 60 u/g, 8.8 u/g and 19 u/g. *Aspergillus fumigatus* exhibited lower enzymatic production of  $\alpha$ -glucosidase and xylanase when BT was used (22.3 u/g in comparison with 54 u/g for  $\alpha$ -glucosidase using BB, and 20.84 u/g in comparison with 574 u/g for xylanase). Regarding avicelase, *aspergillus sydowii* was the unique strain that produced this enzyme, being this production only observed when ssf was performed using bt, with a peak of activity of 7.74 u/g after 96 h of fermentation. In order to understand the reduction of enzymatic production, BB and BT were chemically characterized.

**Conclusions.** The results indicated that this pretreatment was not very efficient for lignin removal (reduction of around 30%) and to improve the access to the hemicellulosic fraction, justifying this lower enzymatic production and suggesting that other methods might be investigated in further approaches.

### Tlp-81. Confirmación en la identificación de microorganismos por la secuenciación de regiones universales como herramienta taxonómica en la colección nacional de cepas microbianas y cultivos celulares

Daniel Alfonso Estrada B.\*, Jovita Martínez C.\*, Juan Carlos Estrada M.\*, Armando Sánchez-Chavarría\*

\*Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, México

**Introducción.** La colección nacional de cepas microbianas y cultivos celulares (cddb-500, registro en la wfcc) tiene como objetivo dar el servicio de conservación e identificación de cepas de referencia y aislamientos de importancia biotecnológica. La identificación taxonómica de microorganismos es una necesidad para verificar, clasificar y ordenar las diferentes estirpes. Objetivo confirmar la clasificación taxonómica de las cepas de la cddb-500, y de los servicios por métodos moleculares.

**Materiales y métodos.** La técnica molecular utilizada para la identificación dentro de la cddb-500 es la secuenciación de fragmentos de ADN ribosómico, 16s para bacterias (oligonucleótidos 27f y 1492r) y regiones its (oligonucleótidos its5 y its4) para hongos y levaduras.

**Resultados.** De 86 cepas, 61 son bacterias, 23 levaduras y 2 hongos filamentosos. El 69% de estas tiene con una identificación previa o realizada con pruebas fenotípicas simultáneamente en los servicios solicita-



dos. El 80% presentó una correspondencia a nivel de género y especie; el 88% a nivel de género y el 95% tuvieron el mismo orden y sólo el 5% no correspondían la identificación taxonómica previa.

**Conclusiones.** La identificación molecular confirmó la clasificación taxonómica de 47 cepas, de las cinco que sólo corresponden a género son especies recién descritas, y las que eran del mismo orden (4 cepas), los géneros tienen las mismas características fenotípicas. De las cepas (3) que no concordaron, una presenta clasificación no válida y las otras están bajo estudio para resolver las diferencias existentes.

### TLP-82. Carbono da biomassa microbiana em sistemas de integração lavoura-pecuária em Mato Grosso-Brasil

Amanda Ribeiro Correa A.\*, Heiriane Martins Sousa Heiriane M.\*, Bárbara De Motta Silva B.\*, Suzana Da Silva Oliveira\*, Andréia De Oliveira Vieira A.\*, Daniela Tiago Da Silva Campos D.\*

\*Universidade Federal de Mato Grosso - UFMT Brasil.

**Introdução.** A biomassa microbiana do solo é integrada por bactérias, fungos e actinomicetos, sendo estes de grande importância para a manutenção e decomposição da matéria orgânica do solo e a ciclagem de nutrientes. Objetivou-se avaliar o efeito de diferentes sistemas de integração lavoura-pecuária (ilp) sobre o aporte de carbono da biomassa microbiana (cbm) no solo.

**Materiais e métodos.** Para isso, avaliou-se o comportamento da microbiota em áreas localizadas no município de Santa Carmem, mato grosso, durante os anos de 2012 e 2013. As coletas de solo foram realizadas no mês de janeiro nos dois anos, pois este é o período de maior abrangência de chuvas na região, na profundidade de 0 a 20 cm, com a retirada de amostras deformadas para a realização das análises. O cbm do solo quantificado pelo método da fumigação-incubação das amostras, e os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas por meio do teste de tukey ( $p < 0,05\%$ ).

**Resultados.** No ano de 2012 os maiores valores do cbm foram obtidos na área de ilp onde foi realizado o plantio de leguminosa e gramíneas consorciadas ao longo do ano, prática esta que melhora a população microbiana do solo, devido ao fornecimento de variadas fontes de matéria orgânica para serem metabolizadas. Em 2013 maiores valores do cbm foram observados pela área de leguminosa em sucessão com gramínea, juntamente com a área de mata nativa, não diferindo estatisticamente entre si.

**Conclusões.** Portanto, o sistema de ilp proporcionou resultados positivos quanto à microbiota do solo, tornando os resultados até melhores do que os da mata nativa, conferindo aos sistemas de integração lavoura-pecuária uma prática de incorporar carbono no solo com um potencial de sustentabilidade agrícola.

### TLP-83. Presencia y abundancia de *Serratia marcescens* en *Atta cephalotes* (Hymenoptera: myrmicinae) en Cali-Colombia

Diana Sofia Ortiz G.\*, Sandra Valencia\*, James Montoya L.\*

\*Universidad del Valle Cali-Colombia.

**Introducción.** Las hormigas cortadoras de hojas (Tribu Attini) movilizan grandes cantidades de material vegetal para el cultivo de su hongo simbionte *Leucoagaricus gongylophorus*. En parte, el éxito de esta relación simbiótica se debe a mecanismos especializados que impiden la entrada de contaminantes a la colonia. Una de estas estrategias es la relación con microorganismos exosimbiontes. En *Atta cephalotes* se ha encontrado la bacteria *Serratia marcescens* en las diferentes castas, sugiriendo una posible protección de las colonias debido a la producción de prodigiosina, lo cual explicaría el poco suceso de los agentes de control biológico. Objetivo. En este estudio se evaluó la presencia de *S. marcescens* en diferentes etapas de desarrollo de colonias de *A. cephalotes*.

**Materiales y métodos.** En zona rural de Cali, se colectaron 10 hembras y 10 machos alados durante el vuelo nupcial y, por separado, 10 reinas de nidos recién fundados con sus respectivas muestras de suelo. Además, se marcaron seis nidos en campo y se escogieron cuatro colonias mantenidas en el laboratorio de hormiga arriera en la estación experimental de la universidad del valle, de los cuales se colectaron obreras desde agosto hasta diciembre de 2013. A todas las muestras se les determinó la abundancia de bacterias heterótrofas totales.

**Resultados.** Se aislaron cuatro morfoespecies dominantes, de las cuales una fue confirmada como *S. marcescens*, dos compatibles con *Bacillus* y una sin determinar. En general, *S. marcescens* y *Bacillus* sp.1 fueron las más abundantes y aparecieron en las diferentes etapas de desarrollo de *A. cephalotes* evaluadas.

**Conclusiones.** Se sugiere que esta bacteria está asociada a todas las etapas e individuos de las colonias de *A. cephalotes*, posiblemente implicada en la protección de las hormigas y su hongo simbionte.

### TLP-84. Respiração basal em solos sob sistemas de produção de soja

Taylor Da Silva Aquino C.\*, Andreia De Oliveira V.\*, Flavia Carolina Rodrigues L.\*, Heiriane Martins S.\*, Ana Mirlielle Dias Da S.\*, Daniela Tiago Silva C.\*, Sebastião Carneiro G.\*

\*Universidade Federal do Mato Grosso Brasil.

**Introdução.** As bactérias e os fungos são os principais responsáveis pela maior liberação de CO<sub>2</sub> via degradação da matéria orgânica (mo), portanto a respiração basal do solo esta diretamente relacionada à atividade microbiana do solo. Teve-se como objetivo quantificar em cinco sistemas de produção de soja, a respiração basal do solo.

**Materiais e métodos.** O trabalho foi realizado com solo coletado nos estágios de florescimento e maturação fisiológica da cultura da soja, na profundidade de 0-10 cm da estação experimental da Fundação mt, município de Itiquira, mt, clima tipo aw segundo köppen, em latossolo vermelho distrófico e textura argilosa. Foram avaliados os sistemas de sucessão soja/pousio; soja/milheto; soja/milho e dois sistemas de rotação de culturas: rot1 (soja/milheto, soja/crotalaria e milho + brachiaria no primeiro, segundo e terceiro ano respectivamente), rot2 (soja/crotalaria, soja/milho+brachiaria e brachiaria no primeiro, segundo e terceiro ano respectivamente). As avaliações foram feitas a partir da determinação da respiração basal baseada nos procedimentos propostos por Jenkinson & Powlson (1976), ajustando a umidade do solo para 60% da capacidade de campo. O delineamento experimental em blocos casualizados, com quatro repetições. Os sistemas de produção constituíram as parcelas, e os estágios de desenvolvimento as subparcelas. Os dados foram submetidos à análise de variância e feitas comparações das médias pelo teste de Scott-Knott a 5%.

**Resultados.** A respiração basal, variou nos diferentes sistemas de produção e houve interação com os estágios de desenvolvimento.

**Conclusões.** As maiores liberações de c-co<sub>2</sub>, no período de florescimento foram nos sistemas de pousio e sucessão soja/milheto e soja/milho indicando maior atividade da microbiota, possivelmente estimulada pela liberação e constante deposição de exsudatos da cultura da soja e na maturação fisiológica o sistema em pousio apresentou a maior respiração basal e superior ao florescimento sugerindo efeito da deposição e decomposição das folhas da cultura da soja.

### TLP-85. Controle de qualidade na micropropagação de cana-de-açúcar através da identificação de bactérias pelo Maldi-Tof/MS

Milca Rachel da Costa Ribeiro L.\*, Clícia Régia Figueiredo Ferreira de L.\*, Marcelo Bezerra de A.\*, Elisângela Cabral da S.\*, Daniel Cirilo dos S.\*, Mariana Nascimento Vieira da C.\*, Lucas Gabriel Xavier de B.\*, Graciely Gomes C. †, Aurea Alice Oliveira da S.\*

\*Biofábrica Governador Miguel de Arraes/Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE). Recife-PE. †Depto. de Antibióticos/Universidade Federal de Pernambuco. Recife-PE.

**Introdução.** A cana-de-açúcar tem alta importância socioeconômica para o Brasil, principalmente na região nordeste, e a micropropagação *in vitro* desta planta permite a disponibilização rápida de material para plantio isento de pragas e fitopatógenos permitindo propagação em um curto período de tempo e aumento na qualidade fitossanitária das mudas. Este estudo teve por objetivo a identificação de 10 amostras de bactérias isoladas durante as etapas de micropropagação das variedades de cana-de-açúcar rb 92579, rb 86 7515 e sp 81 3250 por uma tecnologia avançada e rápida, maldi-tof/ms, para controle de qualidade das mudas.

**Materiais e métodos.** As bactérias foram semeadas, com auxílio da alça de platina calibrada em 10 microlitros, em placas de petri contendo 10 mL de meio ágar nutriente para isolamento dos micro-organismos. Após cultivo, as colônias isoladas foram transferidas com auxílio de ponteira

estéril para as placas de aço inox. Foi adicionado em cada amostra 1,5 µl de matriz: acetona nitrila (50%) e ácido trifluoroacético (0,3%). A placa foi submetida ao equipamento da Bruker Daltonik Maldi, a qual um laser nd:yag fase sólida ( $\alpha = 355$  nm) ionizou o material, e assim as amostras foram volatilizadas e os espectros de massas obtidos foram analisados pelo software da Bruker.

**Resultados.** Neste estudo, foram identificadas 50% das bactérias, as quais pertencem às espécies *Bacillus megaterium* (2), *Burkholderia cenocepacia* (1), *Pantoea dispersa* (1), como também foi observado a ocorrência do gênero *Enterobacter* sp. (1). Estes micro-organismos ocorrem tanto nos tecidos de plantas (endofíticos) quanto em diversos solos, especialmente em rizosferas, atuando como promotores de crescimento vegetal e beneficiando a sobrevivência das plantas no ambiente.

**Conclusões.** Portanto, a identificação rápida e eficaz de espécies mais frequentes de bactérias que crescem nos meios de cultura utilizados na micropropagação é necessária para diferenciar micro-organismos benéficos ocasionando o controle de fitopatógenos e aumentando a qualidade das culturas vegetais.

### TLP-86. Fatores de virulência em isolados do gênero *Vibrio* spp. em ambientes de carcinicultura

Francisca Gleire Rodrigues De M.\*, Rosa Helena Rebouças\*, Thiara Do Amaral Ferreira\*, Daniel Rodrigues Dos S.\*, Rafael Dos Santos R.\*, Wesley Estevam B.\*, Deborah Oliveira A.\*, Pedro Carlos\*

\*Universidade Federal do Ceará, Brasil.

**Introdução.** O ambiente de manguezal permite o desenvolvimento de diferentes atividades, uma delas é a carcinicultura, que utiliza antimicrobianos como agente terapêutico. Bactérias do gênero *Vibrio* ficaram conhecidas por atuar como reservatório e veículo de resistência desses fármacos, além de apresentarem potenciais fatores de virulência, tornando-as potencialmente patogênicas a humanos. Objetivo: determinar os fatores de virulência de cepas do gênero *Vibrio* spp. Isoladas de ambientes de carcinicultura nos estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte, Brasil.

**Materiais e métodos.** As coletas foram realizadas em seis fazendas de carcinicultura: duas no estado do Ceará, duas no Piauí e duas no Rio Grande do Norte. Em cada fazenda foram analisadas amostras de água, sedimento e camarão (36 amostras de água e 36 de sedimento), no canal de abastecimento, canal drenagem, viveiro e estuário, uma de água e uma de sedimento, respectivamente. Nas amostras de camarão foram analisados o músculo (seis), hemolinfa (12) e hepatopâncreas (12). A identificação fenotípica foi realizada utilizando chave dicotômica. Foi realizado teste de suscetibilidade a antimicrobianos frente a diferentes antibióticos empregados na carcinicultura. Os fatores de virulência avaliados foram: gelatinase, elastase, fosfolipase, lipase, caseinase e  $\alpha$ -hemólise.

**Resultados.** De 358 cepas isoladas, 170 foram identificadas. Foram avaliadas 136 cepas para o perfil de suscetibilidade a diferentes antimicrobianos. Foram encontrados 16 perfis, dentre 51 cepas que apresentaram perfil de multirresistência. Dessas, 50 foram testadas frente aos fatores de virulência avaliados, apresentando positividade a pelo menos três dos seis fatores estudados.

**Conclusões.** Embora os resultados tenham demonstrado um baixo índice de positividade em relação aos fatores de virulência, os perfis de multirresistência obtidos das cepas confirmam a necessidade de monitoramento do ecossistema, carcinicultura, local de circulação de agentes patogênicos e fontes contaminantes de risco à saúde pública.

### TLP-87. Efecto de la urea en la cinética de degradación de herbicidas ácidos: mcpa, flumetsulam y fluroxipir

Graciela Palma\*, Tatiana Fernández\*, María De La Luz M.\*, Rolando Demanet\*, Gabriela Briceño\*

\*Scientific and Technological Bioresource Nucleus, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

**Introducción.** La degradación microbiana de los herbicidas es el principal mecanismo de degradación en suelo y determina su persistencia y eficacia en sistemas agrícolas. Por otra parte, la aplicación de urea, como fertilizante nitrogenado, modifica el pH del suelo afectando la sorción, movilidad y biodisponibilidad de los herbicidas. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la urea en la cinética de degradación de herbicidas ácidos utilizados en el control de malezas en praderas.

**Materiales y métodos.** El suelo utilizado corresponde a un andisol con 12% de materia orgánica y pH 5,6. Los suelos fueron puestos en bolsas plásticas conteniendo urea en dosis equivalentes a 200 y 400 kg n ha<sup>-1</sup>. Los herbicidas fueron aplicados 24 h. Después de aplicada la urea, en la dosis recomendada y el doble de la dosis de campo (mcpa: 1 y 2 L ha<sup>-1</sup>; flumetsulam 60 y 120 g ha<sup>-1</sup>; fluroxipir 1,5 y 3,0 L ha<sup>-1</sup>). Las muestras de suelo fueron tomadas periódicamente y extraídas con metanol acidificado y analizadas por HPLC-DAD.

**Resultados.** Flumetsulam presentó una menor degradación a mayor dosis de urea, el t<sub>1/2</sub> aumentó un 24% respecto al presentado en suelos sin aplicación de urea. El t<sub>1/2</sub> de mcpa y fluroxipir no se vio modificado significativamente en estas condiciones. Dependiendo la dosis de urea, inicialmente hubo un aumento de 0,4-0,8 unidades de pH, observándose, después de 10 días una leve acidificación del suelo. Esto significa que, inicialmente, gran parte de las moléculas estaban en sus formas aniónicas, quedando más disponibles para la degradación, exceptuando flumetsulam que entre pH 5 y 6 se encuentra en un 28% en su forma molecular.

**Conclusiones.** Uno de los factores que mayormente pareciera influir es el pH del suelo modificado por la aplicación de urea que regula la biodisponibilidad del herbicida, en relación a su forma molecular. Agradecimientos: proyecto fondecyt 1120467.

### TLP-88. Potencialidade de rizobactérias promotoras de crescimento associadas à cultura do pinhão-mansô (*Jatropha curcas*)

Paula Cristiane\*, Fernanda Scatolim\*, Bruna Durante\*, Maria Carolina\*, João Lúcio\*, Paulo Teixeira\*

\*Universidade Federal de São Carlos – UFSCAR, Brasil.

**Introdução.** O pinhão-mansô é uma planta arbustiva conhecida por suas propriedades farmacológicas e produção de biocombustível. Dentre os grupos de bactérias com grande potencial para utilização na agricultura encontram-se as rizobactérias promotoras de crescimento de vegetal. A promoção de crescimento por bactérias rizosféricas pode ser dada pela fixação biológica de nitrogênio (fbn), solubilização de fosfato e produção de hormônios, como ácido indol acético (aia) e sideróforos. O objetivo foi verificar a produção de aia, sideróforos, fbn e solubilização de fósforo inorgânico por rizobactérias associadas ao pinhão-mansô para promoção de crescimento vegetal.

**Materiais e métodos.** Amostras da rizosfera da cultura do pinhão-mansô foram utilizadas para o isolamento de rizobactérias. Após o crescimento, as colônias bacterianas foram purificadas e testadas quanto: solubilização de fosfato, fbn, produção de aia e produção de sideróforo.

**Resultados.** 45 isolados de rizobactérias, 39 apresentaram produção de aia (86%); sendo que 5 isolados tiveram uma produção expressiva desse hormônio, com destaque para um isolado que produziu 739,5 µg/mL, número este expressivo para produção de aia. Em um estudo recente com bactérias visando a promoção de crescimento em pinhão-mansô o maior valor obtido de produção de aia por bactérias foi de 25 µg/mL. Para solubilização de fosfato inorgânico 46% dos isolados rizosféricos foram positivos para esse parâmetro de promoção de crescimento. Os resultados da fbn indicam que 57% dos isolados foram positivos. Entretanto, para a produção de sideróforo apenas 2 isolados foram positivos.

**Conclusões.** Os resultados indicam o potencial dessas bactérias para promoção de crescimento, principalmente em função da produção de aia. Além disso, o número de isolados positivos para fbn e solubilização de fosfato foram também expressivos.

### TLP-89. Avaliação qualitativa da atividade antimicrobiana de Actinobactérias endofíticas isoladas de folhas de *Moringa oleifera*

Igor Felipe Andrade Costa De S.\*, Rosilma De Oliveira A.\*, Maria Cláudia Valério Vicalvi C.\*, Kêsia Xisto Da Fonseca Ribeiro De S.\*, Patrícia Maria Guedes P.\*, Janete Magali De A.\*, Luana Cassand\*

\*Universidade Federal de Pernambuco Brasil.

**Introdução.** Micro-organismos endofíticos colonizam tecidos saudáveis de plantas, sem causar danos aparentes. Actinobactérias são mi-

organismos procariotos Gram-positivos amplamente conhecidos na produção de compostos bioativos. *Moringa oleifera* é uma árvore com frutos que produzem sementes aladas, folhas grandes bipinadas e flores brancas perfumadas, podendo se desenvolver em condições irrigadas ou secas, sendo pouco exigente em relação ao tipo de solo e fertilização. Este trabalho objetivou avaliar a atividade antimicrobiana, através do teste qualitativo de bloco de gelose, de actinobactérias isoladas de folhas de *M. oleifera*.

**Materiais e métodos.** As actinobactérias endofíticas isoladas foram semeadas em tapete sobre a superfície do meio isp-4 (inorganic salt starch agar), incubado a 30°C, por sete dias. Posteriormente, foram feitos blocos de gelose com um furador apropriado e transferidos para a superfície do meio muller-hinton e sabourand, semeados com 100 µl de uma suspensão de concentração de 108 ufc/mL de bactérias e leveduras, respectivamente. O ensaio foi realizado em triplicata. Os micro-organismos teste utilizados foram *Staphylococcus aureus*; *Micobacterium smegmatis*, *Bacillus subtilis*; *Micrococcus luteus*; *Escherichia coli*; *Klebsiella pneumoniae*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Candida albicans* e *C. cruzi*.

**Resultados.** Dos 40 micro-organismos isolados, 5 (12,5%) apresentaram atividade inibitória para os Gram negativos, com halos variando de 15 a 25 mm. Um total de 13 endofíticos (32,5%) foram ativos contra Gram positivos, com halos de 10 a 35 mm. Atividade contra as leveduras foi observada em 10 actinobactérias (25%), com halos entre 10 e 20 mm. Apenas 3 endofíticos foram ativos contra todos os micro-organismos teste, porém não diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) entre si em relação aos valores dos halos de inibição para cada grupo testado.

**Conclusões.** Ratifica-se a característica das actinobactérias como excelentes produtoras de compostos com atividade antimicrobiana, sugerindo um estudo posterior das três linhagens que apresentaram um grande espectro de ação.

### TLP-90. Secondary screening of antimicrobial activity of crude extracts derived from isolated actinobacteria from several habitats against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Bruno Francesco Rodrigues De O.\*, Ariana Alves Rodrigues\*,  
Petain José Ferreira N.\*, Lia Costa Pinto W.\*, Aysha Jussara Ivonilde C.\*,  
Tháís Maitan V.\*, José Daniel Gonçalves V.\*

\*Universidade Federal de Goiás Brasil.

**Introduction.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) deserves highlight for its fast resistance development to a broad set of antimicrobials, such that in the next years, the treatment of infections caused by this bacteria will be an arduous challenge to be solved. In this context, the bioprospecting of antibiotic-producing microorganisms is primordial for the discovery of new drugs, and the actinobacteria still stand out as a rich source of these bioactive metabolites. Determination of antimicrobial activity of crude extracts derived from cultivation of actinobacteria from diverse habitats against clinical samples of MRSA.

**Materials and methods.** Eight isolates of actinobacteria were cultivated in the ISP-2 production medium, on both agar and broth forms. After the 14 days of incubation, the bioactive compounds were extracted by treatment with different organic solvents and the obtained crude extracts were concentrated using a rotary evaporator. The evaluation of antimicrobial activity of the extracts derived by the growth in liquid (elc – extract from liquid cultivation) and solid (esc – extract from solid cultivation) media was carried out by the well diffusion technique.

**Results.** The esc of the isolate a22 and both the extracts of the isolate adu 1.3 presented an excellent bioactivity level against all the 4 clinical strains of MRSA, with the diameters of the inhibition zones above 20 mm. The elcs of the isolates guara 1, peg 23 and peg 30 also stood out with respect to their biocide action. Only the extracts from the isolate a1 did not present capacity of antagonize the growth of the pathogens.

**Conclusions.** The results are in accordance with the acquired data in the primary screening of antimicrobial activity and they are favorable to the next phases of the study which involve the purification of the antibiotic biomolecules and the taxonomic characterization of the potential isolates.

### TLP-91. Qualidade sanitária do sururu (*Mytella falcata*) beneficiado e comercializado em feiras-livres e supermercados da cidade de Maceió-AL, Brasil

Artur Bibiano De Vasconcelos\*, Jarbas Macena De Oliveira J.\*,  
Jânio Pereira Da S.\*, Juliana Carla Cavalcanti M.\*,  
Elizabeth Simões Do Amaral A.\*

\*Universidade Federal de Alagoas Brasil.

**Introdução.** Os moluscos bivalves apresentam importância nutricional, medicinal, ecológica e econômica. Considerado o hábito filtrador do sururu (espécie representativa no estado) e sua capacidade de reter partículas do meio onde vive o torna um excelente bioindicador da qualidade das águas. Além disso, a manipulação inadequada pós-pesca é fator importante para a qualidade final do molusco processado. Objetivou-se avaliar a qualidade sanitária do sururu beneficiado e comercializado em diferentes pontos da cidade de Maceió, relacionando-se os riscos potenciais a saúde do consumidor.

**Materiais e métodos.** Um total de 25 amostras foram adquiridas em supermercados e feiras-livres localizadas em diversos pontos da cidade. Após a aquisição foram encaminhadas ao laboratório de microbiologia de alimentos da faculdade de nutrição da universidade federal de alagoas e foram processadas sob metodologia específica para análise microbiológica em alimentos e detecção de coliformes a 45°C, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. e *Staphylococcus* coagulase positiva.

**Resultados.** Todas as amostras apresentaram nmp de coliformes fecais em 100g do alimento, acima do determinado pela legislação. As provas bioquímicas revelaram que 88% das amostras apresentavam *Escherichia coli*. A presença de *Staphylococcus* coagulase positiva não foi confirmada, registrando-se apenas as espécies coagulase negativa e as provas de confirmação de colônias típicas revelaram que 8% das amostras foram positivas para a presença de salmonella sp.

**Conclusões.** O sururu beneficiado oferece risco direto a saúde do consumidor. As altas porcentagens de *Escherichia coli* e nmp de coliformes mostraram a necessidades do maior cuidado na manipulação alimentar.

### TLP-92. Bacterial diversity associated with the rhizosphere of trees along an altitudinal gradient in the Brazilian Atlantic forest

Silvia Eugenia Barrera B.\*, Sandra Patricia Montenegro G.\*,  
Adriano Reis L.\*, Marcio Rodrigues L.\*

\*Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"  
Universidade de São Paulo Brasil.

**Introduction.** The Brazilian Atlantic forest is considered one of the main biodiversity hotspots in the world where soil microbial communities play important roles in nutrient turnover, and are affected by biotic and abiotic factors. The aim of this study was to characterize the bacterial communities associated with the rhizosphere of *Guapira opposita* and *Euterpe edulis* along an altitudinal gradient in the atlantic forest.

**Materials and methods.** Rhizospheric soil samples were collected under the tree canopy projection located at altitudes of 0, 100 and 1000 m in the serra do mar state park (São Paulo, Brazil). Bacterial diversity was evaluated by pyrosequencing of the v4 region of the 16s rRNA gene, amplified by PCR from metagenomic DNA.

**Results.** We obtained 196,164 valid sequences that were clustered into 31 phyla. Acidobacteria (40.3%), Proteobacteria (28.1%) and Verrucomicrobia (10.9%) were the most represented phyla associated to the rhizospheres studied. Acidobacteria was the dominant phylum at 0 (46.9% *E. edulis* and 47.3% *G. opposita*) and 100 m (41.5% *E. edulis* and 38.8% *G. opposita*), whereas proteobacteria was the most abundant phylum at 1000 m (34.8% in *E. edulis* and 36.3% in *G. opposita*). The number of shared otus in the rhizosphere of *E. edulis* and *G. opposita* along the gradient was 1,267 and 1,056 respectively. The diversity index (Shannon and reciprocal of Simpson's) showed higher diversity in 1000 m, as compared to sites at lower altitudes.

**Conclusions.** Bacterial community structure and diversity were affected by the altitude. The bacterial communities in the rhizosphere of the trees at 0 and 100 m were more similar to each other than to the ones at 1000 m. The factors driving shifts in rhizospheric bacterial communities of the same tree are unknown, but might be associated with temperature, humidity and/or soil chemical properties.

### TLP-93. Mutation in *yadh* in *Enterobacter cloacae* decreases endophytic colonization

Zayda Piedad Morales M.\*, Elizabeth Amélia Alves D.\*,  
Thiago Alves Santos De O.\*, Jorge Teodoro De Souza\*

\*Universidade Federal do Recôncavo da Bahia Brasil.

**Introducción.** Endophytes does not visibly harm the host, can promote plant growth and have the ability to colonize an ecological niche similar to that of phytopathogens, which makes them suitable biocontrol agents. *Enterobacter cloacae* is an endophyte able to colonize different host and plant tissues and is promising as growth promoter. We directed our molecular studies towards using *E. cloacae* 344 which showed these traits. The aim of this study was used the strategy of random mutations, in the search for genes possibly related to endophytic colonization.

**Materials and methods.** For random mutation approach the *ez-tn5tm*-transposome complex was introduced by electroporation directly into *E. cloacae* 344 electrocompetent cells. Colonization bioassays in cucumber plants in which mutants with the wild type in competition were carried out. Mutants with endophytic colonization significantly different from the wild type were used to identify genes involved in endophytic colonization and directional genome walking using pcr technique were used to sequence the disrupted genes.

**Results.** *E. cloacae* m4 is a mutant that was significantly impaired in colonization. Molecular characterization demonstrated that transposon insertion in the genome was in a region with a high degree of DNA sequence identity with *yadh* which encodes an abc transporter permease.

**Conclusions.** Colonization of plants by endophytic bacteria can cause changes at transcriptional, translational or catalytic levels in plant metabolism which need to be studied in order to better explore the beneficial effects of endophytic microbes.

### TLP-94. Diversidade e estrutura de comunidades de bactérias em área contaminada por hidrocarbonetos de petróleo, Alta Floresta, MT – Brasil

Andrea Ferreira De O.\*, Suzy Darley De L.\*, Rossean Golin\*,  
Zoraidy Marques De L.\*, Eduardo Beraldo De M.\*

\*Laboratório de Microbiologia Sanitária e Ambiental, Depto. de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Mato Grosso, Brasil.

**Introdução.** A contaminação das águas subterrâneas por combustível derivado de petróleo tem sido motivo de grande preocupação em países em desenvolvimento, principalmente no que diz respeito à sua utilização para o abastecimento público. Por isso, a identificação das possíveis alterações na diversidade bacteriana, em áreas com riscos de contaminação, se faz necessária para minimizar os riscos a que a população e o meio ambiente estão sujeitos. O objetivo deste trabalho foi identificar diferenças na comunidade bacteriana sob influência da contaminação por BTEX (benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno) e hap (hidrocarbonetos aromáticos policíclicos), e estabelecer as áreas mais suscetíveis à contaminação.

**Materiais e métodos.** A área em estudo consiste numa região com histórico de contaminação por hidrocarbonetos, onde em um raio de 3 km encontram-se dois passivos ambientais segundo análise documental dos processos de licenciamento ambiental obtidos no órgão ambiental competente de mato grosso, Brasil. Na área delimitada foram demarcados sete pontos amostrais. Foi feito um estudo polifásico utilizando técnicas moleculares baseadas em PCR-DGGE e técnicas baseadas em cultivo de bactérias em meio mineral, contendo 10 mL/L de diesel e incubadas (200 rpm, 30°C) por 14 dias. Após esse período a amostra foi diluída (diluição seriada) e plaqueada em meio agar nutriente.

**Resultados.** A análise de PCR-DGGE baseada no gene que codifica o rRNA 16s mostrou que os perfis das amostras de água e solo apresentavam alta similaridade entre si e que a pluma de contaminação altera a densidade e a diversidade bacteriana

**Conclusões.** As análises químicas efetuadas nos pontos amostrais confirmam a contaminação por derivados de petróleo e as comunidades bacterianas são influenciadas por esses contaminantes.

### TLP-95. Valorización de las cepas comerciales de rizobios en Uruguay: mineralización de fósforo y potencial uso como biofertilizantes

Claudia Barlocco\*, Nora Altier\*, Elena Beyhaut\*

\*Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) Uruguay.

**Introducción.** El fósforo (P) es un nutriente esencial para la producción agropecuaria, y en Uruguay es el segundo elemento limitante para el crecimiento vegetal luego del nitrógeno. Los biofertilizantes en base a microorganismos capaces de solubilizar P inorgánico y/o hidrolizar p orgánico, representan una alternativa tecnológica para aumentar los niveles de p disponible y mejorar la nutrición fosfatada de los cultivos. El objetivo de este trabajo es valorizar la riqueza biológica existente en las cepas de rizobios recomendadas para los inoculantes comerciales en Uruguay, caracterizando las mismas por su capacidad de solubilizar y/o hidrolizar fosfatos *in vitro*.

**Materiales y métodos.** Las 20 cepas comerciales fueron evaluadas *in vitro* en medio Pikovskaya (pvk) modificado, adicionando como únicas fuentes de p: fosfato tricálcico, fosfato férrico y fitato de calcio (sólido) y fitato de sodio (líquido). Para los medios sólidos se determinó el halo de solubilización/hidrolización y para el medio líquido se cuantificó crecimiento por densidad óptica a 590 nm.

**Resultados.** De las 20 cepas, 3 hidrolizaron fitato de calcio y 4 solubilizaron fosfato tricálcico. Once cepas presentaron crecimiento en medio líquido con fitato de sodio. Ninguna de las cepas formó halo en fosfato férrico como única fuente de P. Una cepa fue capaz de utilizar 3 de las fuentes de P evaluadas.

**Conclusiones.** Los resultados alientan a continuar con bioensayos en plantas, evaluando la absorción de P total en respuesta a la inoculación con las cepas identificadas como posibles solubilizadoras/hidrolizadoras de P. El desarrollo de biofertilizantes capaces de promover la absorción de P, extendiendo la tecnología disponible en el país para la fabricación de inoculantes de calidad en base a rizobios, representa una tecnología innovadora para el manejo de la fertilización fosfatada y la conservación del recurso suelo.

### TLP-96. Producción bacteriana de hidrógeno a partir de mucílago de café

Carlos Esteban Gonzalez V.\*, Yesenia Lizeth Piedrahita V.\*, Jorge Hernández T.\*, Oriana Danuta Serna D.\*, Viviana Sánchez T.\*

\*Universidad Industrial de Santander Colombia.

**Introducción.** En la industria cafetera de la región, el beneficio del café se hace por vía húmeda, generando una corriente líquida de mucílago como subproducto residual. Debido a su acidez y contenido de materia orgánica, el mucílago de café genera problemas ambientales cuando es vertido en fuentes hídricas. El mucílago del café presenta un alto contenido de pectinas y azúcares que lo convierten en un sustrato potencial para el crecimiento de microorganismos para la producción de biocombustibles como el hidrógeno. Objetivo general: identificar cepas nativas productoras de hidrógeno a partir de mucílago de café.

**Materiales y métodos.** Se realizó una caracterización fisicoquímica de mucílago de café obtenido de una planta de beneficio de café, determinándose el contenido de azúcares reductores totales (art), contenido de sólidos disueltos y pH. Previamente, a partir de 'agua-miel' residual de la planta de beneficio se aislaron varias cepas de actinobacterias en medio (cyc) suplementado con 50 µg/mL de nistatina. El crecimiento en medio sólido de estas cepas fue evaluado cualitativamente empleando diferentes formulaciones de 'medio mucílago' (mucílago de café, NaCl y (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), y se seleccionó la formulación del medio con la que se logró el mayor crecimiento de las cepas analizadas. Para las cepas que presentaron mejor crecimiento en 'medio mucílago' la producción de gases fue evaluada por desplazamiento alcalino y la producción de hidrógeno cuantificada con un detector de hidrógeno portátil (0 – 1000 ppm).

**Resultados.** La formulación del 'medio mucílago' con la que se logró el mejor crecimiento de las actinobacterias contiene 11 g/L de art sin necesidad de suministrar suplementos adicionales. Las actinobacterias que mejor crecieron en este medio corresponden a los géneros *Streptomyces* y *Arthrobacter*. Solo algunas de estas cepas produjeron hidrógeno en condiciones anaerobias.

**Conclusiones.** Se identificaron actinomicetos nativos capaces de generar hidrógeno a partir de mucílago de café.

### TLP-97. Carenia interpretativa en los efectos de alteración de los hongos liquenizados colonizadores de superficies pétreas de monumentos arqueológicos, perspectiva de México.

Alejandro Medina Á.\* , Jorge Alberto Mojica S.\*

\*Instituto Nacional de Antropología e Historia México.

**Introducción.** Los artículos científicos, referentes al impacto por el crecimiento de hongos liquenizados sobre bienes culturales pétreos, aluden a efectos de alteración mediante desgaste y disolución, con cinco milímetros de sustrato degradado, debido a la segregación de ácidos orgánicos, disgregación por la penetración de rizinas; señalan al ácido oxálico, producto del metabolismo del oxalato, como principal precursor. En México desde hace media década estamos estudiando la colonización de líquenes saxícolas sobre monumentos arqueológicos, para entender y comparar el impacto de alteración sobre la superficie, debido al crecimiento.

**Materiales y métodos.** Se identificaron los taxa, bajo el protocolo propuesto por especialistas, bajo un microscopio estereoscópico y un microscopio óptico equipados con cámaras digitales, además se analizó la superficie con meb.

**Resultados.** Se han identificado más de 50 especies de líquenes, con representantes de *Caloplaca bolacina*, *Caloplaca citrina*, *Caloplaca ferracissima*, *Candelaria submexicana*, *Candelaria concolor*, *Candelariella efflorescens*, *Cladonia fimbriata*, *Cryptothecia rubrocincta*, *Dermatocarpon miniatum*, *Endocarpon pusillum*, *Leptogium lichenoides*, *Leptogium marginellum*, *Parmotrema praesorediosum*, *Physcia nigricans* y *Telochistes chrysophthalmus*. Se percibieron, algunos de los efectos descritos, pero con notables diferencias, según la especie y hábito; el costroso *C. velana* disgrega los materiales líticos a menos de dos milímetros; *Xantoparmelia mexicana* y *Physcia nigricans*, desencadenan dos formas de alteración, el primero produce microporos por la penetración de rizinas y el segundo disgrega los materiales líticos a más de cuatro milímetros, en el único fruticoso no mostró efectos.

**Conclusiones.** Suponemos la implicación de dos factores ecológicos importantes para el crecimiento liquénico, la retención elevada de humedad y la detección de nitratos en sales, ambos podrían ser benéficos para las coberturas pero previsiblemente perjudiciales para los materiales pétreos.

### TLP-98. Caracterização do *Baculovirus spodoptera* quanto as variações de pH

Wesley Botelho S.\* , Karen Santos S.\* , Mônica Hitomi O.\*

\*Universidade Federal do Triângulo Mineiro Brasil.

**Introdução.** O *Baculovirus*, é um dos vírus patogênicos a insetos mais comuns e mais estudados, possui o maior potencial para ser usado como agente de controle biológico de pragas. Ele é muito eficiente no combate à lagarta-do-cartucho a campo, a principal área de atuação do *Baculovirus spodoptera* é a cultura do milho e no Brasil, é plantado 14 milhões de hectares. A cultura do milho é considerada uma das mais importantes do Brasil, a produtividade é muito prejudicada por diversos fatores, principalmente ao ataque de insetos, que tem se intensificado com o cultivo do milho durante todo o ano (farias *et al.*, 2008). objetivo: analisar as interferências dos diferentes pHs na concentração de *B. Spodoptera*.

**Materiais e métodos.** Soluções tampão de pH 4, 7 e 10 serão preparadas com adição de inóculo de *Baculovirus* em cada amostra com concentração previamente definida. Cada amostra dos diferentes pHs serão definidas em câmara de Neubauer e as médias das concentrações comparadas com a amostra controle contendo a solução do baculovirus e água purificada. Serão realizadas três repetições de cada amostra.

**Resultados.** Observou-se que em pH 7 no tempo zero houve uma contagem de 121,5 *Baculovirus*, a uma hora de 124,7, a três horas de 128,8 a 24 h de 122,7 e a 48 h de 110,4 *Baculovirus*. Já a pH 10, de 121,5 *Baculovirus* em apenas 10 min de exposição ao pH 10 apresentou 9,8, a três horas 4,7, a 24 h contou-se 1,9 e a 48 h apenas 0,8 *Baculovirus*. Em pH 4 não foi possível contar os *Baculovirus* presentes, porque houve uma aglomeração dos vírus na amostra em todas as repetições.

**Conclusões.** O *Baculovirus* é sensível a pH 10 e a pH 4, sendo estável mantendo uma contagem estável de 48 h a pH 7.

### TLP-99. Cuantificación e identificación bioquímica y molecular de bacterias diazotróficas asociadas al cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum*)

Laura Yolima Moreno R.\* , Néstor Fabián Galvis S.\* ,  
Sandra Milena López P.\* , Claudia Yohana Lizcano C.\* ,  
Tatiana Rangel R.\* , Dayana Andrea Vásquez B.\*

\*Univ. Francisco de Paula Santander, Colombia.

**Introducción.** La necesidad de contar con alternativas agroecológicas sostenibles que reduzcan la problemática ambiental causada por fertilizantes químicos en cultivos de tomate conduce al estudio e identificación de géneros diazotrofos de interés biofertilizante. Objetivo: cuantificar e identificar bioquímica y molecularmente bacterias diazotróficas presentes en suelos rizosféricos de cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum*) en el municipio de Chinácota, Norte de Santander, Colombia.

**Materiales y métodos.** Se caracterizaron las zonas de muestreo cultivadas con tomate mediante gpsmap® 78s, se cuantificó el número de bacterias diazotrofas por técnica de nmp viales con 5 mL de medio selectivo semisólido libre de nitrógeno nfb, jnfb, lgi, lgi-p y jmv; para el aislamiento se usaron medios selectivos sólidos döbereiner *et al.*, (1995); se realizó caracterización morfológica de las colonias mediante características macroscópicas y microscópicas; se utilizó el sistema bbl crystal para identificación bioquímica y la técnica de PCR para identificación molecular.

**Resultados.** Se caracterizaron geográficamente 6 fincas muestreadas del municipio de Chinácota, norte de Santander; en la cuantificación se encontraron diferencias altamente significativas entre las muestras para los géneros *Burkholderia* sp. y *Gluconacetobacter* sp.; en medios selectivos se obtuvieron 48 aislados bacterianos que se caracterizaron morfológicamente como presuntos géneros *Azotobacter* sp., *Azospirillum* sp., *Herbaspirillum* sp., *Burkholderia* sp. y *Gluconacetobacter* sp.; la identificación bioquímica reportó correspondencia en pruebas selectivas como oxidasa, catalasa, ureasa, producción de indol y asimilación de carbohidratos; la identificación molecular mediante PCR, mostró productos correspondientes con lo esperado para las especies *A. chroococcum*, *A. nigricans*, *A. vinelandii*, *A. brasilense*, *burkholderia* sp., *B. glumae*, *G. azotocaptans* y *G. johannae*.

**Conclusiones.** La cuantificación de bacterias diazotrofas mostró diferencias significativas entre el número más probable de diazotrofos para los presuntos géneros *Burkholderia* sp. y *Gluconacetobacter* sp. entre las fincas estudio. Todos los aislados identificados molecularmente coincidieron tanto en la caracterización fisiológica como en la bioquímica con los géneros esperados.

### TLP-100. Análise da influência da concentração do substrato e inóculo na degradação do diesel pela bactéria *Pseudomonas aeruginosa* aclimatada e selvagem

Dafne Luana Ramos R.\* , Galba Maria De Campos-Takak\* ,  
Maria De Los Angeles Perez Fernandez P.\*

\*Universidade Federal de Pernambuco, Brasil.

**Introdução.** A crescente preocupação com o meio ambiente, tornou-se evidente, após os grandes derrames de derivados de petróleo, resultando em danos ao ecossistema. Logo, diversas técnicas para degradação de contaminantes derivados do petróleo foram desenvolvidas, destacando-se entre elas a biodegradação. O objetivo do trabalho foi analisar a influência da concentração do substrato diesel e do inóculo no processo de biodegradação pelas linhagens da *Pseudomonas aeruginosa* selvagem e aclimatada.

**Materiais e métodos.** A linhagem *P. aeruginosa* foi aclimatada em meio sólido luria bertani acrescido de 30% de diesel. Enquanto que a linhagem selvagem foi usada como controle. O ensaio de biodegradação foi realizado segundo o método de hanson *et al.* (1993) em erlenmeyers com capacidade para 250 mL, contendo 100 mL do meio bushnell hass, 5 ag do indicador dcip e diferentes concentrações do substrato diesel e inóculo. O experimento foi mantido durante 30 dias em agitação orbital de 150rpm e temperatura de 30°C. Para isto, foram aplicados dois planejamentos fatoriais de 2<sup>2</sup>, com 4 pontos centrais, sendo um planejamento para cada linhagem.

**Resultados.** Plotando os gráficos de pareto dos dois processos, foi possível concluir que as variáveis independentes diesel e inóculo, assim como

suas interações, foram significativas estatisticamente sob o aumento da degradação. O diesel foi a variável independente que mais influenciou na degradação, para as duas linhagens. No entanto, ao analisar o gráfico de superfície de resposta, temos que a cepa aclimatada apresenta interações mais significativas para a degradação.

**Conclusões.** Verificou-se que, quanto maior a concentração do inóculo e menor a concentração do substrato, maior será o índice de degradação. Desta forma, as variáveis estudadas demonstraram-se significativas na biodegradação, enquanto que a maior eficácia foi verificada com a linhagem aclimatada.

### TLP-101. Caracterização gênica de *Escherichia coli* isoladas de água fluvial em Mato Grosso, Brasil

Rosseean Golin\*, Bruno Ramos B.\*, Eduardo Beraldo De M.\*, Danila Soares C.\*, Zoraidy Marques De L.\*

\*Laboratório de Microbiologia Sanitária e Ambiental, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Universidade Federal de Mato Grosso, Brasil.

**Introdução.** O crescimento populacional tem influência na qualidade dos corpos hídricos em decorrência da poluição pontual e difusa. A principal causa dessa poluição tem sido os efluentes domésticos e industriais que são fontes de contaminantes, dentre eles microrganismos dos quais muitos são patogênicos e causadores de doenças. A diversidade de microrganismos na água degrada sua qualidade principalmente no que se refere ao abastecimento doméstico, refletindo diretamente no nível de saúde da população. Entre os microrganismos presentes na água encontra-se a espécie *Escherichia coli* que está diretamente relacionada a doenças de veiculação hídrica. O objetivo deste trabalho foi caracterizar geneticamente 297 isolados de *E. coli* de água fluvial em dois diferentes períodos sazonais (seca e chuvoso).

**Materiais e métodos.** As análises microbiológicas efetuadas, dependentes de diversidade foram: crescimento de *E. coli* em meio substrato enzimático fluorogênico e cromogênico (Colilert®), isolamento e manutenção das cepas em agar e caldo nutriente (Merck®). Para análises moleculares foram feitas extração do DNA dos isolados, caracterização genotípica utilizando primer BOX-PCR, agrupamentos das estirpes e índices de diversidade utilizando o aplicativo bionumerics 7.0 (applied maths).

**Resultados.** As análises de diversidade da comunidade bacteriana dos pontos amostrais analisados mostraram que 90% dos isolados de *Escherichia coli* apresentaram similaridade acima de 70%, sendo que, entre os períodos sazonais, a maior diversidade foi encontrada no período de seca. Nos 10% dissimilares o sequenciamento e a utilização da ferramenta blast possibilitará a identificação das diferentes linhagens gênicas.

**Conclusões.** A ocorrência da elevada densidade de *E. coli* similares e a possibilidade de ocorrência de diferentes linhagens gênicas é consequência da ineficiência ou da inexistência do tratamento das cargas orgânicas, lançadas na água fluvial.

### TLP-102. Detección de bacterias patógenas en celulares de alumnos del área médica de la Universidad Autónoma de Zacatecas-México

José Jesús Muñoz E.\*, Aldo Jordí Hernández\*, Heriberto Chávez\*, Cesar Eduardo Quiñones\*, María Alejandra Moreno G.\*

\*Universidad Autónoma de Zacatecas-México.

**Introducción.** Los teléfonos celulares han facilitado las tareas y comunicación al humano, no obstante, retienen y albergan patógenos. Objetivo. Determinar las bacterias presentes en celulares de alumnos de odontología, medicina humana y QFB, de la Universidad Autónoma de Zacatecas.

**Materiales y métodos.** La investigación se desarrolló en 2 partes: 1: toma de muestras e inoculación en caldo BHI. 2: procesamiento bacteriano e identificación como sigue: depósito de los teléfonos apagados por sus dueños en bolsa de polipapel estéril, se cerró, folió, y en asepsia-esterilidad, con hisopo se tomó muestras de zonas de mayor contacto. Se colocó la muestra en un tubo con BHI, e incubó 24 h a 37°C, se sembró en agar sangre (as) al 5%, emb, agar mac conkey, agar sal manitol y agar *Salmonella-shigella*, se incubaron 24-48 h a 37°C. Se observó hemólisis en as, morfología colonial; se efectuó frotis, tinción de gram, morfología celular, agrupación y afinidad al gram. Además pruebas bioquímicas adicionales.

**Resultados.** Tras la aplicación de las pruebas para su identificación, se identificaron: *S. aureus* (31.2%), *Streptococcus* sp. (21.2%), *S. epidermidis* (16.7%), *Klebsiella* sp. (15.6%), *Shigella* sp. (3.4%), *Enterobacter faecalis* (3.2%), *Salmonella* sp. (3.2%), *E. coli* (1.9%), *S. pyogenes* (1.5%), *S. pneumoniae* (1%), *P. aeruginosa* (0.6%), *Bacilos filamentosos* sp. (0.5%). Conclusiones. Los teléfonos muestreados son portadores de microorganismos patógenos, siendo *S. aureus* el más importante, ello confirma su presencia en clínicas y hospitales. Por lo que no tener normatividad sobre ingreso y uso de teléfonos en dichos lugares, lo convierte en un riesgo constante para la salud de pacientes inmunodeprimidos y personal en general.

**Conclusiones.** Los teléfonos muestreados son portadores de microorganismos patógenos, siendo *S. aureus* el más importante, se confirmó su presencia en clínicas y hospitales.

### TLP-103. Ocorrência e identificação molecular de *Vibrio parahaemolyticus* em ostras (*Crassostrea gigas*) produzidas em Santa Catarina, Brasil

Helen Silvestre Da Silva\*, Clarissa Barretta\*, Karin De Medeiros\*, Marília Miotto\*, Priscila Fernanda Cortina\*, Cleide Rosana Werneck V.\*

\*Universidade Federal Santa Catarina Brasil.

**Introdução.** No Brasil, a produção de moluscos bivalves ocorre principalmente no estado de Santa Catarina, na região sul do Brasil, devido às excelentes condições geográficas desta área para o cultivo de organismos marinhos. *Vibrio parahaemolyticus* encontra-se naturalmente presente em ambientes marinhos, costeiros e estuários, sendo algumas estirpes potencialmente patogênicas para o homem, e podem estar presentes nos pescados e moluscos crus ou parcialmente submetidos à cocção. Esta bactéria é a principal responsável por gastroenterites relacionadas ao consumo de alimentos de origem marinha em várias partes do mundo. O objetivo deste trabalho foi enumerar e identificar por PCR em tempo real cepas de *Vibrio parahaemolyticus* em ostras (*Crassostrea gigas*) provenientes de diferentes regiões de cultivo de moluscos bivalves no estado de Santa Catarina, Brasil.

**Materiais e métodos.** As amostras foram coletadas diretamente no ponto de cultivo e levadas ao laboratório para análise. Foram coletadas 130 amostras de ostras em diferentes regiões de cultivo no estado de Santa Catarina. A enumeração de *Vibrio parahaemolyticus* foi realizada segundo o método descrito no bacteriological analytical manual (BAM/FDA). A confirmação genotípica foi realizada utilizando-se o *Vibrio parahaemolyticus* multiplex real-time PCR kit (Bioteccon) em equipamento PCR em tempo real rotor gene Q (Qiagen).

**Resultados.** Em 37 das 130 amostras a presença de *Vibrio parahaemolyticus* foi confirmada pela PCR. As contagens variaram entre  $<0,5 \log_{10}$  NMP  $g^{-1}$  (não detectável) a  $2,2 \log_{10}$  NMP  $g^{-1}$  de amostra.

**Conclusões.** Os resultados demonstram que, embora se tenha encontrado nível baixo de contaminação por *Vibrio parahaemolyticus* nas ostras, essas bactérias podem incluir cepas com potencial patogênico ao homem, principalmente quando se considera que o hábito de consumo deste molusco é *in natura*. Dessa forma é necessário que se mantenha um monitoramento constante dos níveis de contaminação deste molusco, garantido assim, a segurança do consumidor.

### TLP-104. The effect of PCB concentration on the denitrifying community

Mara Rúbica De Lima E Silva\*, Isabel Kimiko Sakamoto\*, Maria Bernadete A. Varesche\*

\*Universidade de São Paulo – USP Brasil.

**Introduction.** The environmental contamination with polychlorinated biphenyls (PCB) is a significant environmental concern and considering the usefulness of using anoxic consortia that degrades PCB. Until now, few studies about the effect of PCB concentration under denitrifying community have been reported. This study evaluates anoxic batch reactors assays with culture medium and inoculated from activated sludge with ethanol (591 mg.l<sup>-1</sup>) as carbon source and nitrate (cod/nitrate of 0.14) as electron acceptor with different concentration of PCB.

**Materials and methods.** The evaluation of microbial community was performed by PCR-DGGE technique of 16S rRNA for the bacteria domain. The nitrate consumption was carried out by ion chromatography.

**Results.** In batch reactors with 0.5, 1.5 and 3.0 mg.l<sup>-1</sup> of PCB, the nitrate consumption was under 57%, 28% and 44%, respectively, for 9.0, 14.0 and 28 g.l<sup>-1</sup> of nitrate. Whereas the reactor without pcb (control), the nitrate (5.0 g.l<sup>-1</sup>) depletion stayed over 77%. These findings raise evidences that the effect of pcb over the denitrifying microbial community is concentration-dependent and the more concentrated the pcb, the less nitrate was consumed. Then, the community similarity was related to the pcb concentration in the system, and the lowest concentration (0.5 and 1.5 mg.l<sup>-1</sup>) presented the highest similarity (94%) comparing with the reactor spiked with 3.0 mg.l<sup>-1</sup>, which presented 76% of similarity. In addition, for biomass from control reactor was observed the lowest similarity, 74%. Moreover the shannon-wiener diversity index obtained for the assay showed that the control was the more diverse community, with 3.25, comparing with the reactors with pcb, 2.04, 3.15 and 2.77, for 0.5, 1.5 and 3.0 mg.l<sup>-1</sup> of PCB, respectively.

**Conclusions.** These findings can be summarized as the undoubtedly negative effect of PCB on the denitrifying community.

### TLP-105. Actividad insecticida de bacterias nativas sobre obreras de hormiga arriera, *Atta cephalotes* (hymenoptera: myrmicinae)

Sandra Milena Valencia G.\*, Karen Castaño Q.\*, Carolina Giraldo E.\*, James Montoya L.\*, Inge Armbrrecht\*

\*Grupo de Ecología de Agroecosistemas y Hábitats Naturales, Fundación Cipav, Universidad del Valle, Cali - Colombia.

**Introducción.** *Atta cephalotes* es la más abundante de las hormigas cortadora de hojas en Colombia. Sus altos niveles de abundancia la convierten en plaga agrícola y urbana de difícil control. Los insecticidas químicos son poco efectivos y ocasionan impactos nocivos sobre el ambiente, por lo que el control microbiológico es una alternativa deseable. En esta dirección, se evaluó la capacidad insecticida de nueve aislados de bacterias provenientes de desechos de nidos de hormigas mantenidos en laboratorio.

**Materiales y métodos.** Un total de 107 obreras por tratamiento, distribuidas en siete unidades experimentales (ue) de 15 hormigas c/u se expusieron al contacto con soluciones de 3,0x10<sup>9</sup> UFC/mL de cada aislado bacteriano. Se incluyó un control negativo, en el que se utilizó solución estéril. En total se evaluaron 10 tratamientos en los que la variable respuesta medida fue el porcentaje de mortalidad acumulada corregido durante 10 días. Los datos se analizaron mediante una Anova de Friedman.

**Resultados.** Cinco de los aislados demostraron actividad insecticida sobre obreras medianas. Al décimo día de exposición, las bacterias compatibles con *Bacillus subtilis*, *Serratia liquefaciens* y *S. marcescens* ocasionaron porcentajes de mortalidad de 100% mientras que los aislados de *Enterobacter* sp. y *Bacillus* sp. fueron de 85,7% y 74,4%, respectivamente.

**Conclusiones.** Se concluye que estas bacterias nativas representan una fuente promisoría de agentes de control por su acción patógena sobre obreras de la hormiga arriera *A. cephalotes*.

### TLP-106. Microbiota bacteriana viable cultivable del agua de lagunas de alta montaña en los Andes Venezolanos

Dillemyn Bravo\*, Mariana Trimachi\*, José Loewenthal\*, Judith Araque\*, Felix Andueza\*

\*Universidad de los Andes, Venezuela.

**Introducción.** La biodiversidad bacteriana presente en las aguas de lagos de alta montaña es un aspecto desconocido en Venezuela, Suramérica y el mundo. En este sentido, se planteó el presente trabajo para conocer la identidad de las principales bacterias heterótrofas viables cultivables presentes en el agua de las lagunas Pico Mucuñeque y Mucubaji, ubicadas en el Parque Nacional Sierra Nevada del estado Mérida, en los Andes Venezolanos.

**Materiales y métodos.** Se tomaron muestras del agua, de un volumen 1 litro en envases de vidrio estériles, durante los meses de septiembre a diciembre del año 2012. Las muestras se mantuvieron en refrigeración hasta su transporte al laboratorio. Para cada una de las muestras analizadas se realizó el recuento de bacterias heterótrofas por la técnica de filtración en membrana de 0,45 µm, filtrando un volumen de 100 mL de agua y utilizando los medios, agar R2A y medio petrifilm. En todos los

casos los medios de cultivos sembrados se incubaron a 22° durante 10 días. Las cepas bacterianas aisladas se identificaron siguiendo los esquemas de identificación microbiana propuestos por Macfaddin (2003) y complementado con las pruebas indicadas por Barrow y Feltham (2004) y las contenidas en las galerías de identificación API de biomérieux.

**Resultados.** Los valores promedio en los recuentos bacterianos estuvieron en el rango de 1,00 x 10 a 2,00 x 10<sup>2</sup> UFC/mL. Se pudo aislar e identificar un total de 19 colonias bacterianas, pertenecientes a los géneros *Chryseobacterium*, *Enterobacter*, *Escherichia*; *Klebsiella*; *Myroides*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Sphingomonas*; *Staphylococcus* y *Vibrio*. El agua de la Laguna Mucubaji resultó con una mayor diversidad de géneros (9) que la Laguna Mucuñeque (4).

**Conclusiones.** Se evidencia la existencia de una microbiota heterótrofa diversa y escasa en las Lagunas Pico Mucuñeque y Mucubaji ubicadas en el parque sierra nevada del estado Mérida.

### TLP-107. Avaliação físico-química e quantificação de bactérias heterotróficas cultiváveis (BHC) presentes na água e no sedimento de um trecho urbano do rio Acaraú, situado na cidade de Sobral, Ceará, Brasil.

Carla Rochele Victor\*, Gerlane Siqueira Rodrigues\*, Edirsana Maria Ribeiro De Carvalho\*

\*Famor Devry-Brasil.

**Introdução.** As bactérias heterotróficas podem ser encontradas em todos os ambientes. A contagem desse grupo bacteriano é muito utilizada como indicadora da qualidade de ecossistemas aquáticos. Avaliar a qualidade dos parâmetros físico-químicos da água e quantificar bactérias heterotróficas cultiváveis (bhc) presentes na água e no sedimento de um trecho urbano do rio Acaraú, situado em sobral-Ce.

**Materiais e métodos.** Foram realizadas 8 coletas de água e sedimento entre janeiro a março de 2014, em dois pontos amostrais de um trecho urbano do rio Acaraú. As amostras de água e sedimento foram colocadas em caixa exotérmica e levadas para o laboratório de análises microbiológicas de água e efluente (lamae) no Instituto Federal do Ceará (IFCE)/campus sobral para os procedimentos físico-químicos e microbiológicos. Para as análises físico-químicas da água foram aferidos os parâmetros: temperatura, pH, turbidez, cor, condutividade elétrica e salinidade, seguindo-se os procedimentos da apHa. Para as contagens de bhc utilizou-se a técnica de pour plate.

**Resultados.** As médias de temperatura, pH, turbidez, cor e condutividade elétrica e salinidade, nos dois pontos (p1 e p2) foram: 26 e 27°C; 7,0 e 8,0; 10 a 20; 49 e 73; 184 e 272, 0, respectivamente. Nas contagens de bhc na água, os valores foram: em p1 de 1,0 x 10<sup>4</sup> a 1,47 x 10<sup>7</sup>, e p2 foi de 1,25 x 10<sup>2</sup> a 4,0 x 10<sup>7</sup> est. UFC /mL. Para o sedimento as contagens em p1 foram de 2,58 x 10<sup>3</sup> UFC/g est. A 5,1 x 10<sup>6</sup> UFC /g, e p2 foi de 1,62 x 10<sup>2</sup> UFC /g a 4,7 x 10<sup>8</sup> UFC /g.

**Conclusões.** A qualidade ambiental do trecho urbano do rio Acaraú que passa pela cidade de sobral, ceará é preocupante. Portanto, faz-se necessário um planejamento de gestão ambiental, que vise à recuperação e a preservação do trecho do rio.

### TLP-108. Abundância de rizobactérias entre diferentes solos e espécies vegetais do bioma Caatinga

Ana Paula Andrade B.\*, Rafael Leandro De Figueiredo V.\*, Emiliana Manesco R.\*, Itamar Soares M.\*

\*Universidade do Vale do Sapucaí- Univas Brasil.

**Introdução.** A Caatinga é um bioma exclusivamente brasileiro caracterizado por duas estações bem definidas, uma seca e outra chuvosa. As plantas são bem adaptadas ao ambiente seco apresentando características xeromórficas, os micro-organismos que interagem com essas plantas também apresentam diversas características de tolerância à seca e promoção de crescimento de planta como produção de exopolissacarídeos e acc deaminase. Com problemas ambientais gerados pelas mudanças climáticas, esses micro-organismos poderão, em um futuro próximo ser utilizados como inóculos para biofertilização na agricultura, e em ambientes com baixo potencial de irrigação. O objetivo deste trabalho foi comparar a abundância de rizobactérias entre dois tipos de solo e duas espécies de plantas nativas do bioma Caatinga (*Mimosa artemisiana* e *Erythrina velutina*).

**Materiais e métodos.** O solo rizosférico das plantas *M. artemisiana* e *E. velutina* foi coletado em diferentes regiões do bioma Caatinga considerando dois solos morfologicamente diferentes (vertisol-hidromórfico e argiloso amarelo). O DNA total foi extraído e submetido à técnica de PCR em tempo real com iniciadores que codificam a região v3 do gene 16S rRNA.

**Resultados.** Através da análise estatística euclidiana constatou-se diferença significativa em relação à abundância de rizobactérias entre os dois solos analisados. A abundância de rizobactérias no solo vertisol-hidromórfico foi 22 vezes superior ao solo argiloso amarelo. Entre as espécies vegetais analisadas, não houve diferença significativa quanto à abundância desses micro-organismos.

**Conclusões.** Existe efeito do solo sobre a abundância de rizobactérias no bioma Caatinga. A relação entre os atributos químicos e físicos do solo juntamente com a diversidade de bactérias, deverá ser estudada para melhor compreender a interação entre planta-micro-organismo do semiárido brasileiro.

### LP-109. Screening de bactérias associadas ao trigo com mecanismos de colonização da filosfera e inibição de *Magnaporthe grisea*

Ana Gabriele Barbosa C.\*, Vanessa Nessner K.\*, Harold Alexander Vargas H.\*, Itamar Soares De M.\*

\*ESALQ/USP e Embrapa Meio Ambiente Brasil.

**Introdução.** Micro-organismos epifíticos de ocorrência natural estabelecem diferentes estratégias de colonização. Estudos relatam o potencial que estas populações apresentam para atuarem como agentes naturais de biocontrole através de diferentes mecanismos, como competição, produção de antibióticos, indução de resistência, parasitismo, entre outros. Entretanto, pouco se sabe sobre os possíveis mecanismos utilizados diante do fungo fitopatogênico *magnaporthe grisea*, causador da brusone do trigo. Isolar e selecionar micro-organismos epifíticos do trigo para o controle biológico da brusone diante da capacidade de colonização em diferentes variáveis ambientais, e determinar possíveis mecanismos relacionados ao antagonismo.

**Materiais e métodos.** Os isolados foram obtidos a partir de amostras de folhas da variedade iac 385 de uma área de cultivo localizada em Assis/SP/Brasil, e plaqueadas em meio de cultura tsba. Os isolados foram transferidos para meio tsba a 1%, e os que apresentaram crescimento foram expostos à radiação ultravioleta b ( $\alpha$  280-320 nm), foram preparadas suspensões bacterianas na concentração 10<sup>4</sup> que foi distribuída no centro de placas de petri. As mesmas foram submetidas ao teste de produção de biofilme, que após crescimento e adição de cristal violeta, foi submetido ao espectrofotômetro.

**Resultados.** Dos 38 isolados, apenas 2 apresentaram crescimento em meio de cultura a 1%. O teste de sensibilidade à radiação uv b demonstrou que após 4 h de exposição, às bactérias selecionadas apresentaram 39,7% e 20,1% de taxa de sobrevivência, indicando que ambas apresentam mecanismos que garantem a sua sobrevivência em altas doses de radiação uvb. O teste de formação de biofilme indicou que ambas as bactérias testadas apresentaram formação de biofilme em meio de cultura a 1% acrescido de 5% de glicose.

**Conclusões.** Os micro-organismos apresentam uma porcentagem de sobrevivência favorável diante da radiação ultravioleta b e potencial como organismos formadores de biofilme, tais adaptações podem impedir o estabelecimento do patógeno, entretanto, estudos mais detalhados são necessários.

### TLP-110. Rol de proteínas de *P. agglomerans* uc-32 en el control del tamaño de nanopartículas de selenio sintetizadas biológicamente y químicamente.

Javiera Ravanal P.\*, Carla Daza C.\*, Claudio Rojas G.\*, Víctor Campos A.\*, Saddys Rodríguez L.\*, María Angélica Mondaca J.\*

\*Universidad de Concepción, Chile.

**Introducción.** La biosíntesis de nanopartículas de Selenio (npSe(0)) posee ventajas en comparación a la síntesis química, debido a su alta actividad biológica. Esta capacidad está relacionada al tamaño, presentando mayor actividad a un tamaño menor a 100 nm. Existe evidencia de la participación de proteínas en la distribución de tamaño de npSe(0). *Pantoea agglomerans* ha sido descrita como una cepa bacteriana capaz de producir npSe(0)

de tamaños menores a 100 nm, sin embargo no existen estudios sobre la regulación de tamaño de las npSe(0). El objetivo fue detectar proteínas asociadas a npSe(0) producidas por *P. agglomerans* y determinar su participación en el control del tamaño de npSe(0) sintetizadas químicamente.

**Materiales y métodos.** *P. agglomerans* fue cultivada en presencia de selenito durante 26 h. El cultivo fue sometido a ruptura celular para la obtención de npSe(0) (pellet). Las npSe(0) fueron sometidas a un gradiente de sacarosa (gs) (20-80%) y las fracciones fueron analizadas mediante SDS-PAGE. Un extracto de proteínas (ep) de *P. agglomerans* fue usado para determinar su rol en el control del tamaño de npse(0). Para esto npSe(0) fueron sintetizadas químicamente (npSe(0)q) en presencia (npSe(0)q-ep) y ausencia del ep. Las muestras fueron analizadas mediante dls, tem y SDS-PAGE.

**Resultados.** El SDS-PAGE de las fracciones del gs, evidenció proteínas asociadas a npSe(0) sintetizadas por *P. agglomerans*. npSe(0)q sufrieron aglomeración en el tiempo, convirtiéndose a selenio gris cristalino (sin actividad biológica). npSe(0)q-ep mostraron el color rojo característico del selenio amorfo. El análisis DLS demostró que npse(0)q aumentan de tamaño (400-800 nm), mientras que npSe(0)q-ep tienen un tamaño menor (255 nm) y estable. Por tem se observó que npSe(0)q tienen un mayor tamaño que las npse(0)q-ep. SDS-PAGE de npSe(0)q-ep demostró la presencia de proteínas asociadas.

**Conclusiones.** *Pantoea agglomerans* presenta proteínas asociadas a las npSe(0) que probablemente controlan el tamaño de npSe(0) sintetizadas químicamente, conservando su forma amorfa roja.

### TLP-111. Prospecting of bacteria isolated from the tietê river basin with potential for bioremediation and phosphate solubilization

Eliane Gonçalves Da S.\*, Lina Rocío Del Pilar Rada M.\*, Felipe Rezende L.\*, Mabel Patricia Ortíz V.\*, Lilandra Carolina Rios C.\*, Simone Ichiwaki\*, Gabriel Padilha M.\*, Wellington Luiz\*

\*Department of Microbiology, Biomedical Science Institute II, University of São Paulo (USP) Brasil.

**Introduction.** Technological development with activities considered essential to human life are causing serious environmental problems. Among the various contaminants generated heavy metals have received special attention because of their persistence, and for being extremely toxic. The excessive use of agricultural inputs such as fertilizer, has also resulted in contamination concern. Phosphorus, for example, one of the major plant nutrients. However, much of this nutrient (95-99%) cannot be readily used by plants. The objective was to prospect, in the collection of bacteria from the tietê river basin, bacterial isolates with potential for bioremediation and for phosphate solubilization.

**Materials and methods.** Bacteria were isolated from water and sediment from 33 different points of the tietê river basin and assessed for the ability to solubilize phosphate and for growth on culture media containing different concentrations of heavy metals (1 mm, 2 mm and 4 mm), such as: lithium (Li), cadmium (Cd) and nickel (Ni).

**Results.** Were obtained around 600 bacterial isolates selected from different points of the Tietê river. So far, 297 isolates were already evaluated. Being that 30% of these isolates were able to solubilize pHospHate. Regarding heavy metals, most of the bacterial isolates did not tolerate different concentrations of cd. Around 35% of the isolates grew at a concentration of 1 mm, 25% at a concentration of 2 mm and only 15% in 4 mm. While for the Li and Ni metals, most of the isolates showed tolerant concentrations are used.

**Conclusions.** Until now it was possible to select a significant number of bacteria with potential for bioremediation and phosphate solubilization. New screening will be performed with all other strains of the collection, as well as other tests to confirm the biotechnological potential of selected bacteria.

### TLP-112. Bioprospection of bacterias and yeasts from atlantic rainforest soil capable of growing crude glycerol residues

Elizabeth Amélia Alves D.\*, Leandro Lopes L.\*, Thiago Alves Santos De O.\*, Zayda Piedad Morales M.\*, Júlio Cezar De Mattos C.\*

\*Universidade Federal do Recôncavo da Bahia Brasil.

**Introduction.** The shortage of energy and the use of fossil fuels is a global concern. Therefore, clean fuels, such as biodiesel, are being



researched and used throughout the world wild. However, the increasing production of biodiesel promotes the accumulation of its main by-product (crude glycerol), resulting in economic and environmental losses. For this reason, alternative applications for the use of crude glycerol are being studied. The possibility of studying microbial communities in many ecosystems, as well as metabolic pathways encoded in their genomes has been extensively studied by metagenomic approach associated with next generation. The aim of this research was study the microbial diversity and its functional aspects from soil cabruca atlantic forest aiming at prospecting microorganisms potentially involved in the crude glycerol bioconversion.

**Materials and methods.** Comparative sequences analysis obtained from soil samples cabruca agroforestry system of Southern Bahia, Brazil, was carried out under two conditions: i) eDNA10 - soil enriched with crude glycerol to 10% and ii) eDNAC - ground control, subjected to analysis in the platform 454. The descriptive analyzes *in silico* data obtained by direct pyrosequencing DNA samples of soil (eDNA) have enabled studies of functional diversity and metabolic aspects.

**Results.** In eDNA10 metagenome sequences related to families and microorganisms genera involved in the degradation of various pollutants and bioremediation process by pseudomonas. Well as sequences related to motility, chemotaxis, stress response, membrane transport and the acquisition and iron metabolism. On the other hand, ednac metagenome showed higher abundance of sequences related to metabolic pathways for microorganisms maintenance under deficit and / or nutrients restriction.

**Conclusions.** The predicted metabolic pathways and some function that prevailed in metagenomic eDNA10. Being studied with a view to use them in biotechnological to obtain products from crude glycerol processes, used as a substrate for cultivable microorganisms were identified in this study.

### TLP-113. Sampling and isolation of bacteria and filamentous fungi from antarctic marine samples

Michel Rodrigo Zambrano P.\*, Alysson Wagner Fernandes D.\*,  
Lara Durães S.\*, Valéria Maia O.\*

Unicamp – CPQBA Brasil.

**Introduction.** Antarctic continent samples are source for the recovery of microorganisms with unique metabolic capabilities. Microorganisms of these habitats have evolved features to survive in this environment, including changes in composition of fatty acids for regulating membrane fluidity. Little is known about the diversity of bacteria and filamentous fungi associated with marine macroorganisms from cold biomes. The aim of the present work was to assemble a collection of bacterial and fungal strains from marine antarctic samples for subsequent diversity and bioprospection analyses

**Materials and methods.** The sampling was performed on different islands of the antarctic continent in the summer of 2013/2014. Samples were placed in sterilized bags containing seawater at 4°C. The samples were washed with artificial sea water (asw). Filamentous fungi were isolated by two methods: (i) samples were triturated and serially diluted with asw. Aliquots of 100 mL were plated onto petri dishes containing ma2-asw culture medium; (ii) 1 cm<sup>3</sup>-pieces of each macroorganism were placed over petri dishes containing the same culture medium. Bacterial strains were isolated only from triturated samples. Aliquots of 100 µl (serially diluted) were inoculated onto petri dishes containing the medium R2A-asw. Agar plates were incubated at 5°C and 15°C for 1-6 weeks. Isolates are being maintained by cryopreservation at -80°C (20% glycerol).

**Results.** A total of 460 filamentous fungi and 550 bacteria were isolated from the antarctic marine samples (algae, lichen, moss, sea cucumber, seaweed, sediments, soils, sponges and starfish and). These microorganisms are being morphologically and molecularly characterized and will be screened for hydrocarbon production.

**Conclusions.** These results encourage the development of taxonomical studies aiming at the description of possible new taxa as well as offer an interesting source for the search of new compounds for future use in the biofuel field from cold ecosystems fapesp (2013/22062-8 and 2010/08352-5) and cnpq.

### TLP-114. Diversidad genética y funcional de bacterias nativas presentes en suelos con distinta cobertura vegetal: bosques relictos versus matrices aleñañas

Romina Almasia\*, Julieta Orlando\*,  
Michael Handford\*, Margarita Caru\*

\*Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

**Introducción.** Los bosques relictos en la zona norte de Chile corresponden a fragmentos de bosques tipo valdiviano que se encuentran en lo alto de los cerros de la cordillera de la costa. Estos bosques, que presentan alta humedad relativa y baja oscilación térmica, están rodeados de matrices compuestas de matorral xerófito con menor influencia de neblina, altas temperaturas y menor humedad relativa. Dos representantes de estos bosques se encuentran en localidades separadas por 200 km, el Parque Nacional Fray Jorge y el Cerro Santa Inés, los cuales conservan características vegetacionales y edáficas muy similares. A partir de muestras de suelo de los bosques y las matrices de ambas localidades, se evaluó la diversidad genética y metabólica de las comunidades bacterianas para determinar si sus estructuras se deben a factores actuales o históricos.

**Materiales y métodos.** Para ello, se determinaron diversos parámetros edáficos, la diversidad genética de la comunidad bacteriana mediante T-RFLP (polimorfismo en el largo de los fragmentos de restricción terminal) y la diversidad metabólica mediante el patrón de utilización de fuentes de carbono (biolog ecoplatetm).

**Resultados.** Se observaron diferencias significativas en los parámetros del suelo (pH, materia orgánica, contenido hídrico, amonio y nitrato) entre los ambientes de bosques y matrices. Asimismo, las comunidades bacterianas del suelo de los bosques presentaron diferencias significativas con las de las matrices en relación a los patrones de T-RFLP y a la utilización de fuentes de carbono, lo cual se vio reflejado en análisis multivariados de correspondencia canónica (cca). Los factores edáficos que más influyen en estos agrupamientos fueron el pH, la materia orgánica y el contenido hídrico.

**Conclusiones.** Considerando los resultados, se determinó que tanto los factores abióticos del suelo como los eventos pasados debido a la conexión histórica de los bosques, modelan la estructura de estas comunidades bacterianas.

### TLP-115. Impact of application of coir geotextile associated with plants on microorganisms' populations of degraded brazilian cerrado soil

Cristina Roscoe V.\*, Bruno Otávio Sousa P.\*, Monisa Lopes M.\*,  
Andréa Rodrigues M.\*, Patrícia Procópio P.\*, Denise De Carvalho U.\*

\*Departamento de Formação Geral, Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais – CEFET/Mg Brasil.

**Introduction.** The cerrado biome is located in the central of Brazil and currently about half of its area is converted to pasture, agriculture, and other land uses. Therefore strategies to recover the degraded fields are important to improve and restore land stability. Geotextiles made of coir fibers obtained from the husks of coconut palms (*Cocos nucifera*) are considered byproducts, and are one of the strongest and most durable natural fibers. Their application as soil cover blanket is an alternative for reducing erosion, improving the input of nutrients and providing vegetation growth. Despite that, the impact of coir geotextiles on soil microorganisms' populations and diversity was not described so far. Soil microorganisms carry out a range of processes important for soil health and fertility. Actinomycetes are especially important due the nutrients they release as a result of their metabolic processes, production of exudes helping bind soil particles and conferring structural stability. Fungi are responsible for the important process of decomposition in terrestrial ecosystems. For that reasons the aim of this work was study the effect of association of coir geotextile blanket seeded with legume (*Calopogonium mucunoides*) or grass (*Andropogon gayanus*) on soil actinomycetes and fungi populations.

**Materials and methods.** Enumeration of actinomycetes and fungi on soil samples were performed on starch and martin's medium, respectively, using the spread plate technique.

**Results.** The study showed a great increase in actinobacteria and fungi populations on soils covered, in comparison with nude soil. However the diversity of fungi decreased suggesting specific interaction between

coir mat/plants and groups of fungi. Actinobacteria were more prevalent group in the depth and soil surface. The general tendency observed was a great decrease in actinomycetes and fungi population with increased depth.

**Conclusions.** The study showed the applications of coir mat seeded with plants can be a strategy to improve soil quality promoting microbial growth.

### TLP-116. Influence of the packing media on the microbial community structure of two biological trickling filters post-uasb reactor

Erika Ferreira De Abreu Mac C.\*, Paulo Gustavo Sertorio De A.\*, Juliana Calabria\*, Carlos Augusto De Lemos C.\*

\*Federal University of Minas Gerais Brasil.

**Introduction.** Trickling filter (tf) is a very successful alternative for the post-treatment of uasb reactor effluents and due to its operational simplicity, it has been applied in wastewater treatment plants in Brazil. However, the knowledge of bacterial community present in tfs post-uasb reactors, and the influence of design factors on microbial selection are scarce and very important to identify relevant processes occurring within those systems. The objective this work was investigate and compare the bacterial communities developed in two tf filled with different packing media.

**Materials and methods.** Both tf had similar configurations, except that one was filled with a vertical sponge-based packing media while the other with a vertical plastic medium. The biomass was sampled at the top and bottom of each tf and bacterial community was characterized by 454-pyrosequencing.

**Results.** Results showed that slow-growing bacteria adapted to oligotrophic conditions predominated within the sponge-based tf (e.g., Verrucomicrobia and Planctomycetes). These organisms were less abundant or absent in the plastic-based tf, in which obligate sulfide oxidizers, photoheterotrophs and fast-growing fermenters (Clostridia) predominated. Because of the highest hydraulic and sludge retention time within the sponge-based tf, the system presented a strong stratification of substrates along the reactor with higher removal of organic matter and ammonium. Aob and anammox were detected in the sponge-tf, whereas only aob was detected in the plastic-tf. Bradyrhizobium and roseomonas were dominant denitrifiers in the sponge-tf, decreasing substantially from top to bottom. In the plastic-tf, the denitrifying community was more diverse but less abundant than in the sponge-tf.

**Conclusions.** The type of the packing media led to significant differences in terms of bacterial communities within the tf. The use of sponges promoted greater contact of microorganisms with the wastewater, causing a strong stratification of substrates along the reactor and an ecological selection of bacterial groups, especially for those adapted to oligotrophic conditions.

### TLP-117. Implementação de boas práticas de fabricação em padarias em Camaragibe – PE/Brasil

Aurenice Pontes Loio V.\*, Márcia Guedes Da Silva\*, Fabiana Da Silva Luciano\*, Simone Dias Sales Da Silva\*

\*Universidade Federal Rural de Pernambuco Brasil.

**Introdução.** a indústria de alimentos representa um ramo que cresceu expressivamente, nas últimas décadas. Dentro desse contexto, a qualidade dos alimentos deve está diretamente relacionada com a preservação da saúde e segurança alimentar frente às exigências e direitos do consumidor. Objetivo geral: avaliar as condições higiênico-sanitárias de padarias a partir de análises microbiológicas.

**Materiais e métodos.** A pesquisa foi realizada no período de agosto a dezembro de 2013, em quatro panificadoras a, b, c e d na cidade de Camaragibe a 13 km da capital pernambucana. As análises de equipamentos e manipuladores foram desenvolvidas por meio da técnica de swab adotando procedimento proposto pela American public health association (APHA) descrito por Evancho *et al.* Enquanto as análises de ambiente a técnica de sedimentação simples em placas de petri contendo meio de cultura potato dextrose ágar para avaliar a contagem de fungos filamentosos e leveduriformes, conforme metodologia de Evancho *et al.*

**Resultados.** De acordo com os resultados das análises dos equipamentos, foi detectada a presença de coliformes totais e termotolerantes nas

bancadas das padarias a, b e d e coliformes totais no cilindro da panificadora a e modeladora da padaria d. Não constatou esses microrganismos na panificadora c. A presença de coliformes totais foi verificada nas mãos dos funcionários de todas as panificadoras, em nove (75%) das 12 amostras analisadas, e (12%) para coliformes termotolerantes. Enquanto resultados das amostras de ar notou-se a presença de fungos nas áreas de produção de todas as padarias.

**Conclusões.** Os resultados obtidos reforçam a importância de capacitações dos manipuladores a fim de melhorar as condições higiênico-sanitárias dos estabelecimentos e garantir a integridade da saúde dos consumidores.

### TLP-118. Desenvolvimento de revestimento biodegradável e efeitos na viabilidade de *Azospirillum brasilense* AB-V5 sobre sementes de milho

Ana Elisa Stefani Vercelheze\*, Karina Milani\*, Odair José Andrade P. Dos Santos\*, André Luiz M. De Oliveira\*, Suzana Mali\*

\*Universidade Estadual de Londrina (UEL)  
Departamento de Bioquímica e Biotecnologia Brasil.

**Introdução.** O recobrimento de sementes agrícolas com biopolímeros permite a proteção das sementes contra danos mecânicos, químicos, biológicos, e a padronização da densidade de plantio. A veiculação de bactérias benéficas como rizóbios ou bactérias associativas via cobertura de sementes agrega valor e diminui sua manipulação pelos agricultores. Determinar a influência de um novo revestimento na viabilidade da bactéria *Azospirillum brasilense* estirpe AB-V5.

**Materiais e métodos.** Foi produzido um revestimento biodegradável empregando-se misturas de amido de mandioca, gelatina e álcool polivinílico. A viabilidade do microrganismo *Azospirillum brasilense* estirpe AB-V5 (registrado no Brasil para inoculantes comerciais) foi avaliada junto ao revestimento (t1), junto à semente não revestida – inoculação padrão (t2), junto à semente revestida contendo o microrganismo (t3), e junto à semente revestida sem o microrganismo, após a inoculação padrão (t4). Foram utilizadas sementes do milho híbrido comercial 3037hx (dow agrosciences), e o microrganismo foi veiculado em uma densidade de células de aproximadamente  $2,0 \times 10^6$  células mL<sup>-1</sup> para todos os tratamentos. A avaliação da viabilidade do microrganismo foi realizada após 6 e 9 dias de veiculação das células pela técnica de drop plate.

**Resultados.** Os resultados de contagem demonstram que o revestimento desenvolvido promoveu incremento na viabilidade do microrganismo, proporcionando a manutenção total da viabilidade após 9 dias de veiculação (t1,  $6,17 \times 10^7$  células mL<sup>-1</sup> revestimento). A aplicação do revestimento sobre as sementes também foi capaz de proporcionar incremento na viabilidade celular, inclusive quando adicionado sobre as sementes de milho (t3,  $5,56 \times 10^5$  células semente<sup>-1</sup>; t4,  $5,52 \times 10^5$  células semente<sup>-1</sup>), proporcionando uma viabilidade superior em mais de 7.000% quando comparado ao tratamento realizado em semente não revestida - inoculação padrão (t2,  $4,57 \times 10^3$  células semente<sup>-1</sup>).

**Conclusões.** O revestimento biodegradável empregado neste estudo se mostrou uma alternativa promissora para a veiculação de microrganismos benéficos em sementes de milho.

### TLP-119. Aislamiento de bacterias epífitas de macroalgas de la especie *Ulva lactuca* y evaluación de su actividad funcional (actividad lipolítica, celulolítica y producción de sideróforos)

Paula Tatiana González\*, Natalia Beatriz Comba\*, Dolly Montoya\*, Johanna Santamaría\*

\*Univ. Nacional de Colombia- Univ. Jorge Tadeo Lozano, Colombia.

**Introducción.** Las superficies vivas son sustratos para el establecimiento de microorganismos, al suministrar recursos tales como espacio para fijación y disponibilidad de nutrientes. Es así como, las macroalgas del género *Ulva*, presentan una superficie que permite el asentamiento de comunidades bacterianas, hasta el momento desconocidas en macroalgas presentes en el caribe colombiano. Por tal motivo el objetivo de este trabajo fue aislar bacterias epífitas de *U. lactuca* y evaluar su actividad lipolítica, celulolítica, además de la producción de sideróforos.

**Materiales y métodos.** Se realizaron dos muestreos en el litoral rocoso de la punta de la loma (Santa Marta, Colombia), en los meses de enero y julio de 2014. Los especímenes macroalgales fueron colectados bajo condiciones asépticas y almacenados en refrigeración hasta su procesamiento. Con el fin de remover las bacterias de la superficie macroalgal, se implementaron tratamientos de agitación continua y sonicación. En las bacterias aisladas, se evaluó actividad lipolítica y celulolítica, empleando medios de cultivo enriquecidos con tween 80 y carboximetil celulosa (0.5%), respectivamente. Las bacterias con este tipo de actividades, formaron cristales o halos claros en la superficie del medio evaluado. Para la detección de sideróforos, se utilizó el método o-cas (Overlaid-Chrome Azurol S), en cultivos bacterianos de 24 h. Los resultados positivos para esta prueba, se evidenciaron por la formación de halos, conforme al tipo de sideróforo generado.

**Resultados.** Los tratamientos utilizados promovieron el aislamiento de 31 bacterias epifitas, siendo el método de agitación, el de mejor resultado (22 aislamientos). Adicionalmente, de las bacterias obtenidas, 19 mostraron algún tipo de actividad o sintetizaron sideróforos, mientras que una presentó actividad tanto lipolítica como celulolítica y produjo sideróforos.

**Conclusiones.** Este estudio permitió el aislamiento de bacterias asociadas a la superficie de *U. lactuca*, además de la determinación de actividades enzimáticas de interés en aplicaciones biotecnológicas, basadas tanto en bacterias epifitas como en sus productos.

### TLP-120. Molecular quantification of nosz and norb denitrifying community as candidate bioindicators of soil quality and sustainable agriculture in soybean cropland

Clovis Daniel Borges\*, Paula Cruz López\*, Dennis Goss De S.\*, Fábio Martins Mercante\*, Siu Mui Tsai\*, Clovis Daniel Borges\*, Paula Cruz L.\*, Dennis Goss De S.\*, Fabio Martins Mercante\*, Siu Mui Tsai\*

\*Cell and Molecular Biology Laboratory, Center for Nuclear Energy in Agriculture, University of São Paulo, Piracicaba Brazil. Soil Microbial Laboratory, Embrapa Western Region Agriculture, Dourados Brasil.

**Introduction.** Identifying and weighting biological and environmental drivers of temporal changes in denitrification associated with modifications in land-use cropping systems remains a challenge. In this study, we asked for main questions: (i) what are the most relevant biological variables that improve explain changes in land-use. Thus, the aim was to survey denitrifying and structure communities contrasting in different land-use change farming.

**Materials and methods.** We measured the abundance of 16s rRNA bacteria, norb and nosz genes in different land use systems including conventional till, no-till, crop-livestock integration and adjacent forest (control) in midwest of Brazil. We used a spatially sampling scheme in grid that resulted in 25 soil samples per transect, with distances ranging from one-to-1000 meter in 2-year field sampling with a walk-spot experimental design. Quantitative PCR (QPCR) reactions using primers 968f/1387r bacteria, cnorbbf/cnorbb and nosz2f/nosz2r.

**Results.** Bacterial 16s rRNA gene copy numbers, showed values up to 109 copies g<sup>-1</sup> dry soil, respectively. The size of nosz denitrifying community in crop-livestock integration resulted in several fold increases when compared to other systems including forest soil. Redundancy analysis showed communities bacterial associated with h-al in all samples and forest soils showed chemical attributes nh<sub>4</sub>, NO<sub>3</sub> and carbon organic as drivers of bacterial communities. Biological attributes showed size of norb denitrifying community increase in cerrado and pasture management in all season and size nosz denitrifying community were associated with no-till and livestock-crop.

**Conclusions.** Bacterial group indicated with was influenced by nirk denitrifying communities in forests soil in all samples. Richness and index (h') resulted difference for land uses management and season. These results indicate that genes norb, nirk and nosz were shaped by land-use change. Redundancy analysis indicated that functional community was primarily influenced by modifications in land-use.

### TLP-121. Efecto de compuestos volátiles emitidos por bacterias de suelo en la promoción de crecimiento de *Lactuca sativa*

Paola A. Fincheira\*, Melissa Heise Mora\*, Andrés E. Quiroz C.\*

\*Universidad de La Frontera Chile.

**Introducción.** Actualmente se requiere aumentar la producción de alimentos a través de métodos sustentables al ambiente, surgiendo como alternativa los compuestos orgánicos volátiles (COVs) emitidos por microorganismos. COVs pueden inducir el crecimiento vegetal incrementando diversos parámetros agronómicos, potenciando así su aplicación como producto natural. Por otra parte, *Lactuca sativa* es una de las hortalizas de mayor consumo y a su vez utilizada para detectar fitotoxicidad de compuestos, por lo cual surge como modelo de estudio.

**Materiales y métodos.** Plántulas de *L. sativa* fueron expuestas a volátiles de 17 cepas bacterianas a través de un sistema de placas bi-compartimentadas. En un compartimento se inocularon 15 µl de cada cepa bacteriana a una concentración de 109 UFC/mL en medio murashige and skoog (ms), agar nutritivo (an) y agar rojo metilo Voges Proskauer (a-rmpv). En el segundo compartimento se dispusieron plántulas de *L. sativa* de dos días. Como control positivo se utilizó ácido indol butírico (iba) 10-4 m, producto comercial inductor del desarrollo radical. Se evaluó el número de raíces laterales (nrl), longitud de raíz primaria (lrp), altura (a) y peso seco (ps) siete días después de la inoculación.

**Resultados.** Algunas cepas bacterianas fueron capaces de aumentar el nrl, lrp, a y ps comparado con el control positivo tras la inoculación (P=α 0,05). También se determinó que el medio de cultivo para la cepa de bacterias es esencial para promover el crecimiento en *L. sativa*. Finalmente, 4 cepas bacterianas indujeron el crecimiento cubriendo el 75% de los parámetros evaluados (medio de cultivo x parámetro agronómico).

**Conclusiones.** Los COVs emitidos por bacterias inducen el crecimiento de *L. sativa* durante los primeros siete días incrementando el número de raíces laterales, longitud de raíz primaria, altura y peso de materia seca.

### TLP-122. Trapped under ice: small eukaryotic phytoplankton diversity during winter time at fildes bay, antarctica

Carlos Henriquez-Castillo\*, Juan Francisco Santibañe\*, Peter Von Dassow\*, Rodrigo De La Iglesia\*, Nicole Trefault\*

\*Pontificia Universidad Católica de Chile.

**Introduction.** Antarctica is an environment with drastic seasonal variation in physical parameters, characterized by a long winter, where light is virtually absent, air temperatures fall to -60°C, and the sea surface freezes, and a short summer, when ice melt and light penetration increase, generating high productivity. The absence of light and the appearance of sea ice represent major constraints on phototrophic species during this long winter period. There is a lack of data on the occurrence of photosynthetic species under winter ice, mainly due the difficulty in sampling during this period of time. In this work, we describe the winter microbial pPhotosynthetic community at fildes bay, King George Island, Antarctica.

**Materials and methods.** We combine advanced flow cytometry characterizing for phytoplankton by their optical properties, and molecular analysis, based on 16s rRNA plastid gene clone libraries.

**Results.** Flow cytometric analyses coupled to microscopy demonstrate that phytoplankton is dominated by small species less than 3 µm in cell size, opposite to the dominance of larger cells in summer time. Sequence analysis from the two size fractions reveal that the (3-12 µm) fraction is dominated by the class primnesiophyceae, and the small fraction (0.2-3 µm) is dominated by the class bacillariophyceae.

**Conclusions.** These results suggest that during winter, the smallest phytoplanktonic cells may survive "trapped under ice".

### TLP-123. Identification and characterization of cellulolytic fungi from the sandbank Guaibim, Brazil

Jackeline Pereira A.\*, Vinicius De Jesus N.\*, Rodrigo Pires Do N.\*, José Luiz Bezerra, Jorge Teodoro De S.\*, Phellippe A. Santos M.\*

\*Universidade Federal do Recôncavo da Bahia Brasil.

**Introduction.** The cellulolytic mycobiota of the soil is one of the components of ecosystems that play an important role in decomposition of organic matter. But little attention has been given to its diversity and biotechnological potential, especially in the ecosystem sandbank. Identify cellulolytic fungi isolated of soil from the guaibim sandbank in Bahia state, Brazil and characterize the different species in relation to the growth rate and cellulose production (cmcase and fpase).

**Materials and methods.** Eight samples from bare soil and eight from soil under vegetation patches were collected. The isolation was carried out by serial dilution technique on medium with microcrystalline cellulose. The isolates were identified by morphological and molecular analyzes. The cellulolytic activity was determined by reducing sugars quantification and the growth rate by colonies diameter measurements.

**Results.** From the 16 soil samples, 190 isolates were obtained, distributed in 16 genera and 43 species, where the most frequent genera were *Aspergillus* and *Penicillium* in both collection points. Among the species that occurred in both situations, *Aspergillus pseudodeflectus* and *Neoscytalidium dimidiatum* showed the highest activity of cmcase (0.82 and 0.76 u/mL<sup>-1</sup>) respectively and most fpase activity was observed in the species *Aspergillus pseudodeflectus* and *Trichoderma spirale* (0.24 and 0.15 u/mL<sup>-1</sup>). Among the species isolated from soil under the patches of vegetation, *Penicillium guanacastense* showed high cmcase and fpase activities (0.92 and 0.38 u/mL<sup>-1</sup>) while among the species that occurred only in bare soil, *trichoderma harzianum* showed the highest enzymes activity both cmcase (0.82 u/mL<sup>-1</sup>) and fpase (0.28 u/mL<sup>-1</sup>). The growth average rate of species found only in the patches of vegetation was not significantly higher than those that occurred only in bare soil.

**Conclusions.** Some of these species showed good cellulolytic activity and may be used in further works involving biotechnological processes.

### TLP-124. Caracterización de rizobacterias asociadas a *Eschscholzia californica* y su potencial uso en la recuperación de suelos contaminados con metales

Constanza Rojas\*, Mauricio Nuñez\*, Alexander Neaman\*, Marcela Leon\*, Carolina Yañez\*

\*Laboratorio de Microbiología, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile.

**Introducción.** La contaminación con metales causa disminución de la calidad y la salud de los suelos. Sin embargo, es posible restablecer la vegetación por medio de la inoculación de plantas con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) resistentes a metales. Estas PGPR son consideradas como una opción muy prometedora para la bio-remediación de suelos. Objetivo general. El objetivo de este trabajo fue estudiar 5 cepas bacterianas aisladas desde la rizósfera de *Eschscholzia californica* presente en suelos de Puchuncaví (región de Valparaíso, Chile) altamente contaminados con metales.

**Materiales y métodos.** Se determinó la resistencia a cobre en los aislados mediante la concentración mínima inhibitoria (CMI) para este metal. Las cepas fueron identificadas a través del análisis del gen 16S rRNA. La resistencia a diversos metales se estimó por medio de la detección por PCR de genes de resistencia: *copA* (cobre), *ncca* (níquel, cobalto y cromo), *mera* (mercurio), *czc* (cobalto, zinc y cadmio), *chrB* (cromato) y *arsD* (arsénico). Además, se midió la capacidad de bioacumulación de  $\text{Cu}^{+2}$  en estas cepas. Se realizaron ensayos para evaluar sus características como PGPR tales como solubilización de fosfatos, producción de ácido indolacético, producción de sideróforos y síntesis de acc deaminasa. Finalmente, se evaluó la capacidad de estos aislados de promover el crecimiento vegetal en condiciones *in vitro* e *in vivo*.

**Resultados.** Las cepas estudiadas fueron identificadas como *Pseudomonas* sp., con CMI de 250 mg/l  $\text{Cu}^{+2}$ . Presentan propiedades PGPR y multiresistencia a metales, además de ser capaces de bioacumular  $\text{Cu}^{+2}$ . Todas ellas potencian el crecimiento radicular *in vitro* e *in vivo*. Sin embargo una de ellas se destacó sobre las otras, promoviendo el crecimiento radicular hasta 12,8 veces más rápido que el control.

**Conclusiones.** Estas cepas del género *Pseudomonas* poseen un fuerte potencial para la labor de recuperar suelos contaminados con metales.

### TLP-125. Efecto del plaguicida organofosforado malatión sobre las comunidades microbianas presente en el suelo: un estudio de caso

Jorge Alberto Luna F.\*, Isaac Manuel Romero B.\*, Virginia Gutiérrez A.\*, Ilse Castrillón H.\*

\*Universidad del Magdalena Colombia.

**Introducción.** El malatión es un insecticida organofosforado empleado en la erradicación de plagas de plantas y animales. La adsorción de éste plaguicida por la fracción coloidal del suelo actúa modificando el proceso de degradación y transporte en los diferentes estratos del suelo. El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto que causa el malatión sobre las comunidades microbianas presente en un suelo limo-arcilloso.

**Materiales y métodos.** Los ensayos se llevaron a cabo en la granja experimental de la Universidad del Magdalena, durante dos meses y en el cual se establecieron dos zonas de muestreo, cada una con un área de 25 m<sup>2</sup>. La zona 1 correspondió al área fumigada con solución de malatión al 90% (aspersiones cada 15 días) y la zona 2 fue el área control. Las muestras de suelo fueron colectadas a los 3 y 15 días después de cada fumigación a una profundidad de 5 cm. Posteriormente, se realizaron las pruebas para la determinación de las comunidades microbianas: celulolíticas, amilolíticas, proteolíticas, amonizantes y desnitrificantes a través de la técnica número más probable (NMP/10 g) y recuento total de bacterias y hongos por la técnica de recuento directo en placa (UFC/10g). El diseño experimental fue completamente aleatorio.

**Resultados.** Las comunidades de microorganismos amilolíticos y proteolíticos presentaron una disminución de la densidad poblacional en la zona fumigada (99,03% y 98,04% respectivamente). El recuento poblacional de hongos en la zona de fumigación fue bajo (5,5%) comparado con la zona control (70%). Las comunidades de microorganismos celulolíticos, amonizantes, desnitrificantes y recuento poblacional de bacterias no presentaron diferencias en la densidad poblacional entre las dos zonas estudiadas.

**Conclusiones.** La aplicación del plaguicida genera cambios en la estructura de las comunidades microbianas y los procesos de recuperación o estabilización se observaron a los 12 días después de realizar la primera fumigación del plaguicida.

### TLP-126. Investigation of potential atrazine degradation by *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Brazilian soil

Ana Flavia Tonelli F.\*, Michelle Barbosa Partata Da S.\*, Vinicius Vicente Martins\*, Carlos Eduardo Saraiva M.\*, Eliana Guedes S.\*

\*Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo Brasil.

**Introduction.** Atrazine is an herbicide of the s-triazine family, commonly used for controlling weeds on several crops such as corn, sorghum and soybeans. The intensive use of atrazine results in contamination of water surface, groundwater and drinking water. *Pseudomonas* sp. Adp, the model strain for atrazine biodegradation, mineralizes this herbicide using it as a nitrogen source. The aim of this study was to detect the degradation of atrazine by a *Pseudomonas aeruginosa* (p59) isolated from Brazilian soil.

**Materials and methods.** *Pseudomonas aeruginosa* strain (P59) was isolated from a corn culture from São Paulo state in Brasil. PCR reactions for detection of ATZA, ATZB, ATZC, ATZD, ATZE and ATZF genes were performed according to the methodology described by devers et al. (2004) and, then, sequenced. Atrazine degradation was analyzed by bacterial growth on ATZ-R solid medium, which contains atrazine as soil nitrogen source, and by HPLC/UV.

**Results.** *Pseudomonas aeruginosa* p59 showed all the six atrazine degradation genes. The sequencing of these genes showed 100% identity with *atz* genes from *Pseudomonas* sp. Adp, except *atzB*, which presented a single mutation. P59 was capable to grow on ATZ-R medium, demonstrating its ability to use atrazine as a nitrogen source, however, it was not possible to observe clear zones around the colonies, indicating

that the isolate p59 was not able to mineralize atrazine in solid medium. An additional analytical experiment (HPLC/uv) was performed to analyze and quantify atrazine biodegradation in liquid medium. After 96 h incubation in atz-r broth, no decrease in atrazine concentration was detected.

**Conclusions.** Despite presenting atz genes, the strain p59 was not capable to mineralize atrazine. Subsequent experiments will be performed to verify if p59 exhibit a longer time degradation or whether there are mutations in other genes, which would be responsible for the degradation failure.

### TLP-127. Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e micro-organismos solubilizadores de fosfato em mudas de caryocar brasiliense camb

Juliana Silva Rodrigues C.\*, Ana Maria Rodrigues C.\*, Maria Gabriela Almeida C.\*, Edson Luiz Souchie\*, Fabiano Guimarães S.\*

\*Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" Brasil.

**Introdução.** Mudas inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares (fma) e micro-organismos solubilizadores de fosfato (msf) podem ter seu crescimento maximizado em casa de vegetação, aumentando sua capacidade de estabelecimento em campo, favorecendo programas de recuperação de áreas degradadas e formação de pomares. A partir da espécie arbórea pequi (*Caryocar brasiliense* camb), podem ser obtidos diversos produtos: seu caule é utilizado na fabricação de carvão siderúrgico e nas construções civil, rural e naval. As folhas têm uso medicinal e sua casca pode ser utilizada na fabricação de ração animal, sabão e tinturaria. Avaliar o crescimento de mudas de pequi inoculadas com fma e msf, para maximizar a produção de mudas para programas de reflorestamento e pomares.

**Materiais e métodos.** O experimento foi instalado em tubetes de 300 cm<sup>3</sup> e composto por quatro tratamentos de inoculação: fma; msf; msf + fma e controle, sendo cada tratamento com 50 repetições. Após 15 dias da inoculação dos msf, iniciou-se as avaliações de comprimento médio de parte aérea e número de folhas, a cada 7 dias, finalizando aos 84 dias após a inoculação.

**Resultados.** Aos 84 dias, a inoculação de fma proporcionou maior comprimento médio das mudas de pequi. Já as mudas inoculadas com msf e a combinação de fma + msf, tiveram menor comprimento médio. Para o número médio de folhas, foi observado resultado semelhante ao comprimento médio. Porém, não houve diferença entre os tratamentos de inoculação, ao final de 150 dias após a emergência, para as variáveis: comprimento médio de parte aérea, número médio de plantas, massa fresca e seca de parte aérea e raízes, volume radicular e relação raiz/parte aérea.

**Conclusões.** A inoculação isolada de fma proporciona maior crescimento das mudas de pequi, especificamente, maior comprimento de parte aérea e número de folhas por muda.

### TLP-128. Qualidade biológica de um latossolo sob diferentes sistemas de uso ao norte de Mato Grosso-Brasil

Heiriane Martins Sousa Heiriane M.\*, Amanda Ribeiro Correa A.\*, Bárbara De Motta Silva B.\*, Suzana Da Silva Oliveira S.\*, Andréia De Oliveira Vieira A.\*, Daniela Tiago Da Silva Campos D.\*

\*Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT Brasil.

**Introdução.** As enzimas presentes no solo, em geral, são produzidas por micro-organismos, via intra e extracelulares. Entre elas, a  $\alpha$ -glicosidase possui papel fundamental no ciclo do carbono, e por isso é utilizada como um indicador biológico para mensurar a qualidade do solo, por ser sensível a práticas de manejo. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de sete sistemas de uso do solo sob a atividade da  $\alpha$ -glicosidase por dois anos.

**Materiais e métodos.** Para as avaliações, amostras de solo foram coletadas na profundidade de 0-20 cm na mata nativa; cinco configurações de integração lavoura-pecuária (ilp) e na sucessão de culturas (soja/milho), durante o período de chuva na região, com avaliações em 2012 e 2013. Quantificou-se a produção da  $\alpha$ -glicosidase, pelo método da determinação colorimétrica do p-nitrofenol produzido e os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas por meio do teste de tukey ( $p < 0,05\%$ ).

**Resultados.** Entre os sistemas avaliados, os sistemas de ilp foram os que mais se aproximaram do sistema referencial (mata), o sistema de agricultura tradicional (sucessão) foi o que apresentou menor produção desta enzima, diferindo estatisticamente dos demais. A produção da  $\alpha$ -glicosidase foi maior em 2013 em todos os sistemas, o que pode ser atribuído ao efeito priming conferido pelos sistemas e pelos fatores climáticos, que em 2012 foram afetados pelos efeitos do la niña.

**Conclusões.** Contudo, a  $\alpha$ -glicosidase é um bom indicador biológico por ser sensível a diferentes sistemas de uso do solo. O sistema de integração lavoura-pecuária possui menor impacto sob a atividade da enzima  $\alpha$ -glicosidase que o sistema tradicional de agricultura, mantém a qualidade biológica do solo e se destaca com o potencial de sustentabilidade do solo.

### TLP-129. Determinantes genéticos codificados em plásmidos isolados de cepas provenientes de la Antártica confieren resistencia a telurito y otros metales

Claudia Melissa Muñoz V.\*, Fabián Cornejo\*, Maximiliano Figueroa\*, Maria Isabel Amaya\*, Fernanda Rodríguez\*, Felipe Arenas S.\*, Claudio Vásquez G.\*

\*Universidad de Santiago de Chile.

**Introducción.** Los microorganismos pueden tolerar metales y otros tóxicos dado que contienen determinantes de resistencia cromosomales y/o plasmidiales. Estos incluyen sistemas de resistencia a antibióticos y Hg<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Teo<sup>3+</sup>, entre otros metales. Estos determinantes son relativamente específicos (no son los mismos para todos los metales y/o antibióticos) y se han descrito en una gran variedad de bacterias, desde *Escherichia coli* a *Streptomyces*. Por último, los mecanismos de resistencia involucran en general destoxificación enzimática, sea ésta por modificación química, expulsión al exterior o bioacumulación. En el caso del telurito se han descrito algunos determinantes como el operón ter, kilatlab, tehab, los que no exhiben similitud entre ellos y algunos pueden conferir resistencia a antibióticos, colicinas y fagos por mecanismos aún no dilucidados. A pesar de las precauciones para evitar la contaminación en la Antártica, hoy se encuentran variados compuestos tóxicos, lo que ha provocado que los microorganismos adquieran determinantes de resistencia; así, es posible aislar bacterias Antárticas con alto grado de resistencia a telurito, mercurio, cobre, cadmio, zinc y también a antibióticos. Objetivos: identificar la presencia de plásmidos en cepas aisladas del territorio antártico chileno y caracterizar su participación en la resistencia a telurito y otros metales.

**Materiales y métodos.** Purificación de plásmidos y transformación en cepas sensibles *E. coli* top10 por técnicas estándar. Curación de plásmidos por exposición a novobiocina. Ensayos de susceptibilidad como halos de inhibición del crecimiento, curvas de crecimiento y mic a los siguientes tóxicos: Teo<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, co<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cro<sup>4+</sup>.

**Resultados.** Cepas de *E. coli* transformadas con los plásmidos antárticos purificados aumentan su resistencia a los metales analizados, principalmente a telurito.

**Conclusiones.** Los genes codificados en estos plásmidos median resistencia a telurito y a otros iones metálicos. Financiamiento: fondecyt regular 1130362, fondecyt postdoctorado 3120049 y proyecto INACH dg\_03-13.

### TLP-130. Avaliação microbiológica da água de poço de bairros do centro e da periferia da cidade de Breu Branco-PA

Jezaías Silva Dos Santos\*, Rodrigo Cruz N.\*, Flavio Pedro De L.\*, Lourival Marques R.\*, Marcos Sousa L.\*, Jomar Da Silva R.\*, Mayko De Sousa M.\*, Luciana Mendes F.\*

\*Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Pará – IFPA Brasil.

**Introdução.** A água potável limpa, segura e adequada é vital para a sobrevivência de todos os organismos vivos e para o funcionamento dos ecossistemas, comunidades e economias. A portaria nº. 518 do ministério da saúde define água potável como "aquela destinada ao consumo humano cujos parâmetros microbiológicos, físicos, químicos e radioativos atendam ao padrão de potabilidade e que não ofereça riscos à saúde". Para atendimento aos padrões microbiológicos exigidos pela mesma, quantifica-se um grupo de bactérias chamados coliformes, constituído de microrganismos de origem fecal e não-fecal, os coliformes totais e termotolerantes, respectivamente. Neste sentido, o presen-

te trabalho tem como principal objetivo avaliar e comparar microbiologicamente a água de poços rústicos em bairros do município de breu branco/pa, sendo coletada uma (01) amostra por bairro, totalizando dez bairros.

**Materiais e métodos.** Para a determinação dos coliformes totais e termotolerantes presentes na água analisada, utilizou-se a técnica do número mais provável (nmp), cujas etapas consistiram em: teste presuntivo (caldo LST – Caldo Lauril Sulfato Triptose), teste confirmativo para coliformes totais (caldo VB – Caldo Verde Brilhante) e teste confirmativo para coliformes fecais/termotolerantes (caldo EC – Caldo *Escherichia coli*).

**Resultados.** Todas as amostras dos bairros do centro do município (4, 100%) apresentaram resultados negativos para ambas as análises, coliformes totais e fecais, respectivamente com valores inferiores a 0,3 nmp/mL e ausência, conforme preconiza a referida legislação. Todas as amostras da periferia (6, 100%) foram positivas para coliformes totais apresentando valores entre 0,91 nmp/mL e 16 nmp/mL. Destas, duas amostras (2, 33,3%) foram positivas para coliformes termotolerantes com valores de 0,36 nmp/mL e 0,91 nmp/mL, mostrando-se fora dos padrões estabelecidos por conterem coliformes de origem fecal.

**Conclusões.** Conforme as análises obtidas, sugere-se um tratamento adequado da água para o consumo humano nos bairros analisados da periferia, bem como medidas sanitárias e de higiene.

### TLP-131. Micro-organismos promotores do crescimento vegetal na aclimatização de plantas de mangabeira micropropagadas

Juliana Silva Rodrigues C.\*, Ana Maria Rodrigues C.\*,  
Maria Gabriela Almeida C.\*, Edson Luiz Souchie\*,  
Flávia Dionísio P.\*, Fabiano Guimarães S.\*

\*Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Brasil.

**Introdução.** A inoculação de micro-organismos promotores do crescimento vegetal, na fase de aclimatização de mudas, favorece sua formação precoce, assim como maior crescimento e uniformidade do sistema radicular e da parte aérea. A mangabeira (*Hancornia speciosa* gomes) se destaca como uma promissora árvore frutífera para programas de exploração sustentável. Avaliar o efeito da inoculação de micro-organismos solubilizadores de fosfato (msf) e do fungo micorrízico arbuscular (fma) *Glomus clarum*, na aclimatização de plântulas micropropagadas de mangabeira, sob diferentes substratos, na presença e ausência de câmara úmida.

**Materiais e métodos.** Plântulas de mangabeira micropropagadas foram aclimatizadas em três substratos: solo; solo + areia + vermiculita (1:1:1) e Bioplant®, na ausência ou presença de câmara úmida, em vasos e com quatro tratamentos de inoculação: msf; fma; msf + fma e controle.

**Resultados.** As plantas de mangabeira inoculadas com fma, quando aclimatizadas em câmara úmida, utilizando Bioplant®, tiveram maior formação de raízes adventícias e folhas expandidas. As plantas inoculadas com msf tiveram menor comprimento de parte aérea e formação de folhas expandidas, porém, maior formação de raízes adventícias e volume destas no Bioplant®. Em solo + areia + vermiculita, as plantas obtidas estavam menores, com folhas expandidas e menor número de raízes adventícias. As plantas aclimatizadas em solo + areia + vermiculita + fma continham folhas expandidas menores com pigmentação vermelha e formação de raízes, enquanto que em solo + areia + vermiculita + msf, as plantas eram parecidas com as descritas anteriormente, porém o volume de raízes foi menor. A co-inoculação de fma + msf se sobressaiu, na ausência de câmara úmida.

**Conclusões.** A inoculação de fma e msf foi adequada para aclimatização de plântulas micropropagadas de mangabeira com a utilização de câmara úmida, utilizando os substratos Bioplant® e solo + areia + vermiculita.

### TLP-132. Isolation and production of cellulose by filamentous fungi isolated from composting process at São Paulo zoo park foundation

Michel Rodrigo Zambrano P.\*, Leonardo A. Santos\*,  
Lidiane M S. Lima\*, Ian Ioshio\*, Gustavo H. Goldman\*,  
João B Da Cruz\*, Suzan P. De Vasconcelos\*

\*Unicamp/CPQBA; UFSP; CTBE; FPZSP Brasil.

**Introduction.** There is a large search of microorganisms for producing hydrolytic enzymes like cellulases that can be employed as an increment

for second generation bioethanol processes. Composting organic waste process represent a promising habitat to recovery microorganisms with special capabilities. The improvement of this process with sugar cane filter cake as substrate can enhance the chances to have efficient microorganisms with cellulolytic potential. The present study had as goals the isolation and screening of fungi strains with cellulase activity from the composting process at São Paulo zoo park foundation (fpzsp).

**Materials and methods.** The composting cells were filled by sugar cane filter cake mixed with soil, trees and leaves debris from the atlantic forest park. The first sampling was done in august 2012. After twenty and forty days, it was collected the second and third sampling. About 10 grams of composting soil were collected. The samples were serially diluted in sterilized distilled water. Aliquots of 100 µL were inoculated onto petri dishes containing the media mea and pda. The petri dishes were incubated at 28°C during 1-4 weeks. The obtained isolates were conserved by cryopreservation (-80°C) and castellani (4°C). Micromorphology analyses were done. Enzymatic screening was done by culturing of strains into 50 mL of liquid medium me supplemented by 10 g L-1 Celuflok 100®. The activity was quantified by the using of the commercial kit azo-celulose (Megazyme®).

**Results.** One hundred and ninety filamentous fungi were isolated. Most of them were affiliated to phylum ascomycota followed by Zygomycota. Sixteen strains were selected as efficient cellulase producers. The strain fpzsp3 15 (not identified), showed cellulase activity of 70.80 u mL<sup>-1</sup>; followed by the fpzsp3 1 (70.60 u mL<sup>-1</sup>), identified as *Aspergillus* sp.

**Conclusions.** The results showed the importance of filamentous fungi from composting and their potential for future use in second generation ethanol production.

### TLP-133. Comparative characterization of the archaeal community in the Amazon forest: Native forest and oil palm plantation by high-throughput sequencing

Daiva Domenech T.\*, Maurício Egídio Cantão†, Ohana Yonara Costa\*, Jéssica Carvalho B.\*, Cynthia Maria Kyaw‡, Ricardo Henrique Krüger§, Betânia Ferraz Quirino\*||

\*Genomic Sciences and Biotechnology Program, Universidade Católica de Brasília, Brasília, DF, Brazil. †Embrapa Swine and Poultry Research Center, Embrapa, Concórdia, SC, Brazil. ‡Department of Cell Biology, Institute of Biologic Sciences, University of Brasília, Brasília, DF, Brazil. §Laboratory of Enzymology, Department of Cell Biology, University of Brasília, Brasília, DF, Brazil. ||Embrapa-Agroenergy, Brasília, DF, Brazil.

**Introduction.** The introduction of monocultures modifies not only the physicochemical properties of the soil, but also the composition of the microbial communities. This study aims to compare the archaea microbial communities of an Amazon native forest soil and soil cultivated with oil palm.

**Materials and methods.** Archaeal microbial communities were characterized using 16s rRNA genes pyrosequencing.

**Results.** More than 700,000 sequences were analyzed in this work. Despite this relatively large sequencing effort, it was not possible to cover all the archaeal biodiversity in either the native forest or the oil palm cultivated area. In total 977 otus were obtained, 681 from the native forest and 455 belonging to the oil palm cultivated area, 159 otus being shared by the native forest and oil palm cultivated area communities. The predominant phylum in both areas was the euryarchaeota, followed by thaumarchaeota; sequences belonging to other phyla were not found. However, the native forest soil archaeal community showed more than twice the number of thaumarchaeota otus than the oil palm cultivated area. Within the phylum euryarchaeota the predominant classes identified were Halobacteria, Methanomicrobia and Thermoplasmata, in that order; the latter two being significantly more abundant in the oil palm cultivated area. In the phylum Thaumarchaeota, south african gold mine gp 1, terrestrial group and soil Crenarcheotic group were the main classes identified, the latter two classes being significantly more abundant in the native forest soil. We also found more rare archaeal genera in the native forest soil than in the soil cultivated with oil palm. Examples of such genera are *Methanimicrococcus*, *Methanospirillum*, *Methanoregula* and *Methanoculleus*.

**Conclusions.** There is a decrease in the richness of the archaeal community in soils of the Amazon native forest when the land is used for agricultural purposes such as for oil palm farming.

### TLP-134. Quantificação da atividade enzimática da urease em solos submetidos a diferentes sistemas de produção de soja

Flavia Carolina Rodrigues L.\*, Ana Mirielle Dias Da S.\*, Andreia De Oliveira V.\*, Taylor Da Silva Aquino C.\*, Heiriane Martins S.\*, Daniela Tiago Silva C.\*, Sebastião Carneiro G.\*

\*Universidade Federal de Mato Grosso Brasil.

**Introdução.** A atividade da enzima urease é oriunda de resíduos de plantas, células bacterianas mortas e também sintetizada pelos micro-organismos e a quantificação desta atividade possibilita a indicação do potencial do solo em converter nitrogênio orgânico em mineral. Teve-se como objetivo quantificar em cinco sistemas de produção de soja, a urease do solo.

**Materiais e métodos.** O trabalho foi realizado com solo coletado nos estágios de florescimento e maturação fisiológica da cultura da soja, na profundidade de 0-10 cm da estação experimental da fundação mt, município de Itiquira, mt, clima tipo aw segundo köppen, em latossolo vermelho distrófico de textura argilosa. Foram avaliados os sistemas de sucessão soja/pousio; soja/milheto; soja/milho e dois sistemas de rotação de culturas: rot1 (soja/milheto, soja/crotalária e milho+brachiaria no primeiro, segundo e terceiro ano respectivamente), rot2 (soja/crotalária, soja/milho+brachiaria e brachiaria no primeiro, segundo e terceiro ano respectivamente). O delineamento experimental em blocos casuais, com quatro repetições. A atividade de urease foi determinada de acordo com o método descrito por kandler e gerber (1988). Os sistemas de produção constituíram as parcelas, e os estágios de desenvolvimento as subparcelas. Os dados foram submetidos à análise de variância e feitas comparações das médias pelo teste de scott-knott a 5%.

**Resultados.** Houve interação dos efeitos dos sistemas e estádios de desenvolvimento sobre a atividade da enzima urease no solo. No florescimento não houve diferença entre os sistemas na atividade de urease. Na colheita apenas o sistema rot2 diferiu estatisticamente e foi superior aos demais sistemas, apresentando os maiores valores de amônio por hora.

**Conclusões.** Este resultado é atribuído à alta relação c/n, composição e quantidade dos resíduos da brachiaria e ao estímulo destes ao aumento da diversidade dos micro-organismos heterotróficos e da atividade desta enzima na decomposição da matéria orgânica do solo.

### TLP-135. Riqueza de espécies e potencial de produção enzimática de leveduras isoladas do epicarpo e mesocarpo de frutos de macaúba (*Acrocomia aculeata*)

Alessandra Abrão Resende\*, Heyder Teixeira De Almeida\*, Débora Gonçalves C.\*, Frederic Mendes H.\*, Vera Lúcia Dos S.\*

\*Laboratório de Microbiologia Aplicada, Depto. de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal De Minas Gerais, Brasil. Departamentos de Botânica e Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Fedbrasil.

**Introdução.** *Acrocomia aculeata* é uma das espécies mais promissoras na produção do biodiesel pelo alto teor de óleos dos frutos. Seu manejo e a manutenção da qualidade do fruto nas etapas de coleta, armazenagem e transporte tem sido um gargalo na exploração comercial. O objetivo deste trabalho foi verificar a riqueza de leveduras associadas aos frutos de macaúba e avaliar o potencial de produção enzimática por esta microbiota, que possam interferir na qualidade do fruto.

**Materials and methods.** Os isolados foram obtidos do epicarpo e mesocarpo de frutos com diferentes tempos de deposição no solo, coletados de uma população de Macaúbas em Brumadinho, Minas Gerais, Brasil. O isolamento foi realizado em meio sólido e a identificação dos isolados realizada por métodos moleculares: PCR fingerprinting, utilizando o iniciador (GTG)5, e sequenciamento das regiões d1/d2 do gene rRNA26s e ITS1-5,8s-ITS2 do rDNA, utilizando os iniciadores n11/n14 e ITS1/ITS4. A avaliação do potencial enzimático foi realizada em meio sólido acrescido de 1% do substrato de cada uma das enzimas celulase, amilase, pectinase, xilanase, proteinase e lipase.

**Results.** Dos 529 isolados de 39 espécies e 19 gêneros, *Meyerozyma guilliermondii*, *Candida sorboxylosa*, *Hanseniaspora opuntiae* e *Pichia membranifaciens* foram as mais frequentes. Comunidades do epicarpo apresentaram riqueza e taxa de colonização maiores que as do mesocarpo. Foi observada uma elevada taxa de substituição de espécies em

função do tempo de deposição dos frutos no solo. Nos ensaios enzimáticos, 6,6% dos isolados apresentaram resultados positivos para produção de amilase; 12% para celulase; 7,9% para pectinase; 1,2% para xilanase; 6,6% para lipase; e 5,4% para proteinases. As atividades enzimáticas apresentaram distribuição diferenciada, quando considerados os tempos de deposição dos frutos.

**Conclusions.** As comunidades de leveduras associadas aos frutos de macaúba variam em função do seu tempo de deposição no solo, bem como as atividades enzimáticas demonstradas pelas mesmas.

### TLP-136. Avaliação e otimização da degradação do herbicida diuron por fungos filamentosos isolados de solo com histórico de aplicação do herbicida

Bruna Nogueira P.\*, Fernando Nogueira B.\*, Tássia Chiachio E.\*, Roberto Da Silva\*, Eleni Gomes\*

\*Univ. Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - IBILCE/UNESP Brasil.

**Introdução.** O grande uso de xenobióticos na agricultura têm causado preocupação. A sua liberação no ambiente implica na contaminação de águas subterrâneas, superficiais e solo. Para remediar ambientes impactados por esses compostos, destaca-se a biorremediação, ferramenta onde a remoção dos compostos tóxicos é feita por plantas, microrganismos ou seus derivados. Visto que os fungos exercem papel importante na ciclagem de carbono e nitrogênio no ambiente, no presente trabalho foram utilizados fungos filamentosos isolados de solo de canalial para avaliar a degradação do herbicida diuron, e otimização desse processo, através de ferramentas estatísticas, para possível utilização em processos de biorremediação desse composto.

**Materiais e métodos.** Seis fungos foram avaliados quanto seu potencial em degradar diuron: g25; g08; b06; b19; f17 e 211. A identificação dos fungos foi omitida neste trabalho por sigilo científico. A fermentação submersa foi realizada em meio salino com 10mg.l<sup>-1</sup> do herbicida, avaliando-se a influência de diferentes concentrações de glicose, pH, fósforo e nitrogênio por planejamento estatístico. Após 7 dias de incubação a 28°C e 160 rpm as amostras foram filtradas em membranas de 0,22µm e injetadas em hplc para verificar a degradação.

**Resultados.** O planejamento estatístico com as 4 variáveis mostrou que somente o fósforo não teve significância, logo, baseando-se nesses resultados foi realizado um outro planejamento variando-se novamente glicose, pH e nitrogênio. Os resultados mostraram um grande aumento na porcentagem de degradação de diuron para todos os fungos testados, que chegou a 300% para b06 e g08, que alcançaram 81% e 84% de degradação respectivamente.

**Conclusões.** Os resultados do presente trabalho mostram a importância do estudo e otimização das condições do meio de cultivo, para obtenção de melhores resultados. Destacando-se os fungos g08 e b06, que além de alcançarem elevadas taxas de degradação em apenas sete dias, possuem rápido crescimento, sugerindo seu uso em processos de biorremediação desse composto.

### TLP-137. Sugarcane growth promotion by Rhizobacteria isolated from guarana (*Paullinia cupana*), a native Amazon plant

Bruna Durante Batista\*, Maria Carolina Quecine\*, Andrea Ferrari\*, João Lúcio Azevedo\*

\*Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz' Esalq/Usf Brasil.

**Introduction.** Sugarcane (*Saccharum* spp.) Is a renewable and versatile crop that can be used as a clean ethanol energy source. However, to obtain high yields are necessary processes that uses natural resources without any reduction of production. In this context, the plant-growth-promoting-rhizobacteria (PGPR) is a great alternative, contributing to the plant development through multiple mechanisms of action. The aiming of this study was the identification and the screening of PGPR previously isolated from Amazon guarana to be applied as a sugarcane bioinoculant.

**Materials and methods.** The identification of strains was performed by sequencing of 16s rDNA gene. To screening potential PGPR was evaluated, *in vitro*, bacterial physiological characteristics: nitrogen-fixing ability, phosphate solubilization, siderophore and indolic acetic acid (IAA) production. Strains with the greatest PGP characteristics were selected to the greenhouse assays. The plants were sampled 90 days after inoculation (DAI). Height and dry mass of root and shoot parts were quantified.

**Results.** Concerning the identification of strain belonging to bacterial community from guarana rizospHere was observed the predominance of the genera: *Burkholderia* (31%), *Bacillus* (30%) and *Ralstonia* (8%). Among 99 strains physiological characterized, 24% presented potential to fix n<sub>2</sub>, 42% of them solubilized phosphate, 93% produced IAA and 24% produced siderophore. Two strains: rz2ms9 (*Bacillus* sp.) and RZ2MS16 (*Burkholderia ambifaria*) showed a great production of all evaluated compounds. They were able to fix nitrogen, being both selected to verify their potential to sugarcane growth promotion. RZ2MS9 and RZ2MS16 increased approximately 16% and 14% the plant height, 64% and 68% the root dry weight at 90 dai comparing with the control, respectively. The isolate RZ2MS9 (*Bacillus* sp.) Also increased 36% shoot dry weight at 90 dai comparing with the control.

**Conclusions.** Rhizobacteria from guarana showed expressive results in promoting growth of sugarcane. Its biotechnological potential should be further explored aiming to increase sustainable production.

### TLP-138. Densidade de micro-organismos totais do solo em sistemas integrados no norte de Mato Grosso-Brasil

Suzana Da Silva Oliveira\*, Heiriane Martins S.\*, Amanda Ribeiro C., Bárbara De Motta S.\*, Ana Lúcia Da Silva, Daniela Tiago Da S.\*

\*Universidade Federal De Mato Grosso - UFMT Brasil.

**Introdução.** Entre os parâmetros de avaliação do solo, está a densidade de organismos encontrados. Ou seja, a qualidade biológica do solo pode ser determinada pela enumeração de micro-organismos, por ser sensível às alterações no manejo. Objetivou-se quantificar os micro-organismos totais do solo como parâmetro de qualidade biológica em diferentes sistemas.

**Materiais e métodos.** Avaliaram-se sete sistemas mata nativa, cinco configurações de integração lavoura-pecuária (ilp) e uma sucessão de culturas (soja/milho), onde coletou-se amostras de solo na profundidade de 0-20 cm, no período de chuva na região, em 2012 e 2013. Por meio de diluições seriadas e plaqueamento determinou-se o número de unidades formadoras de colônias (ufc) de bactérias, fungos, actinomicetos e micro-organismos celulolíticos totais cultiváveis do solo, esses resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas por meio do Teste de Tukey (p < 0,05%).

**Resultados.** Nas ilp e na mata foram encontrados as maiores populações de bactérias. Ainda nas ilp foram encontrados os maiores números de actinomicetos, diferindo estatisticamente dos demais sistemas. Também foram obtidos as maiores quantidades de micro-organismos celulolíticos nas ilp, o que pode ser atribuído aos resultados observados para bactérias, pois o meio de cultura utilizado para micro-organismos celulolíticos favorece o crescimento de bactérias, actinomicetos e fungos, sem distinção. Apenas classifica-os quanto à degradação da celulose. Os fungos foram favorecidos pela ilp, onde teve o maior número dessa população. Em geral os sistemas de ilp em algumas variáveis se aproximaram ou mesmo foram superiores que o sistema referencial a mata.

**Conclusões.** Contudo, neste estudo em geral os solos sob sistemas de ilp favoreceram o crescimento microbiano. Isso se deve ao aporte de matéria orgânica, ao não revolvimento do solo e a diversificação de culturas em uma mesma área, o que seria o ideal ao se pensar em sustentabilidade das práticas agrícolas.

### TLP-139. Produção do fito-hormônio ácido indol-acético e solubilização de fosfato inorgânico e fitato por leveduras isoladas de frutos de macaúba (*Acrocomia aculeata*)

Alessandra Abrão R.\*, Heyder Teixeira De A.\*, Vera Lúcia Dos S.\*

\*Laboratório de Microbiologia Aplicada, Depto. de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.

**Introdução.** A microbiota associada às plantas abriga um grande potencial biotecnológico, incluindo enzimas e metabólitos secundários (sideróforos, fito hormônios, substâncias bioativas) que justificam sua pesquisa e prospecção tecnológica na geração de insumos agrícolas, como bioinoculantes promotores de crescimento. Foi objetivo deste trabalho caracterizar leveduras isoladas de frutos de macaúba, planta promissora na produção de biodiesel no Brasil, quanto ao potencial de produção dos fatores promotores de crescimento: ácido indol-acético, fitases e compostos solubilizadores de fosfato inorgânico.

**Materiais e métodos.** Foram submetidos aos testes 241 isolados de leveduras, de 39 espécies e 19 gêneros distintos. A avaliação do potencial de produção de fitases e de solubilização de fosfatos inorgânicos insolúveis foi realizada por meio de ensaios qualitativos em meios sólidos acrescidos de fitato de cálcio e de fosfato tricálcico como fonte exclusiva de fósforo. O ensaio colorimétrico utilizando reagente de Salkoviski foi utilizado como método quantitativo para dosar a produção de ácido indol-acético pelos isolados de levedura, em meio líquido suplementado com L-triptofano. Os valores das dosagens de aia foram correlacionados com valores de densidade ótica das culturas a 600 nm.

**Resultados.** Do total de isolados testados, 88,8% foram capazes de solubilizar fosfato tricálcico e 48,5% foram capazes de solubilizar e hidrolisar fitato de cálcio. Aproximadamente 98% dos isolados foram capazes de produzir ácido indol-acético, em concentrações que variaram de 1,6 até 238,6 ug/ml\*DO600. Entre as espécies com resultados positivos para os testes, destacam-se *Candida* (ogataea) *boidinii*, *C. (ogataea) cylindracea*, *C. sorboxylosa*, *Pichia membranifaciens* e *Rhodotorula dairenensis*. Foi observada grande plasticidade fisiológica inter e intra-específica na produção dos fatores promotores de crescimento avaliados.

**Conclusões.** O potencial de produção dos fatores promotores de crescimento avaliados foi detectado em representantes de quase todas as espécies, apresentando diferenças de expressão entre isolados. Para algumas das espécies estudadas, este se trata do primeiro relato de produção destas substâncias.

### TLP-140. Actividad antimicrobiana de nanopartículas de plata biosintetizadas por extracto libre de micelio del hongo *Stereum hirsutum*

Raphael Cuevas\*, Gonzalo Tortella\*, Marcela Díaz\*, Nixon Manosalva\*, M. Cristina Diez\*, Olga Rubilar\*

\*Universidad de La Frontera Chile.

**Introducción.** Las nanopartículas metálicas han recibido cada vez más atención debido a su actividad antimicrobiana contra diversos patógenos humanos y de plantas. En este contexto, el uso de métodos biológicos para su síntesis ha demostrado gran interés debido a la simplicidad del método de obtención de las nanopartículas. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antimicrobiana de nanopartículas de plata sintetizada a partir de extracto libre de micelio del hongo de pudrición blanca *Stereum hirsutum*.

**Materiales y métodos.** La actividad antimicrobiana fue evaluada sobre las bacterias *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus aureus* y *Arthrobacter* spp. Mediante la determinación de la concentración mínima inhibitoria (MIC). Además, la actividad antimicrobiana se evaluó por microscopía electrónica de barrido (SEM) y microscopía confocal con el fin de visualizar el daño células por nanopartículas de metal.

**Resultados.** Los resultados demostraron que las nanopartículas de la mic de las nanopartículas de plata contra *E. coli*, *Pseudomonas* spp., *S. aureus* y *Arthrobacter* spp. Fueron 30, 60, 80 y 80 ug/mL, respectivamente. Asimismo, el análisis sem y microscopía confocal revelaron que nanopartículas de plata que se adhieren a la membrana de las bacterias.

**Conclusiones.** En conclusión las nanopartículas de plata biosintetizada mediante el uso de extracto de micelio libre de *S. hirsutum*, pueden ser utilizadas como inhibidores del crecimiento contra bacterias patógenas. Por último, la biosíntesis de nanopartículas de plata es un método simple y amigable con el medio ambiente. Agradecimientos: fondecyt 1130854, proyecto crhiam /conicyt/ fondap15130015.

### TLP-141. Diversidad y comportamiento aerobiológico de conidias y ascosporas de pleosporales en un ambiente urbano

Alvaro León Rúa-Giraldo\*, Jordina Belmonte S.\*

\*Grupo de Microbiología Ambiental, Escuela de Microbiología, Univ. de Antioquia, Colombia. Dept. Biología Animal, Biología Vegetal y Ecología e Instituto de Ciencia y Tecnología Ambiental (ICTA), Universidad Autónoma de Colombia.

**Introducción.** Los hongos del orden pleosporales se adaptan fácilmente a múltiples sustratos y presentan una amplia distribución en la naturaleza, incluidos ambientes urbanos. Algunas especies son importantes fitopatógenos y se han asociado, además, a cuadros infecciosos y alérgicos en humanos y animales. Recientemente se ha descrito que el principal micoalérgeno de



alternaria alternata, alt a 1, puede estar distribuido entre los géneros de este orden. De ahí la importancia de incluir todos los taxones en el estudio. Objetivos. Identificar los géneros de pleosporales en la aerobiota extradomiciliaria de Barcelona, España, y establecer su comportamiento aerobiológico.

**Materiales y métodos.** Se estudiaron las muestras diarias procedentes del captador tipo hirst (lanzoni) que la red aerobiológica de Catalunya tiene en Barcelona. Se identificaron según características morfológicas los géneros de pleosporales y se contaron, analizando posteriormente su comportamiento horario, diario y estacional, y su relación con los parámetros meteorológicos durante el muestreo.

**Resultados.** En el aire se recuperaron en total 32 taxones de pleosporales, 15 mitosporicos (predominio de *Alternaria*, *Epicoccum*, *Stemphylium* y tipo *Dreschlera/Bipolaris*) con una dinámica de liberación principalmente diurna (hacia el mediodía) y 17 meiosporicos (predominio de *Leptosphaeria*, *Pleospora*, tipo *Venturia* y *Paraphaeosphaeria*) con liberación nocturna (al amanecer). Los análisis estadísticos demostraron para las conidias correlación positiva con temperatura e insolación y negativa con humedad relativa y lluvia, mientras que las ascosporas se correlacionaron positivamente con humedad relativa y lluvias cortas y de forma negativa con temperatura.

**Conclusiones.** Las conidias y ascosporas de pleosporales son un componente común y permanente de la micobiota aérea. Conocer las dinámicas atmosféricas de estos micoalérgenos permite establecer medidas de prevención y control en beneficio de las personas alérgicas a hongos.

### TLP-142. Desarrollo de un medio de cultivo para la producción de biomasa y esporas de *Bacillus sphaericus* como alternativa de control biológico sobre de *Plutella xylostella*

Ligia Consuelo Sánchez L.\*, Libia Lorena González F.\*, Neyireth Geraldyn Parra A.\*, Mayra Alejandra Calderón C.\*

\*Univ. Colegio Mayor de Cundinamarca, Colombia.

**Introducción.** El uso incontrolado de plaguicidas en la agricultura ha generado graves consecuencias en el ambiente, salud humana y biodiversidad, aumentando la resistencia de las plagas a estos compuestos; el control biológico se ha convertido en una alternativa para combatir diversas plagas de importancia en salud pública y agrícolas. El objetivo de este proyecto fue desarrollar un medio de cultivo de origen natural para la producción de biomasa y esporas de una cepa nativa de *Bacillus sphaericus* UCMC B3, como posible alternativa de control biológico sobre larvas de *Plutella xylostella*.

**Materiales y métodos.** La metodología se llevó a cabo en cinco fases, reactivación de las cepas, curva de crecimiento, desarrollo de los medios de cultivo, escalamiento y bioensayos.

**Resultados.** Se seleccionaron seis sustratos naturales (3 legumbres y 3 cereales), que fueron evaluados de manera individual y en combinación para un total de 12 medios de cultivo, de los cuales se determinó que el medio de cultivo GTA, a las 24 h de siembra, presentaba una esporulación terminal mayor o igual al 92% y el medio de cultivo G, una esporulación completa cercana al 63% y 91% a las 24 y 48 h de siembra respectivamente; ambos medios se llevaron a escala de 100 mL y 1 L en biorreactor donde el caldo GTA y G presentaron crecimiento bacteriano de  $4,1 \times 10^9$  ufc y  $5,2 \times 10^7$  ufc, a las 9 h de fermentación respectivamente. Finalmente con los medios GTA, G, CL y L, se realizaron 8 ensayos con larvas de *Plutella xylostella*, con el fin de determinar la capacidad biolarvívica de la cepa nativa UCMC B3, los resultados obtenidos oscilaron entre un 28,57% y 90,90% de eficiencia.

**Conclusiones.** Se concluyó que UCMC B3 tiene actividad biolarvívica cuando se aplica con una esporulación terminal, pero no cuando se aplica únicamente la espóra o el bacilo con esporulación interna.

### TLP-143. Selección de estirpes de bacterias diazotróficas del género *Azospirillum* sp. eficientes en asociación con milheto (*Pennisetum glaucum* L.)

Ivanildo Evódio Marriel\*, Bianca Braz M.\*, Izabelle Gonçalves M.\*, Aline Martineli B.\*, José Avelino S. Rodrigues, Cristiane Abreu De O.\*

\*Embrapa Milho e Sorgo Brasil.

**Introducción.** A cultura de milheto tem recebido atenção crescente como alternativa para cobertura do solo em sistemas de plantio direto e como forrageira na pecuária, principalmente no cerrado. Existem evidências de

benefícios da associação gramíneas x bacterias diazotróficas como fonte de nitrogênio (n), incluindo o milheto, mas não há ainda estirpes recomendadas para esta cultura no país. Propôs-se selecionar estirpes de bacterias diazotróficas eficientes em associações com milheto, brs 1501.

**Materiais e métodos.** Avaliaram-se 20 estirpes de *Azospirillum* (cms01 a 20) e três doses de n em cobertura (0, 30 e 60 kg/ha de n) no campo, sete lagoas – MG, Brasil. Utilizaram-se parcelas de quatro linhas de 5 m de comprimento, com espaçamento de 0,60 m entre linhas e 0,10 m entre plantas; o delineamento experimental usado foi blocos casualizados, com quatro repetições. No plantio, foi efetuada uma adubação básica constituída de 40 kg/ha de ureia, 400 kg/ha de superfosfato simples, 100 kg/ha de cloreto de potássio e de 20 kg/ha de fte. No florescimento, foram analisados acúmulo de massa seca, teores e conteúdo de macronutrientes na parte aérea das plantas.

**Resultados.** Observaram-se diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre tratamentos para as variáveis analisadas, exceto teor de magnésio. O acúmulo de massa seca oscilou de  $163$  a  $367$  g  $3$  plantas<sup>-1</sup> e o conteúdo de n entre de  $3,1$  a  $6,84$  g  $3$  plantas<sup>-1</sup>. Os valores mais elevados foram observados para o tratamento com maior dose de n. As estirpes cms 07 e 11 proporcionaram valores similares aos observados para 60 kg/ha de n, independente das variáveis analisadas. Os resultados sugeriram ainda o papel destas bacterias como promotoras de crescimento vegetal.

**Conclusões.** A variabilidade detectada entre bacterias permitiu a seleção de duas estirpes altamente promissoras para formulação de inoculantes, visando substituição de parte da adubação nitrogenada na cultura de milheto.

### TLP-144. Biosolubilização de fosfatos por bacterias rizosféricas de latossolo vermelho eutroférrico com diferentes históricos de adubação

Juliana Maria Matter\*, Silvio Cesar Sampaio\*, Amarilis Varennes\*, Kathleen Jeniffer Model\*

\*Unioeste, Brasil.

**Introdução.** A presença de nutrientes é um dos aspectos fundamentais para a qualidade dos solos sendo o fósforo um elemento importante para o desenvolvimento vegetal. Nos solos das regiões tropicais e subtropicais, a maior parte do fósforo encontra-se em formas pouco disponíveis às plantas, fator limitante para produções agrícolas. No solo, o fósforo está sujeito a inúmeros processos biogeoquímicos que alteram sua disponibilidade. Entre esses processos, destaca-se a dissolução de fosfatos por micro-organismos (Rocha *et al.*, 2011). Com intuito de reduzir o uso e otimizar os fertilizantes fosfatados solúveis na agricultura, justifica-se a realização de estudos voltados ao isolamento de micro-organismos com capacidade de solubilização. O trabalho objetivou a obtenção de comunidades de bacterias isoladas de latossolo vermelho eutroférrico com capacidade solubilizar fosfatos.

**Materiais e métodos.** O experimento utilizou amostras de solo e rizosfera de um latossolo vermelho eutroférrico com diferente histórico de adubação. Os meios contendo fosfatos insolúveis foram elaborados conforme as necessidades mínimas para o desenvolvimento microbiano adaptado de Milko *et al.*, (2008). A contagem total de ufc foi utilizada para realizar a porcentagem de crescimento relacionada ao crescimento nos meios com as distintas formas de fosfato insolúvel de e a quantidade de bacterias solubilizadoras por solo.

**Resultados.** No solo t1 o total de UFC foi 103 das quais 17% cresceram em p-ca, 22% p-al e 52% fitato. Em t2 foram obtidas 103 UFC relacionadas aos meios de rasteio 20% cresceram p-ca, 26% p-al e 5% em fitato. Para o solo t3 ocorreu a presença de 101 ufc em que 8% cresceram em p-ca, 10% p-al e 13% em fitato.

**Conclusões.** Não houve diferença entre os três tratamentos em relação às bacterias cultiváveis totais. Maior porcentagem de solubilizadores de fitato em t1 pode estar relacionado a baixa disponibilidade dos fosfatos sendo viável vias metabólicas para produção de fosfatases para mineralizar a matéria orgânica.

### TLP-145. Potencial antimicrobiano de actinobacterias frente à bacterias de interesse clínico e fungos fitopatogénicos

Bárbara De Iansã Santos V.\*, Sara Freitas De Sousa\*, Amanda De Lima S.\*, Sílvia Katrine Silva Escher.\*

\*Universidade Federal do Oeste do Pará Brasil.

**Introdução.** As actinobacterias são um grupo diversificado de bacterias presente no solo responsáveis pela produção de uma diversidade de

compostos bioativos, dentre eles os antibióticos utilizados na rotina clínica das doenças infecciosas. O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana da actinobactéria mpo1 isolada de solo rizosférico de aniba parviflora (*Macacaporanga*) frente à cepas de interesse clínico e fitopatogênicas. **Materiais e métodos.** Foi realizado o teste de atividade antimicrobiana através do método de bloco de gelose para avaliação do antagonismo direto frente aos microrganismos *Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Fusarium* spp. e *Rhizoctonia solani*. Posteriormente foi realizado a fermentação da actinobactéria mpo1 em meio líquido ISP2 sob agitação à 390 rpm durante 96 h à 30°C. A atividade antimicrobiana do líquido metabólico foi avaliada à cada 24 h de fermentação pelo método de difusão em poços.

**Resultados.** A linhagem mpo1 foi ativa frente à todos os patógenos no ensaio primário apresentando moderada atividade antimicrobiana contra *Fusarium* sp., *S. aureus*, *S. epidermidis* e *E. cloacae* e alta atividade contra *S. marcescens* e *Rhizoctonia solani*. O líquido metabólico apresentou maior atividade antimicrobiana contra *S. aureus* (MRSA) e *Fusarium* sp., superando os halos observados no antagonismo direto.

**Conclusões.** Diante disto pode-se inferir que o meio ISP2 apresenta boas condições de fermentação para obtenção de compostos antimicrobianos produzidos pela linhagem MPO1 ativos contra cepas multirresistentes e de interesse agrônomico.

### TLP-146. Efecto del uso del suelo sobre comunidades microbianas edáficas en sistemas agroecológicos y convencionales de pastoreo y cultivos de caña de azúcar

Johan Sebastián Sáenz\*, Fabio Roldan\*, Howard Junca\*, Carlos Hernando Molina\*, Enrique Molina\*, Ziv Arbell\*

\*Pontificia Universidad Javeriana, Colombia.

**Introducción.** La actividad agropecuaria desplaza la flora y fauna natural y modifica las propiedades fisicoquímicas del suelo y las comunidades microbianas, alterando la función del suelo. El presente estudio analizó los cambios en la comunidad microbiana edáfica en sistemas agroecológicos y convencionales.

**Materiales y métodos.** Se tomaron muestras de suelo (n=3) de sistemas de pastoreo convencional, sistemas silvopastoriles intensivos, caña de azúcar convencional y caña de azúcar con manejo agroecológico de 2 regiones de Valle del Cauca: Reserva Natural El Hatico (El Cerrito) y hacienda lucerna (Bugalagrande) y a sus alrededores. Adicionalmente, se muestrearon suelos de un bosque seco tropical (La Reserva Natural El Hatico) como referencia de un sistema no intervenido. Las comunidades microbianas edáficas fueron caracterizadas mediante secuenciación masiva (miseq de illumina) de amplicones de la región v4 del gen 16srrn obtenidos a partir del ADN metagenómico de cada suelo.

**Resultados.** Se encontró que las comunidades microbianas de los mismos sistemas productivos (caña de azúcar o pastoreo) se agrupan entre sí, mientras que el manejo agrónomico (convencional vs. agroecológico) y la distancia geográfica o propiedades fisicoquímicas del suelo asociados a cada región (El Cerrito vs. Bugalagrande) tenía un efecto menor. Además, las comunidades microbianas edáficas de los sistemas agropecuarios presentaron mayor similitud entre si comparado con las comunidades edáficas del bosque. De las propiedades fisicoquímicas evaluadas, el pH, la concentración de amonio y potasio tienen un efecto significativo sobre la estructura y composición de las comunidades microbianas. La mayor diferencia entre los suelos se debe a cambios de la abundancia (p<0,05) de las fila ws3, Chlamydiae, Firmicutes, Acidobacteria, Planctomycetes, Proteobacteria y Crenarchaeota.

**Conclusiones.** El sistema productivo (pastoreo vs. Caña de azúcar) es el factor principal que determina las comunidades microbianas por encima del tipo de manejo (agroecológico vs convencional) y la zona geográfica o las propiedades fisicoquímicas del suelo asociadas a cada zona.

### TLP-147. Determinação de zinco, chumbo, cromo e cobre em soja cultivada em argissolo com biossólido

Giani Bohm\*, Pedro Sanches\*, Leticia Bierhals\*, Sabrina Schwanz\*

\*Instituto Federal Sul-Rio-Grandense Brasil.

**Introdução.** O cultivo de soja com a utilização de lodo se torna uma nova alternativa para a reposição da matéria orgânica e de nutrientes

ao solo, e sua aplicação pode suprir suas necessidades e resultar em melhor desenvolvimento fisiológico e de produtividade de grãos. Porém surgem dúvidas quanto à possível transferência de metais para a planta, uma vez que além de matéria orgânica e minerais os lodos de esgoto tem se caracterizado por apresentar elevadas concentrações de metais pesados. O lodo, quando proveniente de estações de tratamento de esgoto (ete) destinadas a tratamento de esgoto doméstico, é enquadrado como resíduo classe ii a ou até mesmo b conforme a associação brasileira de normas técnicas abnt nbr 10004, que permite seu uso com maior segurança na agricultura. Nesse contexto, foram realizados cultivos de soja em argissolo vermelho-amarelo distrófico com diferentes dosagens de lodo de esgoto, obtido da estação de tratamento de esgoto doméstico de pelotas/RS, com o objetivo de avaliar os resíduos de metais pesados na parte aérea da planta de soja.

**Materiais e métodos.** O experimento foi realizado em vasos, num delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os tratamentos estudados foram: t1 – testemunha; t2 – adubação mineral + calcário; t3 – 50 g vaso-1 lodo + calcário; t4 – 100 g vaso-1 lodo + calcário; t5 – 200 g vaso-1 lodo + calcário. A parte aérea das plantas de soja foi submetida à análise de chumbo, zinco, cromo e cobre, segundo metodologia descrita por abreu et al. (2004). Os extratos foram submetidos a análises por espectrofotometria de absorção atômica de chama em um espectrofotômetro gbc 932 plus.

**Resultados.** Os teores médios de zinco e cobre foram, respectivamente, 99,75mg kg<sup>-1</sup> e 6,35 mg kg<sup>-1</sup>. Os teores de chumbo e o cromo não foram detectados na parte aérea das plantas.

**Conclusões.** Os resultados evidenciaram que os teores de metais pesados na parte aérea das plantas não foram afetados pela aplicação do lodo de esgoto.

### TLP-148. Correlação entre características físico-químicas de amostras de solos contaminados por hidrocarbonetos e a população de bactérias heterótrofas totais

Guillermo Ladino-Orjuela\*, Eleni Gomes\*

\*Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - IBILCE. Universidade Estadual Paulista - Júlio de Mesquita Filho – UNESP, Brasil.

**Introdução.** Estudos mostram as características físicas e químicas do solo como determinantes das dinâmicas populacionais de bactérias. Não foi encontrada informação referente a características físicas, químicas e/ou biológicas de solos, de postos de combustível. Objetivo. Determinar a correlação entre as características físicas e químicas de solos de postos de combustível com histórico de contaminação por derivados de petróleo e o número mais provável (NMP) de bactérias heterótrofas totais.

**Materiais e métodos.** Foram escolhidos aleatoriamente cinco postos com solo evidenciando contaminação por derivados de petróleo. Usando material estéril, foram extraídas e homogeneizadas 500 g de amostras de solo e transportadas sob refrigeração ao laboratório. Aliquotas de 200 g foram enviadas ao laboratório de solos para análise. As variáveis foram pH, matéria orgânica (mo). 50 g de amostra dos postos foram usados para determinar o número mais provável de bactérias degradadoras de hidrocarbonetos (NMP bdh). Foi feito um análise de regressão linear usando o programa excel.

**Resultados.** PH em CaCl<sub>2</sub>; matéria orgânica– mo - g/dm<sup>3</sup>; macronutrientes- fósforo mg/dm<sup>3</sup>- potássio- cálcio- magnésio- acidez potencial-soma de bases trocáveis- e capacidade de troca de cátions a pH 7.0 em mmolc/dm<sup>3</sup>, e v em %. Posto 1:(6.9-38-112-2.9-184-25-7-235-199.4-98)–posto 2:(6.2-13-127-3.6-155-29-8-188-195.6-96)–posto 3:(6.7-44-137-2.2-238-21-12-261-273.2-96)–posto 4:(6.3-10-47-1.3-89-20-6-110-116.3-95) –posto 5:(6.4-27-64-1.3-258-22-10-281-291.3-97). Micronutrientes (boro, cobre, ferro, manganês, zinco e sulfato em mg/dm<sup>3</sup>, al em mmolc/dm<sup>3</sup>) posto 1.(0.23-1.9-15-3.1-16-5-0) –posto 2.(0.29-2.3-9-2.8-11-2-0) –posto 3.(0.43-5.2-113-7.7-175-8-0) –posto 4.(0.18-1.1-29-4.3-12-3-0) –posto 5.(0.26-2.5-113-4.3-23-27-0). O nmpbdh para os postos foi #1-1.17x10<sup>10</sup>; #2-2.41x10<sup>6</sup>; #3-2.35x10<sup>6</sup>; #4-3.23x10<sup>7</sup>; #5-1.03x10<sup>6</sup>. A r<sup>2</sup> da análise estatística esteve cerca de zero para todas as variáveis.

**Conclusões.** Nos solos analisados não existe correlação entre a concentração de macronutrientes, micronutrientes, mo e o NMPbdh.

### TLP-149. Fungos celulolíticos isolados de solo de diferentes áreas do bioma cerrado em Goiás – Brasil

Priscila Souza E. Silva\*, João Marcos Roque F.\*, Geslayny Da Silva M.\*, Nayra Rodrigues A.\*, Syd Pereira F.\*, Saulo José Linhares De S.\*

\*Universidade Estadual de Goiás - UEG Brasil.

**Introdução.** O cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, sendo o bioma característico do estado de Goiás. Grande parte da área do cerrado já foi afetada pela agropecuária e pela ocupação urbana. O solo é componente essencial dos ecossistemas e os fungos são importantes na degradação da matéria orgânica, sendo a celulose seu principal componente. O objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade de fungos filamentosos celulolíticos de solo em três áreas distintas: cerrado preservado em área agrícola, área de agricultura e área urbana.

**Materiais e métodos.** Foram coletados solos em três diferentes pontos com distância mínima de 3 metros a uma profundidade entre 0 a 10 cm. Os isolamentos foram feitos em meio mínimo pelo método de diluições em série. A atividade celulolítica foi identificada por ensaio em placa contendo carboximetilcelulose corada com solução de vermelho Congo 0,1%.

**Resultados.** Do solo de cerrado preservado foram isoladas 26 colônias de fungos que compreenderam 11 morfotipos e 10 produtores de celulasas. Da área de plantio de sorgo foram identificadas 19 colônias de fungos, sendo 8 morfotipos e 6 produtores de celulasas. Em solo de área urbana, as 8 colônias isoladas corresponderam a 5 morfotipos, sendo 3 produtores de celulasas. Foi observado apenas 1 morfotipo comum entre a área preservada e a área de plantio e 1 morfotipo comum entre as áreas urbana e de plantio. Os fungos que apresentaram maior halo de degradação de celulose foram de área preservada, seguido de área de plantio e de área urbana.

**Conclusões.** Resultados preliminares permitem concluir que a diversidade de fungos foi menor nas áreas urbanas e de plantio que na região preservada de cerrado. O número de fungos celulolíticos também é alterado conforme a atividade realizada no solo. Mais estudos devem ser feitos para confirmar os resultados. Pretende-se também identificar as espécies de fungos isolados em cada área.

### TLP-150. Determinación del ciclo de vida de *Gloeocapsopsis* sp. cianobacteria unicelular del desierto de Atacama

Catalina Urrejola\*, Carlos Henríquez-Castillo\*, Loreto Salas\*, Peter Von Dassow\*, Rafael Vicuña\*

\*Pontificia Universidad Católica de Chile.

**Introducción.** *Gloeocapsopsis* es un cianobacteria extremófila de origen endolítico, aislada en el desierto de Atacama. Se ha propuesto que esta cianobacteria podría ser un buen modelo para estudiar mecanismos moleculares asociados a desecación, razón por la cual es fundamental conocer cómo se reproduce y organiza durante su ciclo de vida.

**Materiales y métodos.** Se realizaron curvas de crecimiento de *Gloeocapsopsis* sp. En medio BG11 líquido, tomando muestras en triplicado para microscopía electrónica de transmisión (TEM) y también para tinción pas. Además se tomaron muestras frescas para cuantificación mediante facs, usando un citómetro de alta resolución BD Influx™, con láseres de excitación a 488 nm y 640 nm y detección en el rango de fluorescencia roja. Para confirmar la correcta definición de las poblaciones celulares obtenidas por tem, se purificaron mediante cell-sorting las diferentes poblaciones y se cuantificaron mediante microscopía.

**Resultados.** La composición de la población celular de *Gloeocapsopsis* sp. varía conforme sus etapas de desarrollo, observándose diferentes agrupaciones celulares. En condiciones de laboratorio, las células únicas se dividirían por fisión binaria, para luego hacerlo cada una de las células hijas formando la característica tétrada. En comparación con otros estudios realizados en este tipo de cianobacterias, nosotros no observamos eventos de fisión múltiples. Las diferentes estructuras extracelulares jugarían un rol clave en su organización. El evidente desarrollo de las láminas extracelulares durante las fases de crecimiento y estacionarias podrían ser indicadores de la habilidad que tiene este organismo de crecer y colonizar rocas desiertas. Un desafío futuro representa sin dudas conocer cómo es que las células durante su ciclo de vida responden a la desecación.

**Conclusiones.** El presente trabajo demuestra la utilidad de combinar citometría de flujo avanzada con observaciones clásicas de microscopía electrónica y óptica, para conocer y determinar el ciclo de vida y el desarrollo de las colonias en cianobacterias unicelulares.

### TLP-151. Antibacterial activity of filamentous fungi towards *Xanthomonas citri* subsp. *citri*

Danilo Augusto Polezel\*, André Rodrigues\*, Henrique Ferreira\*, Paulo Cezar Vieira\*, Tatiane Regina Albarici\*

\*Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Brasil.

**Introduction.** *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (xac) is known as the causative agent of the asian citrus canker, a disease responsible for major economic losses in the Brazilian citriculture. To screen filamentous fungi strains deposited at the UNESP-microbial resource center (UNESP-MRC) for antibacterial activity against xac.

**Materials and methods.** Filamentous fungi (n= 201 strains) were grown in 50 mL of pdb at 25°C, under 120 rpm, for eight days. After incubation, the mycelium was recovered from the liquid medium by centrifugation. The supernatant was freeze-dried and suspended in 5 mL of ultrapure water. To evaluate the antibacterial activity against xac, we carried out a high-throughput method in solid medium using 30 µl of each metabolic extract. Inhibition halos on the solid medium were used to confirm antimicrobial action. Ethyl acetate and butanolic fractions of metabolic extracts that showed high activity were further evaluated using the same protocol.

**Results.** A total of 38 out of 201 crude extracts (19%) were positive against xac. Five extracts showed inhibition halos higher than 13 mm, similar to the inhibition halos in the control (Kanamycin 20 µg/mL). Only three ethyl acetate fractions kept the same positive results observed for their respective crude extracts, with inhibition halos ranging from 14 mm to 19 mm. Future studies will clarify the nature of the chemical compound(s) involved in the inhibition activity.

**Conclusions.** This study showed the potential of fungi in producing bioactive compounds of biotechnological interest, thus adding applied relevance for the fungi preserved at UNESP-MRC.

### TLP-152. Partial characterization of antibacterial compounds produced by an antarctic *Streptomyces* strain

Paris Leonardo Lavin S.\*, Alejandro Alberto Gran S.\*, David Astudillo B.\*, Joan Villena\*, José Manuel Pérez D.\*

\*Instituto Antártico Chileno, Chile.

**Introduction.** The rapid transference and dissemination of resistance genes among different microbial populations and the spread of multi-drug-resistant bacterial pathogens necessitates the search for novel or alternative antibacterial agents. Therefore, research of microorganisms in poorly explored areas with unusual environments to avoid redundancy in isolation of compounds and actinomycetes has become important. The antarctic continent is one of the most extreme and pristine places on earth. Consequently, as abiotic factors become more intense with the increase in latitude, the selection pressures in antarctic represent a unique opportunity to investigate and exploit the biodiversity of unexplored microbial communities goal: the aim is characterize the production of antibacterial compounds and their effects against multiresistant bacterias, minimum inhibitory concentration (MIC) against susceptible bacterias and the toxicity of crude extract.

**Materials and methods.** The culture was incubated at 3 different temperature for 7 days. Extraction of compounds was made from the cell-free culture supernatant using ethyl acetate. Bacterial inhibitory assay was carried out against 7 multi-resistant bacteria, *Staphylococcus aureus* (ATCC6538p) and *L. monocytogenes*. LB agar seeded with target strain was poured over the spots of TLC chromatography. Toxicity was evaluated by brine shrimp lethality test.

**Results.** The strain produce in oatmeal medium at least eleven antimicrobial substances active. The compound production is higher at 12°C than at 28°C. Significant antibacterial activity was showed only against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. The MIC were 1 and 10 µg/mL, respectively. The LC50 for *Artemia salina* was 24,6 µg/mL.

**Conclusions.** The extract showed compounds with interesting activity against *Listeria monocytogenes* (ISP) that deserve to be purified and tested to further use.

### TLP-153. Determinación de microorganismos en filtros pm2.5 de la estación med-UNFM de la red de monitoreo de calidad del aire del Valle de Aburrá

Duvan Alexander Nanclares C.\*, Carmen Elena Zapata S.\*, Olga Ines Montoya C.\*, Diego Alejandro Grajales G.\*, Juan Pablo Garcia E.\*

\*Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín Colombia.

**Introducción.** La contaminación del aire en ambientes urbanos viene aumentando en los últimos años debido a las actividades antropogénicas como la quema de combustibles fósiles, las plantas de tratamiento de aguas residuales, los centros de manejo de desechos sólidos, entre otros. Actualmente, las enfermedades respiratorias son asociadas con contaminantes atmosféricos, principalmente el material particulado presente en el aire tanto inhalable (pm2.5) como respirable (pm10). Sin embargo, en el Valle de Aburrá es poco lo que se ha estudiado sobre la presencia de los microorganismos asociados al material particulado, por lo que esta investigación busca determinar la diversidad de microorganismos presentes en filtros pm2.5 de la estación MED-UNFM - red de monitoreo de calidad del aire del Valle de Aburrá.

**Materiales y métodos.** Un equipo de muestreo de aire BGI pq200 semiautomático fue utilizado para la recolección del material biológico en filtros de teflón pm2.5 de 47mm de diámetro. Una muestra de estos últimos fue inoculada e incubada en un caldo de enriquecimiento; se realizaron diluciones seriadas y fueron inoculadas en medios de cultivo selectivos. Cada una de las cepas aisladas fueron caracterizadas morfológica y bioquímicamente (API 50 chb).

**Resultados.** La mayor diversidad microbiana se obtuvo en agar chocolate y sangre, donde predominaron cepas del género *Bacillus* con diferente tamaño, forma y disposición del esporo; muchos de los cuales presentaron actividad hemolítica lo que se relaciona con microorganismos patógenos. Se hallaron cocos con capacidad de fermentar el manitol y con actividad coagulasa positiva característico de *Staphylococcus aureus*. En el medio PDA se aislaron hongos de los géneros *Penicillium* y *Aspergillus*.

**Conclusiones.** Se pudo evidenciar la diversidad de microorganismos asociados al material particulado pm2.5. Algunas de las cepas aisladas se consideran patógenas y pueden llegar a producir enfermedades en los seres humanos.

### TLP-154. Isolamento e seleção de microrganismos solubilizadores de fosfato e AIA de solo proveniente de uma jazida mineral do estado de Goiás, Brasil

Waylon Rocha N.\*, Valéria Ribeiro M.\*

\*Pontifícia Universidade Católica de Goiás Brasil.

**Introdução.** A utilização biotecnológica de microrganismos pela agricultura, se tornou uma ferramenta fundamental para o desenvolvimento de um processo agrícola que vise o aumento da produção e consequente redução de gastos com recursos agrícolas e de possíveis impactos ambientais indesejáveis. Objetivos: isolar e selecionar microrganismos solubilizadores de fosfato e produtores de ácido indol acético (AIA) de um solo proveniente de uma jazida mineral do estado de Goiás, Brasil, que possam ter aplicação biotecnológica na agricultura no futuro.

**Materiais e métodos.** Amostras de um solo rizosférico foram diluídas e plaqueadas nos meios nbrp e s-fosfato. Os isolados obtidos foram avaliados quanto a capacidade em solubilizar fosfato nos referidos meios e calculado o índice enzimático (ie), através da divisão do tamanho do halo enzimático pelo tamanho da colônia. Verificou-se, também, a capacidade dos isolados selecionados em produzir substâncias antimicrobianas entre eles e capacidade em produzir auxinas utilizando o reagente de salkowski.

**Resultados.** Do total de 58 isolados obtidos, apenas 16 mostraram-se capazes em solubilizar fosfato, sendo esta solubilização maior no meio nbrp. Destes, dois apresentaram ie  $\alpha 4$  e dois ie  $\alpha 3$ . Observou-se que 6 isolados demonstram capacidade em produzir substância antimicrobiana entre eles com um ou mais isolados. Cinco isolados solubilizadores de fosfato também demonstraram produção de aia.

**Conclusões.** A capacidade solubilizadora de fosfato pelos isolados variou conforme o meio de cultura utilizado. Nem todos os isolados podem ser colocados juntos em um futuro produto comercial, devido a produção de compostos antimicrobianos. Alguns microrganismos solubilizadores também produzem aia, sendo isso relevante na agricultura. Os isolados obtidos carecem de maiores estudos de caracterização, as-

sim como os que visem a produção de um produto comercial, incluindo vida-de-prateleira, testes em escala piloto e campo.

### TLP-155. Screening of bacterial isolates from Brazilian oil-impacted mangrove for lipase and esterase activities

Júlia Ronzella O.\*, Alysson Wagner Fernandes D.\*, Lilian Luzia Beloti.\*, Bruna Zucoloto Da C.\*, Itamar Soares De M.\*, Anete Pereira De S.\*, Anita Jocelyne M.\*, Valéria Maia De O.\*

\*Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP/CPQBA Brasil.

**Introduction.** Mangroves are rich ecosystems full of biological activity and wide variety of life. They are characterized for peculiar and severe environmental conditions such as high salinity, pH variations, lack of oxygen and deficiency of micronutrients. In addition to that, the bertioiga city mangrove was affected by an oil spill in the 80s, which deeply affected the ecosystem. Since the accident, the mangrove is under recovery and the indigenous microbiota has developed mechanisms to survive and adapt to the pollutants, providing a potential source of interesting active molecules. In this sense, the aim of this work was to screen bacterial isolates from bertioiga mangrove sediments in the search for esterase and lipase activities.

**Materials and methods.** For esterase assays, isolates were grown on tsa medium added of 1% arabic gum and 1% tributyrin. Plates were incubated at 28°C for 24 – 48 h and results were observed through halo formation around colonies. For lipase assays, isolates were grown on tubaki medium without glucose added of 1 g/mL of rhodamine b for each 100 mL of medium. Plates were incubated as described before and lipase activity was observed through formation of a fluorescent halo visualized under uv light. Twelve isolates were selected and submitted to fluorescence-based assays using umbelliferone derivatives as probes. Assays were conducted for 72 h, being measured every 24 h.

**Results.** The best result for esterase activity was achieved for *Gordonia sp.* Strain ccma-559, which converted >99% of the substrate within 48 h. The best lipase performance was obtained for *Bacillus safensis* strain ccma-560, which converted >99% of the substrate within 24 h.

**Conclusions.** These results are promising and further steps comprise the overexpression, functional and structural characterization of these enzymes. Acknowledgments: fundação de amparo à pesquisa do estado de são paulo – fapesp. Processes: 2010/51981-3, 2011/50809-5, 2010/08352-5, 2013/16813, 2011/10378-5.

### TLP-156. Análise microbiológica e físico-química da água de abastecimento e dos bebedouros de um centro universitário no município de Maceió - Alagoas - Brasil

Flavia Scigliano Dabbur\*, Ana Paula Lisboa M.\*, Maria Rosario Da S.\*, Marili Da Silva F.\*

\*Centro Universitário Cesmac Brasil.

**Introdução.** A água é um elemento essencial para a sobrevivência do homem. Além das funções biológicas em nosso organismo, ela é considerada solvente universal, mas pode trazer riscos à saúde se for ingerida sem tratamento adequado. Para que a água esteja nos padrões de consumo humano, deve obedecer aos parâmetros físico-químicos e microbiológicos da portaria 2.914 de 12 de dezembro de 2011 do ministério da saúde. O objetivo deste trabalho foi realizar análises físico-químicas e microbiológicas da água de abastecimento e dos bebedouros de um centro universitário localizada na cidade de Maceió – Alagoas - Brasil.

**Materiais e métodos.** As amostras foram coletadas do poço de abastecimento, da cisterna, torneira do ambiente e de 12 bebedouros as análises físico-químicas realizadas foram automatizadas sendo elas sabor, odor, cor aparente, pH, condutividade, turbidez, cloro residual livre, flúor, ferro e nitrato. As análises microbiológicas foram realizadas quanto à presença ou não de coliformes totais e fecais pela técnica de filtração em membrana.

**Resultados.** Os resultados obtidos revelaram que dos parâmetros físico-químicos analisados o valor de nitrato ficou acima da especificação e o pH ligeiramente ácido levando em consideração a faixa de referência da portaria nº 2.914/ 2011 do ms. Já nas análises microbiológicas, houve presença de coliformes totais em mais de 5% das amostras entretanto essas não apresentaram contaminação fecal.

**Conclusões.** No geral, a qualidade da água não é desejável no quesito microbiológico provavelmente por conta da não potabilização da água antes da distribuição. Fica a sugestão da necessidade de um acompanhamento, manutenção e registros constantes da qualidade da água disponível em toda a rede de distribuição, principalmente na água de consumo humano (bebedouros).

### **TLP-157. Nuevos flavonoides, generados por transformación enzimática, contrarrestan el estrés oxidativo en *Burkholderia xenovorans* lb400 (novel flavonoids, generated by enzymatic transformation, counteract oxidative stress in *Burkholderia xenovorans* lb400)**

Franco Cárdenas\*, Myriam González\*,  
Bernd Hofer\*, Michael Seeger\*

\*Universidad Técnica Federico Santa María, Chile.

**Introducción.** Los flavonoides son una gran familia de metabolitos secundarios de plantas que comprenden más de 10.000 estructuras, los cuales tienen multiplicidad de funciones biológicas. Plantas sometidas a condiciones de estrés severo sintetizan y acumulan preferencialmente flavonoides hidroxilados en su anillo b, los cuales son buenos secuestradores de especies reactivas de oxígeno (eros). Además, la actividad antioxidante de flavonoides se debe a otras características, como la capacidad de quelar metales y la activación de enzimas antioxidantes. Con el objetivo de obtener nuevos flavonoides con una alta capacidad antioxidante, se generaron flavonoides di y monohidroxilados en el anillo b, mediante biotransformación con las enzimas microbianas bifenílo-2,3-dioxigenasa (bpHa) y bifenílo-2,3-dihidrodiol 2,3-deshidrogenasa (bpHb) de la cepa *Burkholderia xenovorans* lb400.

**Materiales y métodos.** Los genes de ambas enzimas están codificados en plásmidos de expresión inducible en cepas de *E. coli* bl21(de3)pLys. Estas cepas fueron utilizadas para biotransformar flavonoides mediante la metodología de células en reposo. Al menos 18 flavonoides fueron biotransformados. Nueve productos se purificaron por hplc-uv preparativa y su estructura química se caracterizó por GC-MS, LC-MS y NMR. Todos los productos presentaron mejor actividad antioxidante que el flavonoide sustrato, en el ensayo de captura del radical dppH. Como modelo *in vivo* de estrés oxidativo, se utilizó el crecimiento de *B. xenovorans* lb400 en bifenílo.

**Resultados.** En general, los flavonoides favorecieron el crecimiento de la cepa. Análisis de expresión génica por RT-QPCR de genes que responden a estrés oxidativo, mostraron que los flavonoides disminuyen la expresión de algunos de estos genes. Lo anterior se correlaciona además con la medición de eros por fluorescencia y por la medición de actividades enzimáticas.

**Conclusiones.** De esta forma, ha sido posible obtener nuevos flavonoides con actividad antioxidante mediante biotransformación, sin depender de su búsqueda en fuentes naturales o la síntesis química.

### **TLP-158. Actinomicetos aislados de "top soil" de una zona minera de la región Cajamarca – Perú, y su efecto antagonista a bacterias estandar multi-drogo-resistentes (MDR)**

Ulrike Inge Tarazona J.\*, Abigail Gutiérrez E.\*, Carolina Quispe S.\*,  
Jorge León Quispe.\*, Mónica Huamán I.\*

\*Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú.

**Introducción.** Los actinomicetos representan la mayor fuente de metabolitos microbianos con actividad antibiótica. La aparición cada vez más frecuente de patógenos MDR exige la producción de nuevos antibióticos. El objetivo del estudio fue determinar el potencial antimicrobiano de 30 cepas de actinomicetos frente a bacterias MDR estándar.

**Materiales y métodos.** Las cepas fueron reactivadas en caldo nutricio e incubadas a 28°C en agitación a 180 rpm por 7 días. A partir de pruebas preliminares de antagonismo frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 se seleccionaron 10 actinomicetos activos, los cuales se enfrentaron a una colección de cepas MDR estándar: *Enterococcus faecalis* ATCC 51922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* MBL (+). Asimismo se realizó la prueba de concentración mínima inhibitoria

(CMI) de 5 actinomicetos de mayor actividad frente a las cepas MDR estándar. Complementariamente estas cepas de actinomicetos fueron observados por microscopía electrónica de barrido.

**Resultados.** Los resultados del primer "screening" indican que del total de cepas evaluados, 33% mostraron tener actividad antagonista a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y 14% a *Escherichia coli* ATCC 25922. En el segundo "screening" las cepas designadas como 24 y 30 presentaron los halos de inhibición de mayor tamaño frente a *K. pneumoniae* (55 y 56 mm de radio respectivamente). Los extractos crudos de la cepa 15 obtenidos con diclorometano mostraron CMI de 0,46 mg/mL frente a *S. aureus*, y *E. faecalis*.

**Conclusiones.** En conclusión, el suelo orgánico (top soil) de la zona minera en estudio alberga actinomicetos con capacidades de producir compuestos bioactivos que inhiben patógenos.

### **TLP-159. Análise da diversidade de Archaea em solos de cerrado sensu stricto submetidos ou não a queimadas bienais**

Aline Belmok De Araújo D.\*, Thiago Rodrigues De O.\*, Heloisa Sinatora M.\*, Ricardo Henrique Krüger.\*, Cynthia Maria Kyaw.\*

\*Universidade de Brasília Brasil.

**Introdução.** Embora a proposta de classificação dos seres vivos em três domínios tenha ocorrido há quase 25 anos, ainda são escassos os estudos sobre archaea nos diferentes ambientes naturais do Brasil. O cerrado é um extenso e importante bioma de nosso país. No entanto, existem poucos trabalhos que descrevem a diversidade e filogenia do domínio archaea nos solos das diferentes fitofisionomias deste bioma. Além disso, queimadas são eventos ecológicos naturais do cerrado e não existem estudos sobre o seu efeito na população de archaeas de solos deste ambiente. Este trabalho tem como objetivo avaliar e comparar a diversidade de archaea em solos de cerrado sensu stricto que não sofrem queimada há aproximadamente 30 anos e solos que são queimados em regime bienal.

**Materiais e métodos.** Amostras de solo coletadas na reserva ecológica do ibge foram submetidas à extração de DNA total, que foi utilizado em ensaios de pcr com os iniciadores 21f/958r, específicos para o domínio archaea. Os fragmentos amplificados foram clonados e transformados em *escherichia coli*. O DNA plasmidial dos clones recombinantes foi extraído e submetido ao sequenciamento automático.

**Resultados.** Foram obtidas 276 sequências e análises demonstraram que a grande maioria pertence ao filo thaumarchaeota e estão distribuídas entre os grupos 1.1b e 1.1c deste filo. Representantes do grupo 1.1c estão comumente associados a solos ácidos, o que condiz com as condições encontradas no cerrado. Apesar da semelhança encontrada na riqueza de archaeas nos solos em ambas condições, as amostras de solo queimado bialmente apresentaram maior abundância de thaumarchaeotas do grupo 1.1b, que engloba muitos organismos oxidantes de amônia. A oxidação de amônia é fundamental para o ciclo do nitrogênio, apresentando grande importância ecológica.

**Conclusões.** Esses resultados fornecem informações acerca da diversidade de archaea em solos de cerrado sensu stricto e sugerem um possível efeito de queimadas bienais na sua ecologia.

### **TLP-160. Isolamento de bactérias solubilizadoras de fósforo com potencial valor na agricultura sustentável**

Qu Guiwei\*, Lúcia Mendes\*, Amarilis Varennes\*,  
Juliana Maria Matter\*, Silvio Cesar Sampaio\*

\*ISA - Instituto Superior de Agronomia Brasil.

**Introdução.** Os microrganismos do solo desempenham um papel fundamental nos ciclos biogeoquímicos pela capacidade de produção de enzimas específicas, ácidos orgânicos e compostos necessários para a mobilização de compostos solúveis/insolúveis, orgânicos/inorgânicos, promovendo a ciclagem dos nutrientes. O fósforo é um dos nutrientes que maior déficit apresenta nos solos, estando maioritariamente presente em formas insolúveis/baixa solubilidade, representa uma limitação na nutrição das plantas. Os fitatos (fins) e os fosfatos de cálcio (pins), alumínio (pal) e ferro (pfe) são fontes de fósforo indisponíveis, mas cuja mobilização poderá ser aumentada pela aplicação de consórcios microbianos ao solo.

**Materiais e métodos.** Foram isoladas bactérias, a partir da rizosfera de plantas, de 4 solos diferentes, três de uma mina abandonada de sulfureto metálicos (s1; s2; s3) e de um solo livre de contaminação (b).

**Resultados.** Do total de bactérias encontrado (total ufc,  $b > s2 > s3 > s1$ ) aquelas que cresceram nos meios mínimos de pins, fins, pal e pfe apresentam, respectivamente, os seguintes resultados para: s1 -22%, 12%, 43% e 35%; s2 -36%, 25%, 52% e 33%; s3 -27%, 22%, 29% e 17%; b -74%, 70%, 46% e 32%. Os resultados sugerem disparidade nas características inter-solos (que se verifica) sendo de esperar diferentes mecanismos de sobrevivência e eficiências de solubilização (ef). Testaram-se as ef em pins e fins e verificou-se um ponto em comum, todas foram mais eficientes em fins que em pins e em s2, s3 e b foram registradas ef altas (25%, 12% e 15%, respectivamente). Para pins as ef foram semelhantes para todos os solos não tendo sido encontradas ef altas, registraram-se apenas ef médias nos solos s2(36%), s3(31%), b(17%) e s1(9%).

**Conclusões.** Estes resultados são diversificados, contudo a solubilização é um fenômeno complexo que depende de inúmeros factores, assim serão ainda identificados os isolados e testados os seus efeitos no crescimento das plantas.

### TLP-161. Método HPLC para determinação de rotas metabólicas de degradação de fenol por bactérias

Guillermo Ladino-Orjuela\*, Eleni Gomes\*

\*Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - IBILCE. Universidade Estadual Paulista - Júlio de Mesquita Filho – UNESP Brasil.

**Introdução.** A contaminação por hidrocarbonetos aromáticos é um problema crescente. A presença do anel benzênico confere a estas substâncias características de recalcitrância e toxicidade. A degradação do anel aromático pode acontecer pelas vias de orto-, meta- e para-clivagem. Conhecer as rotas metabólicas de degradação vai ajudar no aprimoramento das atividades de descontaminação de solos e águas poluídas por estas substâncias. Objetivo. Determinar as rotas metabólicas utilizadas por bactérias para degradar fenol.

**Materiais e métodos.** Em erlenmeyer de 50 mL, foram feitas culturas bacterianas em triplicata, em volume de 20 mL de meio líquido mineral (mim) com fenol em concentração de 50 ppm. A inoculação foi com 15 µL de cultura bacteriana com  $DO_{600} = 0.3$  e colocadas em bod durante 144 h. A cada 24 h foram extraídas amostras de cada cepa para posterior análise por espectrofotometria líquida de alto desempenho (HPLC). Aliquotas de 2 mL de cada cultura foram centrifugadas em tubos ependorf durante 10 minutos a 13000 rpm em ambiente refrigerado a 4°C. O sobrenadante foi filtrado com membrana de 0.22 µ. O tempo de retenção dos analitos padrão foi calculado com soluções 10 ppm. A fase móvel foi isocrática com 60% de solução aquosa de ácido fósfórico pH 2.2 e metanol 40%. A coluna foi c18, 4.6 x 250 mm com temperatura de 35°C, volume de injeção da amostra 30 µL, comprimento de onda 270 nm em espectrofotômetro perkinelmer flexar.

**Resultados.** Tempos de retenção para analitos: fenol 4.36 min, catecol 3.32 min e ácido *cis-cis* mucônico 3.06 min. Picos de absorbância foram observados nos tempos de retenção dos padrões fenol, catecol e ácidos *cis-cis* mucônico.

**Conclusões.** Os picos observados nas soluções padrão mostraram que o método descrito é adequado para a detecção dos analitos. A rota da orto-clivagem foi detectada em 5 das culturas bacterianas testadas.

### TLP-162. Selección de genotipos tóxicos y no-tóxicos de *Microcystis* spp. mediante aislamiento de muestras naturales

Paula Vico\*, Gabriela Martínez de La E.\*, Macarena Simoens\*, Jacqueline Cea\*, Sylvia Bonilla\*, Angel Segura\*, Danilo Calliari\*, Diana Míguez\*, Carla Kruk\*, Claudia Piccini\*

\*Depto. de Microbiología. IIBCE, MEC. Sección Limnología, Facultad de Ciencias, Udelar. Laboratorio Tecnológico de Uruguay. Ecología Funcional de Sistemas Acuáticos. Cure-Rocha, Udelar Uruguay.

**Introducción.** Entre las especies de cianobacterias asociadas a floraciones tóxicas en Uruguay, *Microcystis* spp. es la más frecuente. Las diferentes especies, e incluso poblaciones, presentan una alta variabilidad en su toxicidad y se ha demostrado que poblaciones capaces de producir toxinas (genotipos tóxicos) coexisten con aquellas que no las

producen. Sin embargo, no es posible distinguir genotipos tóxicos de no-tóxicos mediante análisis morfológicos. Objetivo general. Obtener conocimiento sobre la dinámica *in situ* de genotipos tóxicos de *Microcystis*.

**Materiales y métodos.** Metodología. Se analizaron muestras de agua tomadas durante distintas estaciones del año en el embalse de salto grande (río Uruguay), donde las floraciones de *Microcystis* spp. son frecuentes. Se analizó la presencia de un gen implicado en la síntesis de microcistinas (MCYJ) mediante PCR cuantitativa en tiempo real (QPCR), la concentración de microcistina-LR mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y se obtuvieron aislamientos de *Microcystis* spp. a partir de muestras que presentaban floraciones (correspondientes a invierno y verano).

**Resultados.** Los hallazgos obtenidos hasta el momento muestran que mientras la microcistina-LR solo se detectó en invierno, se detectaron genotipos tóxicos en todas las estaciones, presentando en invierno mayor concentración. Coincidentemente, los aislamientos obtenidos en invierno presentaron genotipos tóxicos, mientras que en verano ningún aislamiento presentó el gen MCYJ.

**Conclusiones.** Las condiciones de aislamiento empleadas demuestran que se seleccionan diferentes genotipos del ambiente en distintas ocasiones, sugiriendo que ambos genotipos (tóxicos y no-tóxicos) coexisten y que sus abundancias relativas varían de acuerdo a factores ambientales.

### TLP-163. Estudio bioprospectivo utilizando plantas medicinales de uso popular que inhiben el crecimiento de microorganismos

Daniel Ricardo Toro C.\*, Luz Eliena Mantilla\*, Laura Estefanie Loiza\*

\*Universidad de Caldas Colombia.

**Introducción.** Existe en el mercado popular una serie de plantas medicinales que usadas en forma de emplastos o similares se les confiere poder sanador de heridas en la piel, por otro lado la resistencia que están ofreciendo los microorganismos a los antibióticos y otros controladores hace necesario buscar nuevos métodos de control con sustancias producidas por seres vivos.

**Materiales y métodos.** En el laboratorio de microbiología aplicada de la universidad de caldas un grupo de investigadores viene desde hace varios años realizando una evaluación *in vitro* utilizando metodologías tipo eucast sobre el efecto que tienen algunas plantas briofitas y superiores sobre microorganismos como *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans*, y *T. rubrum*. A la fecha se han evaluado cerca de 20 plantas medicinales utilizando extractos obtenidos por percolación, rotaevaporación y por soxhlet usando diluyentes como alcohol etílico y metílico. Además se han valorado extractos enteros y fracciones de ellos. Conjuntamente a las evaluaciones microbianas se han realizado análisis de cromatografía para evaluar la presencia de alcaloides y flavonoides.

**Resultados.** Los resultados a la fecha destacan plantas como la *Bocconia frutensis*, *Marchantia polymorpha*, *Peltigera laciniata*, entre otras. Sus compuestos activos han mostrado un grado aceptable de susceptibilidad y resistencia frente a bacterias patógenas para humanos g+ y g- los ensayos realizados con *Marchantia polymorpha* demostraron una relación directa entre la altitud y su efecto microbicida, lo que la hizo más eficiente frente a bacterias g-.

**Conclusiones.** Los resultados muestran que los extractos enteros o sus fracciones de algunos vegetales usados en la etnobotánica tanto de plantas briofitas como superiores tienen efecto microbicida considerable y se convierten en un área promisoría la cual debe seguir siendo estudiada para luego crear productos comerciales.

### TLP-164. Bacterial volatile compounds can inhibit the mycelial growth and sporulation of *Aspergillus niger*, the etiological agent of rot red sisal (*Agave sisalana*)

Valter C. Magalhães\*, Leonardo de O. Barbosa\*, Margarida V. Santana\*, Juliana F. Dos Santos\*, Jorge T. de Souza\*, Ana C.F. Soares\*, Phellippe A.S. Marbach\*

\*Universidade Federal do Recôncavo da Bahia Brasil.

**Introduction.** The northeast of Brazil is the major world producer of sisal fiber, with an annual production of 119 thousand tons. The red rot is the main health problem of sisal, being responsible for the decline of this culture. However, so far there is no control or treatment for this

disease whose etiologic agent is the fungus *Aspergillus niger*. The use of bacteria is widely applied for controlling phytopathogens. Some bacteria produce volatile compounds that inhibit or halt the mycelial growth, sporulation and/or germination of fungal spores. The objective of this study was to test the effect of volatile metabolites produced by 16 strains of *Burkholderia* and 2 of *Bacillus* genus in mycelial growth of *A. niger*.

**Materials and methods.** The bottoms of petri dishes containing pda medium with *A. niger* were attached to the bottoms of plates containing lb agar with bacterial strains and hermetically sealed. The plates were incubated in bod at 28°C. On the seventh day after inoculation it was evaluated the growth of *A. niger* and sporulation compared to control.

**Results.** The strains inb2, inc2, ind2, inf2, ing2, inl2, inm2, inn2, inp2, inq2, inr2, ins2, inu2, inu12, inv e bmh showed the ability to inhibit mycelial growth of *A. niger*, reaching percentage of mycelial growth inhibition higher than 49%. The strain inm12 not shown the ability to significantly inhibit mycelial growth. All strains inhibited the sporulation of the fungi, except the strain inn12.

**Conclusions.** The results indicates that the volatile compounds produced by bacterial strains inb2, inc2, ind2, inf2, ing2, inl2, inm2, inn2, inp2, inq2, inr2, ins2, inu2, inu12, inv and bmh can inhibit the mycelial growth and sporulation of *A. niger*. The results show that all strais have potential for their use in biological control of red rot sisal.

### TLP-165. Avaliação do potencial fitorremediador de *Eichhornia crassipes* no tratamento de águas contaminadas com chumbo

Luísa Helena Dos Santos O.\*, Evandro Pereira Luiz\*

\*Universidade Federal do ABC (UFABC) Brasil.

**Introdução.** Dentre os metais pesados, o chumbo é um dos mais utilizados industrialmente e nenhum outro metal tem sido estudado tão intensivamente do ponto de vista toxicológico e epidemiológico. A utilização de plantas aquáticas, como a *eichhornia crassipes*, no tratamento de esgotos domésticos e águas residuárias industriais têm despertado interesse em função de sua capacidade de remoção de poluentes, agindo como um filtro natural. O objetivo deste trabalho foi quantificar eficiência da espécie *eichhornia crassipes* na fitorremediação de chumbo em amostras de água, de maneira a contribuir para solução de problemas ambientais relacionados à recuperação de áreas contaminadas por metais pesados na região do grande abc, no município de Santo André (SP).

**Materiais e métodos.** Foram preparadas amostras de água com concentração de 5 mg/l e 10 mg/l de acetato de chumbo, sendo dois indivíduos vigorosos da espécie *eichhornia crassipes* introduzidos nos béqueres contendo as soluções de metais, coletando-se amostras durante 5 semanas. O mesmo procedimento foi feito para o controle. A extração de metais pesados do tecido vegetal, tanto da raiz quanto da parte aérea, foi feita por digestão úmida em sistema aberto através da mistura de ácido nítrico (hno3) e ácido perclórico (hclo4), sendo analisados por espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (icp-aes). Todos os experimentos foram feitos em triplicata e verificada a significância dos tratamentos através de análise de variância, pelo Teste de Tukey–Kramer ou de student.

**Resultados.** Os resultados mostraram que os indivíduos de todos os tratamentos, exceto o tratamento controle, apresentaram sintomas visuais de toxidez, observando-se, cloroses e necroses, além da redução na produção da biomassa, em ambas as concentrações de chumbo.

**Conclusões.** Mesmo assim, a macrófita apresentou teores extremamente significativos de remoção do metal, que chegaram a 75% utilizando 10 mg/l de chumbo, se mostrando promissora no tratamento de águas contaminadas por este metal.

### TLP-166. Hydrogen bioproduction with low glucose and sucrose concentrations by *Firmicutes phylum*

Sandra Maintinguer\*, Francisco Abraham Ríos A.\*, Isabel Sakamoto\*, Renan Pachiega\*, Mayara Rodrigues\*, Eloisa Pozzi\*, José Eduardo De Oliveira\*

\*UNESP - Chemistry Institute – Cempecq Brasil.

**Introduction.** The biohydrogen production have been successfully tested in temperate climate countries. However, inoculum from tropical countries such as Brazil is rarely investigated, where the annual average temperatures are near 25°C and ideal for the cultivation of microorga-

nisms. This work verified bio hydrogen production in anaerobic batch reactors fed with low glucose and sucrose concentrations and they can be obtained abundantly from a wide variety of wastewater such as sugarcane and industries of candy and soft drinks, among others.

**Materials and methods.** Inoculum was taken from a uasb reactor treating brewery wastewater. It was previously purified in serial dilutions and heat treated (90°C - 10 min) later to inhibited the H<sub>2</sub> consumers. Anaerobic batch reactors were fed separately with glucose and sucrose to initial concentrations of 2g/L and 5g/L, 37°C, pH 5.5, headspace N<sub>2</sub> (100%). The molecular biologic analyses were made by purified inoculum.

**Results.** The reactors fed with glucose and sucrose (2g/L and 5 g/L) were observed, respectively, H<sub>2</sub> production potential (3.4 and 4.3 mmol h<sub>2</sub>/L) and (4.5 and 10.4 mmol h<sub>2</sub>/L), consumption of sugars concentrations [glucose (87.1% and 71.5%)] [sucrose (88.7% and 67.1%)]; generation of acetic acid [glucose (8.8 mg/l and 246.9 mg/L)] and [sucrose (39.7 mg/L and 580.3 mg/L)]; butyric acid [glucose (73.8 mg/L and 229.3 mg/L)], [Sucrose (17.8 mg/L and 95.5 mg/L)]. The efficiency of the pre-treatment of inoculum and the imposition of pH 5.5 inhibited methane-producing microorganisms and the consumers of H<sub>2</sub>. The molecular biologic analysis showed the predominance of Firmicutes phyla; whose is characteristic of H<sub>2</sub>-generating bacteria, in both tests.

**Conclusions.** Sugars converted to H<sub>2</sub> opening up the possibility of exploring these residues from Brazilian effluents and promoting the integrated development of this technology in a complementary way.

### TLP-167. Eficiência no uso de nitrogênio em genótipo de milho inoculado com diferentes estirpes de *Azospirillum sp.*

Livia Maria Ferraz Da F.\*, Denise Pacheco Dos Reis\*, Renata Novais Ribeiro R.\*, Christiane Abreu De Oliveira P.\*, Ivanildo Evódio M.\*

\*Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária Brasil.

**Introdução.** A melhoria da eficiência no uso de nutrientes principalmente o nitrogênio, torna-se relevante em razão da dependência externa da agricultura brasileira por fertilizantes importados. Atualmente tem sido observado o crescimento na adoção da prática de inoculação na cultura do milho com bactérias diazotróficas como alternativa para a economia deste nutriente. O objetivo do trabalho foi avaliar a eficiência no uso de nitrogênio (eun) em plantas de milho inoculadas com diferentes estirpes de *Azospirillum sp.*

**Materiais e métodos.** O experimento foi realizado na embrapa milho e sorgo, na cidade de Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil. Os tratamentos testados foram seis estirpes de bactérias diazotróficas (e1, e2, e3, e4, e5 e e6) e um controle (e0) em quatro níveis de adubação nitrogenada em cobertura (n0= 0 kg ha<sup>-1</sup>; n1= 40 kg ha<sup>-1</sup>; n2= 80 kg ha<sup>-1</sup> e n3=160 kg ha<sup>-1</sup> de n), em blocos ao acaso, no esquema de parcelas subdivididas, com quatro repetições, tendo a dose de n na parcela e as estirpes na subparcela. As variáveis analisadas foram a eficiência no uso de nitrogênio (kg de grãos produzidos/kg de n aplicados) e seus componentes eficiência de absorção (eabn) (n total na parte aérea/ n aplicado) e a eficiência de utilização de n (eutn)( kg de grãos produzidos/ n parte aérea no florescimento).

**Resultados.** Como resultados observou-se que os parâmetros eun e eabn foram influenciados de modo significativo pelas doses de n aplicada, sendo os menores valores detectados na presença do maior nível de n. A eabn foi o componente determinante para a eun. Embora as diferenças tenham sido não significativas, a estirpe e4 proporcionou incremento em torno de 20% no aproveitamento deste nutriente.

**Conclusões.** O uso de inoculantes constituído de estirpes adequadas pode melhorar a eficiência de uso de nitrogênio na agricultura.

### TLP-168. Aislamiento y caracterización de bacterias promotoras de crecimiento vegetal de suelos cultivados en Yopal – Colombia

Lucía Crisítina Lozano A.\*, Jenny Dussán G.\*

\*Universidad de La Salle. Universidad de Los Andes Colombia.

**Introducción.** Los suelos de la región del Casanare son ácidos, con contenidos tóxicos de aluminio y baja concentración de calcio, potasio y fósforo disponible. En utopía (Yopal) se realizan cultivos experimentales de especies vegetales que pueden servir como alternativas agrícola-

las para la Orinoquia. Las bacterias promotoras de crecimiento vegetal pueden mejorar la productividad agrícola, pero su efectividad se puede ver reducida por la acidez del suelo; por lo tanto es importante aislar microorganismos que presenten potencial como biofertilizantes y que estén adaptados a los suelos del Casanare. El objetivo de este estudio fue aislar bacterias con potencial en promoción del crecimiento vegetal a partir de suelos cultivados en utopía - Casanare.

**Materiales y métodos.** Se tomaron muestras de cultivos de café, yuca, palma, maracuyá y cholupa. Se realizaron diluciones seriadas y siembra en medio libre de nitrógeno (mln); posteriormente se seleccionaron los aislamientos que crecieron pasados sucesivos en mln y se caracterizaron por la capacidad para solubilizar fosfatos, la producción de ácido indol acético y el aumento en el porcentaje de germinación de semillas de *Brachiaria decumbens*. Finalmente, los aislamientos que presentaron tres de las cuatro características evaluadas, se identificaron por amplificación y secuenciación del gen que codifica para el ARN ribosomal 16S.

**Resultados.** De los 54 aislamientos obtenidos, se preseleccionaron 25 por su capacidad para crecer pasados sucesivos en medio libre de nitrógeno; de los cuales 10 solubilizan fosfatos, 6 producen ácido indol acético y 7 aumentaron la germinación de semillas de pasto entre el 5 y el 30% con respecto al control sin inocular.

**Conclusiones.** Los resultados indican que los aislamientos y13, y16, p8 y c11 pueden ser buenos candidatos para ensayos a nivel de invernadero y posteriormente de campo, con el fin de mejorar el crecimiento y la productividad de frutales, como cultivos alternativos para la Orinoquia Colombiana.

### TLP-169. *Moniliella* spp. e outras leveduras osmotolerantes isoladas de flores tropicais

Ana Raquel Oliveira S.\*, Carlos Augusto Rosa\*

\*Universidade Federal de Minas Gerais Brasil.

**Introdução.** As flores são um substrato para o isolamento de leveduras osmotolerantes devido à produção do néctar floral, que possui grande concentração de açúcares. O gênero *Moniliella* abrange leveduras osmofílicas e lipofílicas, cujo posicionamento filogenético ainda não é bem estabelecido, devido ao pequeno número de espécies descritas e à grande divergência genética existente entre as espécies conhecidas. O objetivo do trabalho foi isolar leveduras do gênero *Moniliella* e outras leveduras osmotolerantes associadas ao néctar de flores tropicais.

**Materiais e métodos.** Foram coletadas 161 flores de *Ipomoea* sp. (ipoméia), 18 flores de *Spathodea campanulata* (bisnagueira), 46 flores de *Hibiscus* sp. (hibisco), 38 flores de *Handroanthus* sp. (ipê-amarelo) e 16 flores de *Thunbergia* sp. (azulzinha), em regiões de mata atlântica no Brasil, totalizando 279 flores. Foi utilizado um meio seletivo (50% glicose, 0,5% de extrato de levedura e 0,02% de cloranfenicol) para isolar as leveduras presentes na região do néctar de cada flor coletada. As leveduras isoladas foram caracterizadas bioquimicamente e identificadas com base no sequenciamento dos domínios 1 e 2 da subunidade maior do gene rRNA.

**Resultados.** Foram obtidos 407 isolados de leveduras, a maioria de flores de *Ipomoea* sp. Dentre estes, sete pertencem ao gênero *Moniliella* e representam cinco possíveis novas espécies. As espécies mais frequentes foram *Metschnikowia koreensis* (56 isolados), *Metschnikowia continentalis* (45 isolados) e uma possível nova espécie de *Metschnikowia*, com 46 isolados. Foram obtidos isolados de outras 23 possíveis espécies novas de leveduras.

**Conclusiones.** As flores estudadas foram uma fonte para o isolamento de espécies novas de leveduras. O uso do meio seletivo, contendo 50% de glicose, foi favorável ao isolamento de espécies do gênero *Moniliella*, a partir de flores de *Ipomoea* sp. e *Handroanthus* sp. Apoio financeiro: capes, CNPQ e finep.

### TLP-170. Potencial de solubilização em diferentes concentrações de fosfato de ferro por bactérias rizosféricas de milho

Juliana Maria Matter\*, Silvio Cesar Sampaio\*, Amarilis Varennes\*, Qu Guiwei\*, Kathleen Jeniffer Model\*

\*Unioeste Brasil.

**Introdução.** A utilização de fertilizantes químicos na agricultura constitui principal fonte de nutrientes essenciais para o desen-

volvimento de culturas, apresentando um dos principais elementos na formulação o fósforo (P). Existem fatores limitantes para a disponibilidade deste elemento para as culturas. Nos latossolos a presença do elemento ferro (FE) interfere diretamente na solubilidade do fósforo os quais ficam adsorvidos não permitindo que este elemento seja absorvido pelas plantas. Comunidades microbianas do solo que apresentam capacidade de solubilizar fontes de fósforo insolúveis tem sido isoladas e avaliadas com o objetivo de melhorar a biodisponibilidade do elemento (Gomes *et al.*, 2010). Porém, diversos trabalhos abordam a solubilização de fosfatos de ferro por metodologias distintas as quais, muitas vezes, devem ser adaptadas para que não ocorra uma elevada concentração deste elemento interferindo no crescimento microbiológico. O objetivo do trabalho foi avaliar o crescimento em meio de cultura contendo diferentes concentrações de fosfato de ferro.

**Materiais e métodos.** O experimento utilizou amostras de solo e rizosfera de um latossolo vermelho eutroférrico tendo como planta-isca o milho. Para a avaliação do crescimento em meios mínimos de cultura com diferentes concentrações de fosfato de ferro, foi utilizada metodologia de Milko *et al.* (2008) adaptada. Ao final dos seis dias foi contabilizado o número de colônias em cada concentração e as que apresentaram halo ou maior crescimento foram repicadas para outros meios de rastreamento contendo fosfatos insolúveis.

**Resultados.** Ocorreu o crescimento de colônias bacterianas apenas no meio contendo 1 g.l<sup>-1</sup> de FePO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O, nas demais concentrações foi observada apenas presença fungos. As colônias apresentaram características e tamanhos muito semelhantes.

**Conclusiones.** O crescimento de bactérias em meios mínimos com fosfato de ferro é favorecido quando a solução apresenta um baixo gradiente de concentração. A dificuldade de crescimento pode estar relacionada à elevada concentração do elemento fe e ao baixo pH do meio.

### TLP-171. Microbial consortia of methanogenic coal-enrichment cultures from coalmines producer of methane in the guaduas formation in Colombia

Jorge Luis Fuentes L.\*, Claudia Marcela Mayorga D.\*, Edgar Pedraza L.\*, Mario García G.\*, Elena E. Stashenko\*, María Mercedes Levy\*, Morris Levy\*

\*Universidad Industrial de Santander, Colombia.

**Introduction.** Coal bed methane (CBM) refers to methane trapped on coal beds and this is a potential unconventional source of natural gas for the energy industry. Microbiological and molecular analyses of coal bed cores and aquifers have contributed to improve our knowledge on microbial diversity into coal reservoirs throughout world. We studied microbial consortia in coal-enrichment cultures from coal mines located at the checuá-lenguazaque syncline of the guaduas formation in Colombia.

**Materials and methods.** Coal-enrichment cultures were established using various media and evaluated for *in vitro* growth and gas production. Isolates collection was developed from the enrichment cultures, were identified using 16S rRNA gene sequence analysis and evaluated for its their metabolic methanogenic capability. A coal-enrichment culture that produced biogenic gas was evaluated for gas composition using flame ionization detector gas chromatography (FID-GC) analysis and their metagenome was used to generate 16S rRNA gene libraries using bacterial and archaeal universal primer sets.

**Results.** 16S rRNA gene sequence analyses of the isolates collection identified a complexity of the coal-degrading consortia in the enrichment cultures with presence of the bacterial genera, including *Acidovorax*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Bosea*, *Microbacterium* and *Propionibacterium*. FID-GC analysis showed methane production at 37°C but not at 60°C, where the CO<sub>2</sub> was the major component of the biogenic gas. 16S rRNA gene sequence analysis of isolates and clones libraries established that the methanogenic consortium was formed by species of *Bacillus*, *Clostridium*, and plus an non unidentified methanogen.

**Conclusions.** These results suggested that prokaryotic fermenters that produce CO<sub>2</sub> are a key component in the methanogenic consortium. We postulated a metabolic model to explain biogenic methane production in the coal mine considering its importance as a first step to further coal-biodegradation studies.



### TLP-172. Microbiology of bovine and pig manure and poultry litter compost

Keila Maria Roncato D.\*, Alexandre Antonio Pasqualini\*,  
Luiz Humberto Gomes\*, Valdeine Tadeu Paulino\*

\*Instituto de Zootecnia.

**Introducción.** The use of animal manure or poultry litter for biodegradation contributes in different ways for the sustainability of agriculture and livestock production systems. First, because it leads with the problem of big amounts of animal manure, which, once biodegraded, it can be used for other purposes; and second, due to the use of gas generated as energy source. Objective: this work aimed to identify pathogenic agents on the compost as enteric bacteria to assure its right use, with no harm to human health.

**Materials and methods.** Five samples from three different sources of animal residue were biodegraded for 53 days: bovine manure, swine manure and poultry litter. Samples were artificially dried, homogenized and 0.1 g from each compost was diluted into 100 mL of pure water was added to the Colitest kit. Control samples were pure water only. After 48 h, incubated at 37°C, samples were read.

**Results.** Although biodegrading process leads to very high temperatures, able to kill all microorganisms, the test done showed some high counting, appeared as positive results in the test. The manure compost from pigs did not show any contamination with coliforms or *E. coli*. One of the five samples from poultry litter was positive for total coliforms and for *E. coli*. Three from five of the bovine manure biodegraded samples were also positive for total coliforms and for *E. coli*.

**Conclusions.** In this way, bovine and poultry composts from this methodology are not suitable for vegetable and fruits fertilization purposes but they can be used in for pastures and perennial cultures, and it is extremely important the enforcement of this or a similar kit for the presence or absence of *E. coli* before to decide the destination of compost from animal residues, to assure the food quality from those agriculture fields fertilized with compost.

### TLP-173. Búsqueda, identificación y caracterización de flavoproteínas de *Escherichia coli* con actividad telurito reductasa y generadoras de nanoestructuras

Mauricio Antonio Arenas S.\*, Wladimir Andrés Morales C.\*  
Joaquín I. Vargas P.\*, Fabian Alexis Cornejo L.\*, Claudia Melissa Muñoz V.\*, Waldo Andrés Díaz V.\*, Claudio Christian Vásquez G.\*

\*Univ. de Santiago de Chile. Univ. de Talca Chile.

**Introducción.** El telurito es tóxico para la gran mayoría de los organismos a muy bajas concentraciones (nm). Se ha observado que un mecanismo de resistencia a este compuesto es su reducción enzimática a su forma elemental no tóxica, que ocurre acoplada a la oxidación de NAD(P)H (actividad telurito reductasa, TR). A la fecha, se han descrito enzimas con actividad TR como catalasas, oxidasas terminales, nitrato reductasas y dihidrolipoamida deshidrogenasa (LPDA). Identificar in silico dominios estructurales comunes entre enzimas con actividad TR, permitiendo predecir potenciales enzimas reductoras de telurito las que serán caracterizadas *in vitro* e *in vivo*.

**Materiales y métodos.** Análisis bioinformáticos de dominios catalíticos de enzimas con actividad TR; predicción y validación de proteínas TR (PFAM-prosite-blast-modeller). Clonamiento, sobreexpresión, purificación (niquel-sepharose) y caracterización de actividades TR *in vitro*. Identificación y caracterización de nanoestructuras de teluro por TEM, ICP-MS y DLS.

**Resultados.** Las enzimas TR descritas a la fecha estarían relacionadas con los dominios pf00070-pf02852-pf07992 (PFAM) y sus sitios activos con los dominios pf00076-ps51379-ps00573 (prosite). Se identificó 8 flavoproteínas (tioredoxina reductasa/TRXB, alquil hidropéroxido reductasa/AHPF, glutamato sintetasa/gltA, putativa oxidoreductasa/YKG), glutatión reductasa/gora, nitrato reductasa/nirB, flavorubredoxina reductasa/norW y piridina nucleótido transhidrogenasa/SHTA) de *E. coli* que exhiben actividad TR *in vitro* (excepto SHTA) a expensas de NADH y/o NADPH. Sus condiciones óptimas para la actividad TR son pH 8-9 y 42°C. Bajo las condiciones ensayadas *in vitro* GOR y AHPF generan nanoestructuras (75 nm  $\phi$ ), mientras que LPDA y YKGC generan estructuras > 100 nm. Por otra parte, se generó nanoestructuras *in vivo* utilizando cepas que sobreexpresan TRXB, GORA y YKGC, generándose depósitos metálicos densos a los electrones en células tratadas con telurito.

**Conclusiones.** Se identificó dominios comunes en enzimas que exhiben actividad TR, permitiendo predecir y posteriormente validar experimentalmente nuevas enzimas con actividad reductora de telurito. Financial support from fondecyt postdoctorado 3120049 and fondecyt regular 1130362.

### TLP-174. Sobreproducción de la proteína de estrés frío a (CSPA) de *Sphingopyxis ssp.* y su rol en la aclimatación de *Escherichia coli* al frío

Cristian Parra S.\*, Víctor Campos A.\*, Apolinaria García C.\*,  
Miguel Martínez P.\*, Carlos González C.\*

\*Depto. de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas,  
Univ. de Concepción Chile.

**Introducción.** La proteína de estrés frío tipo a (CSPA), evitan la formación de estructuras secundarias en ácidos nucleicos de hebra simple, cuando disminuye la temperatura ambiente. Por lo tanto, proponemos que la sobreproducción heteróloga de esta proteína otorga a una célula bacteriana mesófila capacidad para dividirse a temperaturas bajo 15°C, permitiendo su aclimatación al estrés frío. Objetivo: establecer si CSPA de *Sphingopyxis* spp. permite el crecimiento de *Escherichia coli* a temperaturas inferiores a 15°C.

**Materiales y métodos.** Se clonó el gen tipo CSPA de *S. alaskensis* y *S. chilensis* mediante el sistema topo ta. El plásmido recombinante se transformó en *E. coli* lmg194 y se sobreprodujo la proteína clonada. Se evaluó capacidad de la cepa transformada para crecer a 15°C y 10°C, tanto en medio sólido como en medio líquido. La proteína sobreproducida se detectó mediante SDS-PAGE seguido de tinción con azul de coomassie r-250.

**Resultados.** El gen CSPA clonado desde *S. alaskensis* o *S. chilensis* en el vector topo ta se transformó en *E. coli* y la cepa transformada expresó la proteína tipo CSPA (pm 7,2 kDa) eficientemente. La cepa recombinante fue capaz de aclimatarse y crecer a temperaturas de 15°C y 10°C, cuando expresó CSPA heteróloga; en tanto, la cepa parental isogénica sólo creció a 15°C, en los 3 días que duró el ensayo.

**Conclusiones.** La sobreproducción de CSPA heteróloga en *E. coli* permite su aclimatación y crecimiento a temperaturas bajo 15°C. Financiación: proyecto fondecyt 1100462.

### TLP-175. Nemátodos fitopatógenos en árbol del pan (*Artocarpus altilis* (park.) Fosberg): Análisis de síntomas y determinación del agente causal

Marling Guzman\*, Elizabeth Gutierrez\*, Emiro Arboleda\*,  
Sandra Montenegro\*, Donald Riascos\*

\*Univ. del Pacífico Colombia.

**Introducción.** El árbol del pan (*Artocarpus altilis*) es una especie vegetal de importancia por su contribución a la seguridad alimentaria en la región del Pacífico Vallecacano. Sin embargo, el cultivo viene siendo afectado por una enfermedad cuya etiología es desconocida. El propósito de este estudio fue establecer la etiología de una enfermedad asociada a raíces de plantas de árbol del pan (*A. altilis*) en Buenaventura, Valle del Cauca.

**Materiales y métodos.** Para determinar la causa de la enfermedad se analizó macro y microscópicamente raíces sintomáticas de plantas de *A. altilis*. El análisis macroscópico de la patología se hizo a través de la descripción de lesiones y microscópicamente mediante análisis histopatológico. Para el análisis microscópico, secciones de raíces sanas y sintomáticas fueron fijadas en formol-alcohol-ácido acético, deshidratadas en alcohol al 70, 75, 80, 85, 90 y 96%, aclaradas en alcohol etílico puro y terbutanol, imbibidas e incluidas en parafina fundida. Posteriormente, y con ayuda de un micrófono se realizaron cortes transversales y longitudinales de los tejidos con 7  $\mu$ m de grosor, los cuales fueron teñidos con safranina y fast green. Las preparaciones en láminas portaobjetos fueron interpretadas en microscopio compuesto. Finalmente, se extrajo de raíces sintomáticas el agente causal de la enfermedad, el cual se identificó parcialmente hasta nivel de género basado en caracteres morfológicos.

**Resultados.** Se determinó que el agente causal de la enfermedad induce la deformación del perímetro de las raíces, observándose sobrecrecimientos a manera de agallas. Microscópicamente, se estableció que el patógeno induce a nivel de las raíces hipertrofia (células gigantes) e hiperplasia. Aso-

ciado a las agallas se encontró nematodos fitoparásitos, especialmente hembras periformes identificadas parcialmente como *Meloidogyne*.

**Conclusiones.** Los síntomas de la enfermedad y las características morfológicas de los signos (patógeno), indicaron que la patología asociada a raíces en plantas de *A. altalis* es ocasionada por nematodos identificados parcialmente como *Meloidogyne*.

### TLP-176. Evaluación de la concentración de urea y extracto de levadura en el proceso de producción artesanal de *Trichoderma harzianum* TRHA-7

Alejandro Patiño G.\*, Abad Flores P.\*, Rosa Egusquiza C.\*, Mario Alcarraz C.\*, Tito Libio Sanchez R.\*, Liz Mayra Isabel Rodríguez P.\*, Carla Trigos H.\*, Jessi Claudio Fonseca\*

\*Univ. Nacional Mayor de San Marcos Perú.

**Introducción.** Los hongos antagonistas resultan importantes para el control biológico de los fitopatógenos y su producción a mayor escala está siendo muy difundida a nivel de productores y empresas peruanas. El objetivo es evaluar concentraciones de urea y extracto de levadura en el agua ligada a la fermentación de sustrato sólido por cultivo bifásico en producción masiva de *Trichoderma harzianum* TRHA-7.

**Materiales y métodos.** Se escaló la cepa de *Trichoderma harzianum* TRHA-7, hasta 2 L en caldo YPG (inoculó) para producción por cultivo bifásico, con maíz molido como sustrato (600 g/bolsa), evaluando concentraciones de urea: 0.3; 0.5; 0.8; 1 y 1.5 % (p/v); y extracto de levadura (por hidrólisis ácida): 0.5; 0.8; 1,2 y 1.5% (v/v) en agua ligada al sustrato (230 ml/bolsa) en 20 tratamientos (30 bolsas/tratamiento), incubadas a 27°C y h.r. de 87 % por 15 días. La determinación final de la concentración se realizó en cámara de Neubauer, viabilidad de las esporas y porcentaje de pureza se realizó en siembra por diluciones en agar papa dextrosa.

**Resultados.** Los tratamientos que obtuvieron la mayor concentración de esporas: t14: urea: 1.0 %: extracto de levadura 1.2 % con 4.5x1010 esporas/gr.; y t19: urea: 1.0 %: extracto de levadura 1.5%, con 4.9 x1010 esporas/gr.; el mayor porcentaje de pureza el tratamiento t14 con 97.5 %; y mayor porcentaje en prueba de viabilidad de esporas el t19, con 94.4 % con respecto a la concentración total.

**Conclusiones.** El cultivo bifásico utilizando como sustrato maíz molido y agua con urea (1.0 %) y extracto de levadura (1.5%) resultó ser el más apropiado para la producción de nuestra cepa *Trichoderma harzianum*, incrementando la concentración de esporas y viabilidad en su producción masiva.

### TLP-177. Desenvolvimento de técnica de coleta a campo de amostras gasosas provenientes da redução de acetileno a etileno realizadas em cultivos celulares, explantes e plantas noduladas

Andreia Loviane S.\*, Alvaroes Luis Hilario\*, Caroline Naschi\*, Kária Teixeira\*, Cláudia Pozzi\*

\*Embrapa Brasil.

**Introdução.** A análise da atividade de redução de acetileno (ARA) é uma ferramenta poderosa na detecção e quantificação da fixação biológica de nitrogênio (FBN) associada a cultivo celulares e a plantas, não só pela sua simplicidade como pelo baixo custo e alta sensibilidade. A utilização de acetileno (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>) como sustrato para a enzima nitrogenase resulta na sua redução para etileno (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>). A mistura destes gases só pode ser separada e detectada através de um cromatógrafo de gás. A maior dificuldade neste processo sempre foi o armazenamento, transporte do acetileno e do etileno, assim como a conservação destas amostras por um longo período para que pudessem ser analisadas posteriormente. Assim, a determinação das concentrações destes gases permitem quantificar a existência de vazamentos da câmara de incubação e a quantidade de etileno produzido, sendo esta última diretamente proporcional à atividade da nitrogenase. Neste estudo foi proposto uma forma de coleta e conservação de amostras testando-se a capacidade dos recipientes e dos equipamentos para a melhoria do processo analítico. Foi adicionado como controle interno o propreno para a verificação da qualidade analítica as amostras. As amostras foram trapeadas em vails de 20 mL, conservadas invertidas em amostras provenientes de diferentes fontes.

**Materiais e métodos.** Foram utilizados cultivos bacterianos, plantas e explantes como fontes de nitrogenase para fbn e redução de acetileno.

Foi empregado o cromatógrafo gasoso para a parte analítica com produtos de etileno e acetileno certificados.

**Resultados.** Os resultados obtidos indicam o processo de conservação proposto pode ser uma alternativa viável para realizar repetições analíticas já que após tres semanas de preservação as análises não demonstraram diferenças significativas entre os resultados quantitativos.

**Conclusões.** A metodologia é eficaz para conservação de amostra gasosas.

### TLP-178. Emulsifying activity of biosurfactant produced from soybean soapstock in hydrocarbons

Paulo Renato Matos L.\*, Jaqueline Matos C.\*, Renato Nallin M.\*, Ederio Dino Bidoia\*

\*Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" - UNESP, Brasil.

**Introduction.** The development of environmental friendly technologies has increased awareness towards biodegradable compounds from either renewable substrates or industrial waste. New methods for surfactants production are currently featured in biotechnological advancements. Biosurfactants produced by microorganisms act as tensoactive substances. These are capable of increasing bioavailability to hydrophobic substrates, thus yielding higher rates in metabolism, the development of microflora and an increased biodegradability of compounds. This work evaluated a biosurfactant produced from agro-industrial waste applied to the bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated environments.

**Materials and methods.** The biosurfactant (bs) was a rhamnolipid produced by *Pseudomonas aeruginosa* from soybean soapstock and their results were compared with two synthetic surfactants: commercial use (cs) and laboratory use - tween 80 (ls). The emulsifying activity test was proceeded based on the emulsification index method (e24) towards to three hydrocarbons: 1 - waste lubricant oil (wl), 2 - new lubricat oil (nl) and the 3 - crude oil (co).

**Results.** It was observed that the three surfactants were similar in relation to nl with values between 27.59% and 29.81%. ls stood out in assays with crude oil, but the difference between ls and b was not significant for the wo. In regard to cs results, b had higher emulsifying activity for the three substances. The ability of rhamnolipids in emulsifying hydrocarbons promotes better microbial assimilation as carbon source. Thus, these data are useful for strategic planning in remediation of contaminated environments by these compounds.

**Conclusions.** The knowledge about emulsification of various substances is important for the definition of these processes in petrochemical industry. Therefore, these data are useful for strategic planning and they allow for a better use of rhamnolipid in bioremediation of hydrocarbon-contaminated environments.

### TLP-179. Diversidade e densidade populacional de fungos endofíticos de *Comanthera mucugensis*, sempre - viva endêmica da Chapada Diamantina - BA

Manuela Oliveira P.\*, Joanison Vicente Dos Santos T.\*, Laisa Abade de A.\*, Aryane Fontana R.\*, Rodrigo de Jesus F.\*, Patricia Oliveira Dos S.\*, Jorge Teodoro De S.\*, Milton Ricardo De A.

\*Universidade Federal do Recôncavo Dda Bahia. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano. Universidade Federal da Bahiabrasil.

**Introdução.** Os microrganismos endofíticos isolados de plantas endêmicas podem ser considerados fonte promissora para bioprospecção de novos produtos naturais resultantes do metabolismo fungico. A espécie *Comanthera mucugensis* está ameaçada de extinção e não existem estudos na literatura sobre endofíticos dessas plantas. Esse trabalho objetivou obter isolados e estudar a diversidade e densidade populacional de fungos endofíticos de *C. mucugensis*.

**Materiais e métodos.** Foi realizado o isolamento dos endofíticos diretos dos tecidos das plantas (caule, folha, escapo e raiz), semeando fragmentos desinfestados em placas de petri com meio BDA e AA. Um grama de cada tecido da planta foi macerado e em seguida foi realizada uma diluição seriada e plaqueamento em meio bda. Foi determinada a taxa de colonização (TC) e a densidade populacional em cada tecido. Os fungos obtidos foram caracterizados morfológicamente e tiveram seu DNA extraído. Sequências da região its do DNAr foram obtidas com sequenciamento do tipo sanger, para realizar a identificação molecular.

**Resultados.** A raiz apresentou taxa de colonização de 83%, seguida da folha 65%, caule 54% e escape 33%, porém as maiores densidades populacionais foram encontradas no caule 381 UFC/g e no escape 158,83 UFC/g. Foram obtidas 50 linhagens de fungos endofíticos de *C. mucugensis*, os quais foram todos descritos morfológicamente e preservados em óleo mineral. A partir do seqüenciamento foi possível identificar fungos dos gêneros *Trichoderma*, *Microsporaeropsis* e *Aspergillus*. Com algumas sequências não foi possível obter alinhamento significativo com as sequências dos bancos de dados, o que pode ser indicativo de espécies novas.

**Conclusões.** Com esse trabalho foi possível saber quais espécies e gêneros fúngicos estão associados com a *C. mucugensis*, e potencial descoberta de espécies novas. A raiz e folha apresentaram maior taxa de colonização endofítica, o caule e o escape possuem maior densidade populacional. As linhagens obtidas terão seu potencial biotecnológico avaliado em trabalhos subsequentes.

### TLP-180. Atividade de superfície do biossurfactante produzido por *Bacillus subtilis*

Jaqueline Matos C.\*, Paulo Renato Matos L.\*,  
Renato Nallin M.\*, Ederio Dino B.\*

\*Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" - UNESP, Brasil.

**Introdução.** Os biossurfactantes apresentam vantagens adequadas para a aplicação ambiental como baixa concentração micelar crítica e alta biodegradabilidade. O *Bacillus subtilis* produz um biossurfactante chamado surfactina, que tem uma ótima atividade superficial, capaz de reduzir a tensão superficial da água de 72 para 27 mn.m<sup>-1</sup>. O objetivo do trabalho foi comparar a medida de tensão superficial do meio com diferentes concentrações de glicerol com as amostras acrescidas com sulfato de manganês (MnSO<sub>4</sub>).

**Materiais e métodos.** O meio de produção consistia de diferentes concentrações de glicerol, 5%, 7% e 9% v/v e caldo Busnell-HAAS em um volume total de 50 mL. O meio de produção foi incubado durante 48 h e posteriormente centrifugado a 2.800 x g por 20 minutos. O caldo livre de células foi usado para medir a tensão superficial pelo método de contagem de gotas em uma bureta de 25 mL. As amostras foram colocadas na bureta e contadas a quantidade de gotas que se desprende da bureta em um volume de 2 mL da amostra.

**Resultados.** Nos resultados pode ser observado que os meios com 9% v/v de glicerol apresentou a maior tensão superficial. Os meios com 5% e 7% v/v reduziram a a tensão superficial do meio para ±51,17 e 48,97 mn.m<sup>-1</sup>, respectivamente. A adição de 0,05 mm de sulfato de manganês proporcionou uma redução ainda maior na tensão superficial. O que permite sugerir que a adição de 0,05 mm de sulfato de manganês aumenta a produção de biossurfactante no meio e portanto reduz a tensão superficial em relação as amostras sem manganês.

**Conclusões.** Deste modo, foi possível concluir que o meio com 5% e 7% v/v de glicerol acrescido de 0,05 mm de sulfato de manganês foi a melhor concentração para produção de biossurfactante e consequente redução da tensão superficial.

### TLP-181. Estudo do potencial de biorremediação de *Enterobacter cloacae* isolada de área contaminada por cobre

Marcela Dos Passos Galluzzi B.\*, Louise Hase G.\*,  
Ingrid Regina Avanzi\*, Bruno Karolski\*, Luciana Jandelli G.\*,  
Cláudio Augusto Oller Do N.\*, Elen Aquino P.\*

\*Centro de Capacitação E Pesquisa em Meio Ambiente, Cepema Poli USP Brasil.

**Introdução.** Uma das maiores minas de extração de cobre do Brasil é a mina sossego, localizada em Canaã dos Carajás, Pará, Brasil. Esta possui uma enorme lagoa de rejeitos com baixas concentrações de cobre economicamente inviável para extração. Este cenário pode ser melhorado através do desenvolvimento de bioprocessos para recuperação de parte do minério diluído nestes resíduos. Através do uso da biodiversidade local também podem ser desenvolvidos processos de biorremediação, uma vez que o uso desta tecnologia pode permitir a descontaminação bem como a recuperação destes metais de alto valor agregado. Este trabalho mostra o potencial de uma das cepas isoladas e submetidas aos primeiros ensaios de biossorção, os quais apresentaram bons resultados por concentrações de até 5mm de cloreto de cobre.

**Materiais e métodos.** A cepa identificada e cloacae foi submetida ao crescimento em mna com (2, mm de 5,0 mm de cobre) e sem contaminante para posterior comparação. Dessa forma é possível evidenciar a tolerância da mesma frente ao cobre, bem como seu potencial de biossorção. Os ensaios foram feitos em incubadora, sob condições de agitação de 180 rpm, à 28°C. Foram feitos ensaios com variação de pH (2 a 12) para observar a influência desse parâmetro. As amostras foram coletadas a cada 1 h, durante 24 h ou até atingirem sua fase estacionária de crescimento. As mesmas foram utilizadas para acompanhamento de crescimento celular por leitura de absorbância em espectrofotômetro (600 nm). Para quantificação de cobre adsorvido, utilizamos a técnica ICP-OES.

**Resultados.** *E. cloacae* apresentou uma remoção de aproximadamente 65% do cobre presente no meio de cultura acrescido de 2,5 mm de cloreto de cobre em pH10, mostrando potencial para melhores resultados a partir da otimização do meio e das condições de cultura.

**Conclusões.** Até o momento, e cloacae demonstrou potencial para biorremediação de efluentes contendo cobre, sendo tolerante às concentrações propostas neste trabalho.

### TLP-182. Utilização de resíduo sólido urbano (RSU) como indutores de manganês peroxidases de lacases, excretadas por actinobactérias

Paula Reis\*, José Fernando Thomé\*, Norma Buarque\*,  
Leonor Alves de Oliveira\*

\*Universidade Federal de Pernambuco Brasil.

**Introdução.** A busca de novas tecnologias para a utilização de resíduos em processos fermentativos por micro-organismos produtores de enzimas celulases, hemicelulases, lipases, lacases e manganês peroxidases, com variadas aplicações industriais é de fundamental importância para que se possa agregar valor econômico aos resíduos e dispô-los de forma ambientalmente adequada de acordo com o proposto pela política nacional de resíduos sólidos (lei n° 12.305/10 regulamentada pelo decreto n° 7.404/10). Neste contexto o presente trabalho tem como objetivo estudar o potencial enzimático de actinobactérias utilizando RSU como fonte de carbono.

**Materiais e métodos.** RSU foram coletados no aterro sanitário ctr candeias, localizado no município de jaboatão dos guararapes-pe, a amostra foi caracterizada gravimetricamente, utilizando RSU como fonte de carbono, 10 linhagens de actinobactérias foram cultivadas em meios líquido ISP-2 modificado contendo 10% RSU (v/v), inoculados com 10% (v/v) do pré-inóculo, incubados por 96 h a 37°C sob agitação de 180 rpm. Após este tempo de cultivo, o meio líquido foi centrifugado a 10.000 rpm por 10 minutos e o sobrenadante correspondeu aos complexos enzimático excretado pelos referidos micro-organismos, foram submetidos a dosagens quantitativas de: celulases, xilanases, lipases, manganês peroxidases e lacases.

**Resultados.** As 10 actinobactérias foram identificadas micromorfológicamente, prevalecendo no gênero *Streptomyces* sp., as enzimas foram quantificadas se destacando a linhagem 6t, identificada como *Streptomyces* sp. a qual produziu 49,7u/L e 9,7u /L de manganês peroxidases de lacases respectivamente, as enzimas envolvidas na degradação da lignina, o composto caracteriza-se como recalcitrantes, tratamentos difíceis degradação dos resíduos sólidos urbanos, que permite a utilização destes microrganismos para obter enzimas de interesse industrial e para a otimização de sistemas de digestão de resíduos.

**Conclusões.** Os resultados obtidos indicam o alto potencial biotecnológico do RSU, através da utilização de actinobactérias em processos de fermentação para produção de enzimas hidrolíticas de interesse industrial.

### TLP-183. Diversidade e composição microbiana em esponjas marinhas do Arquipélago de São Pedro e São Paulo

Danilo Tosta S.\*, Fabio S. Paulino S.\*, Camila Cristiane P.\*,  
Vanessa Nessner K.\*, Rodrigo Gouvea T.\*, Itamar Soares M.\*

\*Embrapa Meio Ambiente Brasil.

**Introdução.** As espécies de esponjas marinhas têm atraído interesse de pesquisa devido sua relação simbiótica com uma alta abundância microbiana e produção de biocompostos. Esses ani-

mais são grandes reservatórios de micro-organismos desconhecidos, muitos deles ainda não cultiváveis. A microbiota associada a esponjas representam, cerca de 40% da sua biomassa, sendo possível que muitas das bioatividades recém-descobertas em esponjas sejam atribuídas a grande diversidade de suas associações. Esse fato, aliado ao desconhecimento completo dessas associações para uma remota ILHA no infralitoral brasileiro, reforça o interesse em conhecer novas fontes de diversidade bacteriana, podendo guiar trabalhos de isolamento para exploração dessa fonte rica em metabólitos. Estudar a diversidade e composição das comunidades bacterianas associadas às esponjas marinhas em uma região pristina compreendendo o arquipélago de São Pedro e São Paulo-ASPSP.

**Materiais e métodos.** Três espécies de grande ocorrência no ASPSP, *Aplysina fulva*, *Didiscus oxeata* e *Chondrosia collectrix* foram coletadas por mergulho autônomo. Bibliotecas de amplicons visando a região v6 de genes 16s rRNA, comum ao domínio bacteria foi realizada e aplicada a tecnologia de sequenciamento ion PGM (ion personal genome machine).

**Resultados.** Nós revelamos comunidades bacterianas altamente diversas com 780 unidades taxonômicas operacionais (UTOS) a 97% de similaridade, a partir de 15 filós bacterianos com *A. fulva*, 886 utos foram identificadas em *D. oxeata* representando 14 filós, enquanto que 572 utos assinadas para 8 filós foram encontrados em *C. collectrix*. *A. fulva* apresenta uma alta proporção relativa de utos assinadas para actinobacteria, enquanto acidobacteria é dominante em *C. collectrix* e *D. oxeata*, revelando que as comunidades bacterianas diferem significativamente entre as espécies de esponjas.

**Conclusões.** As análises provêm evidências que as comunidades bacterianas associadas com espécies de esponjas marinhas são altamente diversas e divergentes a partir de uma única localização geográfica, sugerindo que o hospedeiro pode selecionar grupos microbianos por um mecanismo ainda pouco compreendido.

### TLP-184. Biodisponibilidad de *Trichoderma asperellum* en suelo andisol en condiciones de laboratorio y campo

Harold Alexander Vargas H.\*, Elizabeth Gilchrist R.\*

\*ESALQ/USP; Embrapa - Meio Ambiente Brasil.

**Introducción.** Hongos del género *Trichoderma* han sido utilizados como agentes de biocontrol, el aislamiento de *T. asperellum* t109 demostró gran capacidad antagónica *in vitro* contra hongos fitopatógenos. Existe la necesidad de conocer su respuesta biológica bajo condiciones controladas y de campo, teniendo en cuenta esto, en este trabajo se propuso conocer la dinámica poblacional del aislamiento t109 en suelo tipo andisol, bajo diferentes regímenes de aplicación.

**Materiales y métodos.** Se evaluaron diferentes concentraciones y frecuencias de aplicación en la biodisponibilidad de *T. asperellum* t109. Fueron evaluados las concentraciones 0, 1x10<sup>6</sup> y 1x10<sup>8</sup> conidias.mL<sup>-1</sup>, las cuales se evaluaron en diferentes frecuencias de aplicación en condiciones controladas de laboratorio y campo. La recuperación de inóculo se evaluó con la técnica de conteo en placa de petri para determinación de UFC.g<sup>-1</sup> de suelo.

**Resultados.** La biodisponibilidad de *T. asperellum* t109 fue afectada por la frecuencia de aplicación y con alta significancia (p<0,001) por la concentración del inóculo. En el muestreo final, para el ensayo en condiciones controladas, la concentración de 1x10<sup>6</sup> conidias.mL<sup>-1</sup> presentó diferencia altamente significativa (p<0,001) con respecto a 1x10<sup>8</sup> conidias.mL<sup>-1</sup>, obteniéndose el máximo valor de UFC.g<sup>-1</sup> de suelo al realizar aplicación cada 4 días. Para el ensayo en campo, se obtuvo diferencias altamente significativas (p<0,001) al emplear conjuntamente la concentración de 1x10<sup>8</sup> conidias.mL<sup>-1</sup> y frecuencia de aplicación de 7 días.

**Conclusiones.** Se determinó que la densidad poblacional de *T. asperellum* es importante en su establecimiento en suelo. En ambas condiciones, se encontró que frecuencias cortas de aplicación favorecen la presencia de *T. asperellum*, beneficiando el proceso de renovación de propágulos viables para el control biológico. Estos resultados sugieren que cuanto más alto el nivel de propágulos en el suelo, se podría favorecer la interacción microbiana con plantas, mejorando la eficacia de esta especie como herramienta de biocontrol.

### TLP-185. Actinomycetes isolated from soil's Brazilian ecosystems: potential agents of biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean (*Glycine max* L. Merrill)

Harold Alexander Vargas H.\*, Itamar Soares de M.\*

\*ESALQ/USP; Embrapa - Meio Ambiente Brasil.

**Introduction.** *Sclerotinia sclerotiorum* (LIB) De bary causes a major soybean disease. The actinomycetes are well-known for having several antagonistic mechanisms useful in biological control. The Brazilian ecosystems have micro-organisms with wide application in biotechnology. This study aimed to evaluate some isolates of actinomycetes from Brazilian mangrove in the search of new compounds to be used in the white mold control.

**Materials and methods.** A total of 202 actinomycetes isolates were inoculated in agar yeast extract (gy) and incubated for 3 days at 28°C. Subsequently, a mycelial disc of strain *S. sclerotiorum* (CMAA 1105) was inoculated in the center of the petri dish. The compatibility test of actinomycetes and beneficial bacteria from rhizosphere of soybeans was conducted. All isolates were evaluated for the hydrolytic enzymes production by growth on minimal medium, clear halos around the colonies indicated positivity.

**Results.** Thirty-three actinomycetes showed biological activity *in vitro* against *S. sclerotiorum*. Three of those showed up to 25%, 21 of them between 25 and 50%, and nine isolates showed activity above 50%. The compatibility test, in almost all cases, showed that *Bradyrhizobium japonicum*, *Rhizobium* sp. and *Pseudomonas* sp. Are able to grow with actinomycetes. Twenty-two of them showed chitinolytic activity, six isolates showed large halo formation of hydrolysis in medium containing cellulase.

**Conclusions.** Actinomycetes evaluated showed good ability to control *S. sclerotiorum* *in vitro* CMAA 1105. The beneficial bacteria to grow soybeans managed to grow along with most actinomycetes evaluated, which could be a great option for joint inoculation as a biological control of this disease. Furthermore, it was observed that some isolates had the ability to produce chitinolytic and / or cellulolytic enzymes.

### TLP-186. Detecção de *Salmonella* sp. em Carcaças de frango comercializadas em uma cidade do Rio de Janeiro, Brasil

Evellyn Siqueira de Pão\*, Laís RI Dos S Moura\*,  
Rogério Carlos Novais\*

\*Faculdade de Formação de Professores,  
Universidade do Estado do Rio de Janeiro Brasil.

**Introdução.** A salmonelose é uma zoonose de grande importância em razão de sua elevada endemicidade, alta morbidade, e pela dificuldade de seu controle. De acordo com o CDC (centers for disease control and prevention), 1/3 dos casos de doenças transmitidas por alimentos é devido a *Salmonella* sp. Os veículos mais frequentes de contaminação têm sido os ovos, a carne de aves e seus derivados. Sendo assim, devido a importância da detecção desta bactéria neste alimento amplamente consumido pela população objetivamos neste trabalho isolar e caracterizar bactérias do gênero *Salmonella* sp. Presentes em carcaças de frango comercializadas na cidade de São Gonçalo.

**Materiais e métodos.** Foram pesados asepticamente 25 g de carcaça de frango proveniente de oitenta amostras (adquiridas de empresa de grande porte no setor), homogeneizados em 225 mL de meio apt, a 37°C por 24 h. Cem µL de cultura foram inoculados em meio SX2 e submetidos a investigação com o sistema de imunoensaio vidas. Dez amostras (12,5%) demonstraram estar contaminadas com a bactéria salmonella. As colônias bacterianas provenientes destas amostras foram submetidas ao pcr com iniciadores específicos para gênero (*Salmonella*), espécie (*Salmonella enterica*) e sorotipo (*Salmonella enterica typhimurium*). As colônias de *Salmonella typhimurium* tiveram seus perfis moleculares caracterizados pela técnica de ribotipagem e seus perfis de sensibilidade a antimicrobianos identificados.

**Resultados.** Nossos resultados demonstram que as dez amostras encontravam-se contaminadas pela bactéria *Salmonella typhimurium*, com perfis moleculares idênticos. Quanto ao perfil de sensibilidade a antibióticos, todos os dez isolados demonstraram sensibilidade para os antimicrobianos ceftriaxona, ciprofloxacina, sulfametoxazol, e resistência ao ácido nalidixico.

**Conclusões.** Consideramos os resultados obtidos relevantes do ponto de vista de saúde pública, visto que evidenciam a presença da bactéria *S. phymurium* em um alimento amplamente consumido pela população.

### TLP-187. Number of bacteria associated to nitrification process in different systems of soil management in the meridional Amazonia, Brazil

Daniela Tiago S. Campos\*, Carolina Hortêncio Malheiros\*, Dafne Alves Oliveira\*, Luiz Antônio Oliveira\*

\*UFMT/FAMEV/DFP/Laboratório De Microbiologia Do Solo Brasil.

**Introduction.** Changes in the soil use result in deep alterations in the microbial communities and in the biogeochemical cycles, such as nitrogen, leading to a predominance of specific bacteria groups associated to nitrification, or, to bring in meaningful loss on the diversity of the microorganisms. The present work had as objective quantify the bacteria from genus nitrosomonas and nitrobacter under different of land use on an agricultural area located in the meridional Amazon, Brazil.

**Materials and methods.** The soil samples were sampled in 0-10 cm of depth on may 2013, under the following systems of soil management: integrated crop, livestock forest with simple rows, duo and triple of eucalyptus (*Eucalyptus grandis*) and paricá (*Schizolobium amazonicum*) a pasture and forest as control. The methodology applied for quantification was the most probable number.

**Results.** The results show an elevated quantity of nitrosomonas on soils under eucalyptus with simple rows (34 MPN/g dry soil) in comparison to the other systems, which suggests that the composition of the vegetables species influence in the number of these bacteria, orientating the predominance of this genus. The nitrobacter diversity was bigger in the native forest (71 MPN/g dry soil), which is expected, since the soils under forests have more tax of nitrification, being the soil under the system of paricá with simple row the most similar to the native forest (53 MPN/g dry soil).

**Conclusions.** The results suggest the importance of investigating the ecology of the responsible bacteria for the process of nitrification and how the different types of soil management can influence the dynamic of these microorganisms.

### TLP-188. Caracterización de la flora microbiana edáfica en el Centro de Investigación y Educación Ambiental La Tribuna

Carlos Alberto Mendez P.\*, Sonia Echeverry H.\*

\*Universidad Surcolombiana Colombia.

**Introducción.** El Centro de Investigación y Educación Ambiental La Tribuna se encuentra en una zona de vida de bosque seco tropical y en una región con influencia de explotación petrolera. Los bosques secos y, en particular, la tribuna representan una fuente de investigación exploratoria a nivel ecosistémico. Objetivo: aislar e identificar poblaciones microbianas de algunos grupos funcionales del ciclo del carbono y del nitrógeno en suelos de la tribuna.

**Materiales y métodos.** Se recolectaron muestras de suelo en tres parcelas de la tribuna y durante cuatro temporadas diferentes; para el recuento de UFC/g de suelo se realizaron diluciones seriadas las cuales se sembraron en medios de cultivo para amilolíticos (pontecorvo), fijadores de nitrógeno (BURK y NFB), heterótrofos totales (ATS) y hongos en medio de martin; la identificación de bacterias se realizó mediante tinción de gram y pruebas bioquímicas con api 20ne v 7.0; los hongos se determinaron mediante tinción con azul de lactofenol.

**Resultados.** En las diferentes temporadas de muestreo, los recuentos más altos de heterótrofos totales (30x106 UFC/g), de fijadoras de nitrógeno, burk (30x105 UFC/g) y hongos (47x103 UFC/g) se encontraron en la parcela 1; para amilolíticos (30x105 UFC/g) se encontró en la parcela 2 y para fijadores de nitrógeno en el medio nfb (88x105 UFC/g) se encontró en la parcela 3. En distintas parcelas, los bacilos grampositivos esporulados presentaron frecuencia de aparición muy común y los bacilos Gram negativos y cocos Gram positivos presentaron frecuencia de aparición ocasional. El sistema api permitió identificar los siguientes taxones: aeromonas hydrophila, pseudomona alcalígenes y aeromona salmonicida. Los hongos identificados correspondieron a los géneros

*Paecilomyces* sp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* sp., *Chrysosporium* sp. y *Acronium* sp.

**Conclusiones.** El estudio de la flora microbiana edáfica permitió la identificación de especies nativas con posibles aplicaciones biotecnológicas para el tratamiento del suelo por biorremediación.

### TLP-189. Validação de teste colorimétrico como indicador de crescimento de bactérias heterótrofas degradadoras de hidrocarbonetos

Guillermo Ladino-Orjuela\*, Eleni Gomes\*

\*Institutos de Biociências, Letras e Ciências Exatas - IBILCE. Universidade Estadual Paulista - Júlio de Mesquita Filho – UNESP Brasil.

**Introdução.** Pesquisas reportam o uso do 1,3,5-tricloro fenil tetrazolio (ttc) como indicador em testes colorimétricos de determinação da atividade respiratória. O ttc é reduzido pelas enzimas desidrogenase na cadeia respiratória. Quando reduzido o ttc vira de incolor para vermelho. Quando os hidrocarbonetos aromáticos são a fonte de carbono e energia, o crescimento das bactérias degradadoras destes compostos é lento devido à baixa biodisponibilidade do anel benzênico. Na determinação da presença e crescimento de bactérias em testes de degradação de compostos aromáticos, é desejável um método rápido, econômico e de fácil execução. Objetivo. Validar a viabilidade do uso do ttc como indicador de crescimento de bactérias isoladas de solos contaminados com hidrocarbonetos.

**Materiais e métodos.** Cada uma das dez cepas bacterianas foi cultivada em erlenmeyer de 50 mL com 20 mL de meio líquido nutritivo (mln), pH 7.0 ± 0.1, até atingir uma densidade ótica de 0.3 em 600 nm. Alíquotas de 10 µl dessas culturas foram colocadas em quintuplicata em placas de microtitulação junto com 80 µl de mln e solução de fenol para uma concentração final de 100 ppm. Foram feitos controles abiótico e de crescimento. As placas foram colocadas em incubadora new brunswick em 27°C, escuridão total e 300 rpm durante 24 h. Após este tempo foram colocados 10 µl de solução aquosa de ttc 1% esterilizada com membrana de 0.22 µ e 10 µl da solução doadora de elétrons para acelerar o metabolismo das culturas e colocadas novamente em incubadora. 6 h depois foi observado se a cor dos meios teve mudanças.

**Resultados.** Das UFC testadas 7 mostraram mudança na cor de transparente para roxa. As três restantes mostraram turvamento do meio sem a presença da cor roxa.

**Conclusões.** O método não é válido para determinar crescimento de todas as bactérias degradadoras de hidrocarbonetos.

### TLP-190. Microbial community composition associated to the marine sponge *Haliclona fulva*, a candidate organism for blue biotechnology developments

Erika Garcia B.\*, Martha Cepeda\*, Luis Peña O.\*, Thierry P.\*, Olivier Thomas\*, Howard Junca\*

\*Corpogen Colombia.

**Introduction.** *Haliclona fulva* in one of the most abundant sponges in mediterranean sea and belong to a group categorized as low-microbial-abundance-sponges (LMA). It has an enormous chemical potential due to the production of compounds such as polyacetylenic, sesquiterpenes and peptides. Up to date, it is still unknown if the true producer of those bioactive compounds is mainly one organism or it is a synergistic interplay of activities from both.

**Materials and methods.** In order to contribute to answer this question, this research described the composition and structure of the microbial community associated to *H. fulva*. To have a detailed culture-independent overview, we analyzed the v5-v6 region of 16s rRNA gene amplicons using illumina platform.

**Results.** Results showed relatively low diversity, represented in low shannon-wiener values as well as low evenness values, indicating that there are a few dominant bacterial groups. Some members belonged to phyla such as proteobacteria, planctomycetes, bacteroidetes and cyanobacteria.

**Conclusions.** Additionally to these results, a detailed description of such core composition is going to be presented as well as the relationships between chemical patterns and microbial communities observed, allowing to contribute to our understanding of the role of microorganisms on chemical and secondary metabolites production.

### TLP-191. Monitoramento da aeromicrobiota nas instalações de um instituto de ensino e pesquisa, Brasil

Oscarina Viana De S.\*, Jade Oliveira A.\*, Daniel Rodrigues Dos S.\*, Fátima Cristiane Teles De C.\*, Italo Magno Pereira C.\*, Regine Helena Silva Fernandes V.\*

\*Instituto de Ciências do Mar Brasil.

**Introdução.** Os padrões de vida moderna impoem a população humana períodos cada vez maiores de permanência em ambientes aclimatados artificialmente o que pode representar uma ameaça a saúde. Existe uma crescente preocupação com a qualidade do ar em ambientes fechados visando prevenir e atenuar o efeito deletério sobre a saúde dos usuários. O objetivo principal dessa pesquisa foi avaliar a qualidade microbiológica do ar em uma instituição de ensino superior.

**Materiais e métodos.** Foram quantificadas as cargas bacterianas e fúngicas do ar em diferentes áreas comuns em um prédio da universidade federal do ceará. As amostras foram obtidas pelo método de coleta passivo ou gravitacional usando placas contendo meios seletivos diferenciais para fungos (agar batata + ampicilina) e bactérias (agar contagem em placas + ácido propiônico) expostas durante 30 minutos em cada local.

**Resultados.** As contagens de bactérias em todos os ambientes foram significativamente maiores que as de fungos. Em 60% das amostras, o número de bactérias (UFC/m<sup>3</sup>) encontrado nos ambientes internos foi maior que aqueles dos ambientes externos adjacentes. Para fungos esses percentuais foram equivalentes entre as amostras. Em treze amostras (21,6%), a relação entre as contagens de micro-organismos no ambiente interno/externo ficou acima de 1,5. Dos isolados bacterianos, 48% apresentaram morfologia de cocos, 45% têm morfologia de bastonetes, 3% se mostraram como culturas mistas. Quanto à composição da parede celular, 62% apresentaram parede celular Gram positiva e 32% Gram negativa.

**Conclusões.** Os níveis de bactérias encontrados ficaram acima dos padrões considerados aceitáveis podendo comprometer a saúde dos frequentadores. Valores acima de 1,5 na relação entre contagens internas e externas dos micro-organismos o que caracteriza a influência deletéria do equipamento de condicionamento artificial sobre a qualidade do ar nos ambientes fechados.

### TLP-192. Pectinase production by yeasts from nests of the leaf-cutter ant *Acromyrmex balzani*

Caio Felipe Cavicchia Z.\*, Weilan Gomes Da Paixão M.\*, Daniela Tura de A.\*, Virgínia Elena M.\*, Francisco Eduardo De Carvalho C.\*, Fernando Carlos Pagnocca\*

\*Instituto de Biociências, Univ Estadual Paulista - UNESP, Centro de Estudos de Insetos Sociais, Campus Rio Claro - Sp, Brazil.

**Introduction.** The fungus garden of leaf-cutting ants harbor a great microbial diversity, including yeasts that contribute for the production of enzymes that degrade the plant material making the resulting nutrients available to the mutualistic fungus and worker ants. The aim of this work was to determine the production of the extracellular enzymes pectate lyase (PL) and polygalacturonase (PG) by yeasts of the genera *Pseudozyma* and *Sporisorium*, isolated from nests of the leaf-cutting ant *Acromyrmex balzani*.

**Materials and methods.** Twenty-nine yeast strains deposited at the central de recursos microbianos - CRM, UNESP, rio claro, sp were used in the assays and the enzymatic activity were carried out according to McKay (1988) for pg and Oliveira *et al.* (2006) method for pl. Enzymatic activity was determined using 2 mg/mL of apple pectin as substrate for pl and 2 mg/mL of polygalacturonic acid for pg. Pectinase activity was determined from a polygalacturonic acid standard curve, and one enzyme unit (u) of pectinase was defined as the amount of enzymes that produced 1µmol of polygalacturonic acid per minute of reaction per mL of rough substrate.

**Results.** Enzymatic activity of pg and pl were quantified from yeast belonging to both *Pseudozyma* (n=17) and *Sporisorium* (n=12) genera. Eighteen strains exhibited pl activity above 0.2 u/mL, while pg activity above 0.1 u/mL was observed in three out of 29 strains. Therefore, two strains (*P. Aphidis* to 189 e *S. chrysopogonis* to 027) showed the highest pl activity (0.747 u/mL e 0.855 u/mL, respectively) and *S. chrysopogonis* to 027 strain presented the highest pg activity (0.797 u/mL) as well.

**Conclusions.** Leaf-cutting ant fungus garden may be a source of microbial enzymes such as the pectinolytic ones, produced by both *Pseudozy-*

*ma* and *Sporisorium* genera, which make this an important substrate for the bioprospection of compounds of biotechnological interest.

### TLP-193. Frequência de bactérias isoladas de boca de pombos *Columba livia* procedentes da cidade de Maceió-AL

Williane Monteiro B.\*, Karla Silv\*, Viviane Barros\*, Marcela Nascimento\*, Maria Silva\*

\*Universidade Federal de Alagoas Brasil.

**Introdução.** Apesar dos avanços da microbiologia clínica, o diagnóstico e a epidemiologia das doenças transmitidas por animais silvestres que se comportam como pragas urbanas ainda é um grande problema, e permanece como uma importante meta para o desenvolvimento de políticas de saúde pública. Objetivo geral. Identificar bactérias da cavidade oral de pombos provenientes da cidade de Maceió-AL.

**Materiais e métodos.** Realizou-se o estudo com 10 pombos, capturados na cidade de Maceió-AL. Colheram-se as amostras da cavidade oral por meio de swab estéril. O material foi semeado em placas de petri contendo meio ágar-sangue de ovino a 10% e meio ágar McConkey. As placas foram incubadas em estufa por 48 h a 37°C. As amostras foram submetidas à observação por meio de coloração de gram.

**Resultados.** Identificou-se cinco gêneros bacterianos na mucosa bucal dos 10 pombos. A bactéria encontrada com maior frequência foi *Staphylococcus* sp. 25,92% (7/27), seguida de *Corynebacterium* sp. 14,81% (4/27), *Streptococcus* sp. 25,92% (7/27), *Enterobacteriaceae* 18,52% (5/27) e *Bacillus* sp. 14,81% (4/27). O gênero *Staphylococcus* sp. e *Streptococcus* sp. pertencem à microbiota cutânea e de mucosas de mamíferos e aves, podendo ser transmitidos pela saliva e aerossóis contaminados.

**Conclusões.** As *Enterobacteriaceae* representam um risco na contaminação de alimentos, são bactérias de alta virulência e podem produzir doenças graves. Esses agentes isolados da mucosa bucal de pombos representam um risco para a saúde pública da cidade de Maceió-AL.

### TLP-194. Aislamiento, caracterización e identificación de cepas de *Azospirillum* para el desarrollo de un inoculante biológico

Diana María Cárdenas C.\*

\*Univ. Francisco de Paula Santander Colombia.

**Introducción.** Las PGPR presentan diferentes mecanismos para aumentar el desarrollo de los cultivos. La selección de aislamientos nativos adaptados a condiciones ambientales regionales contribuirá a la formulación de inoculantes eficaces ya que serán más competitivos debido a su mayor adaptación y colonización en la rizósfera de estas plantas. Este trabajo tuvo como objetivo aislar y clasificar cepas de *Azospirillum* para el desarrollo de un inoculante biológico comercial.

**Materiales y métodos.** Se recolectaron muestras en el departamento norte de Santander de diferentes cultivos, las cuales fueron procesadas en el laboratorio de biología aplicada de la UFPS, utilizando medio NFB semisólido. Posteriormente, se realizó la caracterización cuantitativa de los aislamientos, según sus actividades de promoción del crecimiento vegetal como la solubilización de fósforo inorgánico en caldo de cultivo, fijación biológica de nitrógeno con el método de micro-kjeldahl, síntesis de compuestos indólicos y sideróforos. A estos resultados se les realizó una comparación de medias y sus similitudes se estimaron según la distancia euclídea. Luego, se agruparon por el método de las medianas y se representaron gráficamente en un dendrograma según el programa IBM SPSS Statistics 19.

**Resultados.** Se obtuvieron cuarenta aislamientos de *Azospirillum*, los cuales presentaron todas las actividades promotoras del crecimiento vegetal y en su orden las cepas as7, as9 srp, sr5p4, rm1p, 2trm, sr6p2 y sr5p2 se clasificaron como promisorios biofertilizantes para el desarrollo de inoculantes biológicos comerciales por una empresa regional de base biotecnológica. Estos aislamientos se identificaron por secuenciación del gen 16s rDNA y según el análisis Blast en la base de datos del Genbank presentaron 97 y 99% de similitud con *A. brasilense* y *A. lipoferum*.

**Conclusiones.** Estas cepas podrán evaluarse en parcelas experimentales y se determinarán sus ventajas competitivas debido a su adaptación con lo cual se mejorarán los rendimientos de los cultivos y la conservación de los suelos agrícolas.

### TLP-195. Analysis of the rhizospheric microbial community of common bean resistant to soil pathogen

Lucas William Mendes\*, Rodrigo Mendes\*, Siu Mui Tsai\*

\*Centro de Energia Nuclear Na Agricultura, Universidade de São Paulo Brasil.

**Introduction.** The rhizosphere is considered one of the most dynamic interfaces of the world, constituting a hot spot of microbial activity. The rhizosphere microbiome plays a key role in the plant functioning, influencing its physiology and development. Although the importance of rhizosphere microbiome for plant growth has been widely known, for the vast majority of rhizosphere microorganisms there is no information. To enhance plant growth and health, it is essential to know which organisms are present in the rhizosphere and what they are doing. In this study it will be selected bean materials with a gradient resistance to the pathogen *Fusarium oxysporum*, in order to understand how the host plant differentially shapes the structure of the rhizosphere microbiome.

**Materials and methods.** This proposal aims to assess the microbial community inhabitant of the rhizosphere of common bean to identify potential groups that support the plant in the protection against the soil pathogen. For this, cultivars resistant and susceptible to the pathogen will be grown in greenhouse experiments and the community will be assessed through classical microbiology approaches and molecular biology. Initially, isolation and antagonism tests will be carried out to detect groups that promote protection of the plant against the fungus. After, the structure and diversity of microbial communities will be characterized by high-throughput sequencing and then compared to detect differences between the rhizosphere community of the resistant and susceptible plant.

**Results.** The results will provide information to understand the changes in the rhizosphere microbiome driven by the resistance of the plant to the pathogen, and what the relationship of microorganisms in this process.

**Conclusions.** Considering the importance of soil microorganisms in biogeochemical cycles, as well as in plant-pathogen interaction, the approach of a study focused on microbial ecology is urgently needed for the development of new methods that promote the health and growth of plants.

### TLP-196. Evaluación de la patogenicidad de *Burkholderia cepacia* en maíz (*Zea mays*) y jitomate (*Lycopersicon esculentum* mill)

Rocío Pérez-Y-Terrón\*, Thania Soledad Gonzalez-Montfort\*

\*Benemérita Universidad Autónoma de Puebla México.

**Introducción.** *Burkholderia cepacia* es una bacteria con gran diversidad genética, presentándose como estimulador del crecimiento vegetal, agente biocontrol en diferentes cultivos y patógeno de plantas. Objetivo: realizar ensayos de comportamiento patogénico de *Burkholderia cepacia* en maíz y jitomate.

**Materiales y métodos.** Para evaluar la posible patogenicidad de *Burkholderia cepacia* en maíz y jitomate, previamente desinfectadas las semillas de cada una de las plantas, se formaron tres grupos: un control, uno para infección en semilla y el último para infección en hoja. Estos grupos se germinaron en cámara húmeda con fotoperíodo de 12 h, cuando hubo radícula se traspasaron a tubos que tenían un soporte y fertilizante estéril; las plántulas de maíz y jitomate de los tres grupos se observaron durante 21 y 43 días respectivamente; los datos fueron comparados con una prueba t-student. Para la patogenicidad en hoja se dejaron en observación por una semana y por último, se hicieron observaciones microscópicas. *Burkholderia cepacia* fue inoculada a dosis de 10<sup>8</sup> UFC/mL.

**Resultados.** Se encontró que para ambas plantas infectadas desde la semilla, existió diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en la longitud de la planta, pero no para el largo de la raíz en comparación con el grupo control. Respecto a la inoculación en hoja se encontró la presencia de un halo de muerte celular alrededor de la zona de inoculación, además de una coloración amarilla-café.

**Conclusiones.** Si bien *Burkholderia cepacia* está asociada al crecimiento vegetal, los resultados obtenidos muestran que esta bacteria puede comportarse como patógena para el maíz y jitomate, además de interferir en el desarrollo adecuado de estas plantas cuando es inoculada desde la semilla.

### TLP-197. Formação de profissionais motivados e conscientes com o meio ambiente e com a sociedade: microbiologia industrial - projeto água com abordagem CTS

Lindiane Lopes F.\*, Míriam Stassun Dos S.\*, Fátima De Cássia Oliveira G.\*

\*Centro Federal de Educação Tecnologia de Minas Gerais - CEFET/MG Brasil.

**Introdução.** Esse trabalho é parte de uma pesquisa de mestrado sobre metodologia de projetos com abordagem CTS - projeto-água, desenvolvida em aulas práticas de microbiologia industrial ii, com alunos da educação profissional técnica em química de nível médio, em escola federal. Teve como objetivo verificar se com a metodologia adotada para o projeto os alunos se tornaram mais reflexivos, ativos, participativos, interessados, conscientes com seu papel na sociedade e capazes de intervir nas decisões relacionadas à ciência e à tecnologia.

**Materiais e métodos.** Para sua realização iniciou-se com roteiro de coleta de água diferenciado, incluindo além das informações físicas do local, a importância da água para a população, aspectos históricos, ambientais e as condições reais do local. Os alunos em grupos fizeram análises em laboratório das amostras coletadas por eles (testes: presuntivo; confirmativo para coliformes totais; confirmativo para coliformes termotolerantes) encontrando todas impróprias para consumo.

**Resultados.** Em questionário e entrevista com alunos verificou-se mudanças comparando os dois tipos de aulas práticas: as convencionais com as adotadas no projeto-água. Observou-se um grande envolvimento dos alunos nas práticas e discussões, curiosidade e preocupação com os resultados. Diante desses resultados aumentou a responsabilidade dos alunos e a vontade de voltarem ao local para alertar a população.

**Conclusões.** Os resultados apontam que uma educação mais humanizada e próxima da realidade do aluno, onde aplique seus conhecimentos e se sintam inseridos e úteis, favorece em um aprendizado para além da técnica.

### TLP-198. Detección de aislamientos productores y degradadores de moléculas señal tipo N-acil homoserina lactonas (AHLs) en cultivos orgánicos de lechuga (*Lactuca sativa*) en Bogotá, Colombia

Javier Vanegas\*, Oscar Barriga†, Nataly Ramírez\*, Sandra Campos‡, Elkin Ruiz†, Luisa Boada†, Luisa Pantoja‡, Johanna Boyacá‡, Lina Ochoa‡, Carlos Villalba†, Alejandra Robles†, Paula Pabón†, Paola Pereira†, Juan Navarro†, Edwin Torres†, Isabel Galindo‡, Jimena Sánchez‡

\*Universidad Antonio Nariño, Facultad de Ciencias. †Universidad Nacional de Colombia, Grupo Ecología Microbiana. ‡Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Facultad de Ciencias de La Salud.

**Introducción.** El sector hortícola presenta contaminación del suelo por el uso indiscriminado de plaguicidas y fertilizantes, lo que afecta la producción del suelo, la inocuidad de los productos agrícolas y la salud de las personas y animales. La aplicación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPR) ha aumentado el rendimiento de cultivos como la lechuga y ha conllevado a la disminución de fertilizantes. Así mismo, esta actividad se ha potenciado mediante el uso de mezclas bacterianas. Sin embargo, se desconoce el papel que moléculas señal como las n-acil homoserina lactonas (AHLs) juegan en el establecimiento de estas relaciones sinérgicas. En este trabajo se determinó la abundancia de aislamientos productores y degradadores de moléculas señal AHLs en plantas de lechuga.

**Materiales y métodos.** Mediante el biosensor *Chromobacterium violaceum* cv026 se detectó la producción y degradación de AHLs de cepas aisladas de dos cultivos orgánicos de lechuga provenientes de cuatro medios de cultivo (TSB, ASHBY, SRS y Cetrimide).

**Resultados.** En el primer punto de muestreo (SL) se obtuvieron 396 aislamientos de las cuales ninguna fue productora ni degradadora de AHLs. Del segundo punto de muestreo (JB) se aislaron 257 cepas de las cuales 29 fueron productoras de AHLs y ninguna fue degradadora de estas moléculas señal.

**Conclusiones.** Los resultados muestran que la abundancia de aislamientos productores de AHLs es muy baja en comparación con otros trabajos que reportan que más del 50% de cepas aisladas son productoras de AHLs. No obstante es necesario evaluar los aislamientos con otro tipo de biosensores que detecten AHLs de cadena larga y evaluar el potencial de estos aislamientos como PGPR.

## TLP-199. Efecto de la cubierta vegetal sobre la disipación de plaguicidas y propiedades microbiológicas de la biomasa de un lecho biológico

Eduardo Ignacio Salgado J.\*, Nicolás Enrique Millahueque S.\*, Gonzalo Rodrigo Tortella F.\*, María Cristina Diez J.\*

\*Universidad de La Frontera Chile.

**Introducción.** La biomasa de los lechos biológicos ha demostrado una gran capacidad para retener y degradar plaguicidas. Sin embargo, pocos estudios han sido realizados para evaluar el efecto de la cubierta vegetal sobre la disipación de plaguicidas y las propiedades microbiológicas de ésta. Evaluar el efecto de la cubierta vegetal sobre la disipación de plaguicidas y propiedades microbiológicas de la biomasa de un lecho biológico.

**Materiales y métodos.** Se establecieron columnas empacadas con biomasa formada por suelo, turba y paja (1:1:2 v/v) y una cubierta vegetal de *Lolium perenne*. Se contaminaron artificialmente con una mezcla de atrazina (ATZ), clorpirifos (CHL) e iprodione (IPR) (5 mg/kg i.a. c/u) y se mantuvieron a 25°C durante 40 días. Luego fueron divididas en tres secciones (0-10, 10-20 y 20-30 cm) y se determinó la concentración de plaguicida residual y producción de ácidos orgánicos. Se determinó la actividad biológica (microorganismos cultivables, actividades enzimáticas y diversidad microbiana por DGGE).

**Resultados.** No se observaron diferencias significativas en el nivel de plaguicida residual entre los lechos con y sin cubierta vegetal en las secciones muestreadas. La actividad peroxidasa (>0.4 u/kg) como FDA (>0.2 u/g) presentaron valores superiores al control en presencia de plaguicida y cubierta vegetal. Los ácidos orgánicos (succínico, cítrico y oxálico) disminuyeron significativamente, mientras que el Ác. málico no presentó alteración en presencia de la mezcla de los contaminantes. Las poblaciones microbianas presentaron alteraciones en presencia y ausencia de plaguicidas al día 40. Se observaron diferencias sobre la diversidad microbiana entre los tratamientos con plaguicida y el control al día 1 (<70%), retomando una similitud al día 40 (>80%).

**Conclusiones.** La disipación de plaguicidas y la actividad FDA no se vieron alteradas por la presencia de la cubierta vegetal; sin embargo, se incrementó la actividad peroxidasa. La cubierta vegetal preservó la diversidad microbiana en el lecho biológico.

## TLP-200. Trascendencia, logística y capital humano en la colección nacional de microorganismos

Jovita Martínez C.\*, Armando Sánchez C.\*, Juan Carlos Estrada M.\*, Daniel Estrada B.\*, Reina Rojas R.\*

\*Centro de Investigación y Estudios Avanzados Del I.P.N. Mexico.

**Introducción.** Con el objetivo de mejorar el patrimonio microbiano, el centro de investigación y de estudios avanzados del I.P.N. proporciona y pone a disposición de la comunidad científica, docente y tecnológica un nuevo espacio diseñado exclusivamente para la colección nacional de cultivos microbianos, el cual cuenta con áreas para el control del manejo interno y para la interacción entre la colección con la industria y la investigación.

**Materiales y método.** La colección cuenta con zonas diseñadas para el desarrollo en base de datos computarizada, aplicación de aspectos administrativos, análisis de métodos y costos de envío, manipulación para desechos contaminantes; además del control de insumos y preparación de material para procesos de investigación. También, trabaja con la actualización en base a los avances de los más altos estándares de otras colecciones a nivel mundial. Es por ello, que la interacción entre la colección, tanto con las autoridades del cinvestav en conjunto con las gubernamentales, es de vital importancia, ya que esto conlleva a la fortificación de los servicios y se ve reflejado en el trabajo del sector privado y científico.

**Resultados.** Para ello, la necesidad de tener un plan de trabajo proyectado para el mantenimiento y uso de la infraestructura física y humana, en donde se incluya información para que el personal responsable de las diferentes áreas se familiarice con usos de protocolos y regulaciones de seguridad. Se contempla la realización de diferentes tipos de manuales enfocados a la seguridad y prestación de servicios, un reglamento interno además de un reglamento externo dirigido a quienes soliciten algún servicio.

**Conclusiones.** Para obtener buenos resultados dentro de una colección de microorganismos es primordial tener personal altamente capacitado. Cada persona involucrada en las actividades es importante y aunque

no todas están enfocadas a la investigación, tienen un fin común que es mantener y fortalecer el servicio brindado a la comunidad científica.

## TLP-201. Aislamiento y caracterización de actinobacterias aisladas desde sedimento marino en la Antártica

Claudio Lamilla\*, Leticia Barrientos\*, Lorena Lagos\*, Fernanda Cid\*, Milko Jorquera\*, Luis Salazar\*

\*Universidad de La Frontera Chile.

**Introducción.** La Antártica ofrece una oportunidad única para llevar a cabo investigación científica en uno de los entornos menos caracterizados y prístinos del planeta con condiciones climáticas adversas que han delimitado la diversidad de los seres vivos que allí habitan. Por estas razones, algunos ambientes de la Antártica podrían ser un recurso valioso para el descubrimiento de microorganismos productores de metabolitos activos, como resultado de la influencia del medio ambiente local. El objetivo de este estudio fue aislar y caracterizar actinobacterias provenientes de sedimentos marinos obtenidos en la Antártica.

**Materiales y métodos.** Las muestras de sedimento marino, fueron obtenidas durante la expedición científica Antártica 2013 y 2014. Las muestras se desagregaron por sonicación (5 g), a 100 khz durante 30s, y se resuspendieron en 10 mL de solución salina (0,85%). Diluciones seriadas se sembraron en placas con medio nm1, isp2 e isp 3, adicionados con 33 g l-1 de sal marina, y se incubaron a 4 y 15°C, durante 4 semanas. Los cultivos puros se almacenaron -20°C. A cada aislado se le determinó la morfología microscópica y la caracterización bioquímica mediante el Kit Apizym. La caracterización molecular se realizó con el empleo de los partidores universales 27f y 1492r. Los productos de PCR obtenidos fueron secuenciados en macrogen (Korea) y luego se compararon las secuencias en la base de datos del Genbank NCBI.

**Resultados.** Se han identificado 10 cepas de diferentes actinobacterias, entre las que destacan varias cepas de *Arthrobacter sp.*, *Thermoleophilum sp.*, *Janibacter sp.* y *Curtobacterium sp.* Así mismo, el test Apizym demostró que estas bacterias destacan por la variada actividades enzimáticas que presentan.

**Conclusiones.** Los datos obtenidos a la fecha nos entregan promisorios resultados, que permitieron aislar y caracterizar diferentes actinobacterias Antárticas, las que serán evaluadas en búsqueda de sus posibles aplicaciones biotecnológicas. Agradecimientos: proyecto inach rt\_14-12.

## TLP-202. Diversidade de leveduras associadas a fitotelmos de Bromélias em uma área de campo rupestre em aurora – tocantins

Francisca Maria Pinheiro De S.\*, Amaraina Maia Armiato\*, Paula Benevides De M\*, Carlos Augusto Rosa\*

\*Universidade Federal de Minas Gerais Brasil.

**Introdução.** Fitotelmos são tanques de água oriundos de vegetais, de tamanhos diversos, capazes de armazenar formas de vida variadas, incluindo micro-organismos. Os tipos mais comuns de fitotelmos incluem cavidades em troncos de árvores, partes de plantas caídas, como folhas e frutos, brácteas e axilas de algumas plantas, como as *Bromélias*. No Brasil, as bromélias apresentam uma ampla distribuição contendo com uma rica diversidade de espécies epífitas, terrícolas e rupícolas. O objetivo foi identificar leveduras associadas à fitotelmos de duas espécies de *Bromélias* de campos rupestres em aurora/to

**Materiais e métodos.** Foram coletadas 30 amostras de água dos fitotelmos das *Bromélias encholirium sp.* e *Bromelia karatas*. No laboratório, alíquotas de 0,2 mL de diluições decimais foram inoculadas em ágar ym. As placas foram incubadas a 25°C e as colônias selecionadas foram identificadas com base no sequenciamento dos domínios d1/d2 da grande subunidade do gene rRNA. As amostras foram sequenciadas por eletroforese capilar aparelho abi3130, usando bigdye v3.1 e polímero pop7. As sequências obtidas foram comparadas com as depositadas no banco de dados Genbank (NCBI).

**Resultados.** Foram identificadas 269 isoladas de *B. karatas* e 163 de *Encholirium sp.* As espécies mais frequentes isoladas a partir de *Encholirium sp.* foram *Cryptococcus heveanensis*, *Candida glabrata* e *Cryptococcus laurentii*; e as espécies de *B. karatas* foram *C. glabrata*, *C. orthosporosis*, *C. pseudointermedia*, *Meyerozyma caribbica* e *M. guilliermondii*. Os valores do índice de diversidade foram de 3,04 para *B. karatas* e 2,83



para *Encholirium* sp. Foram identificadas duas novas espécies, sendo *Hannaella pagnoccae* isoladas de ambos fitotelmos e *Hagleromyces auroreensis* isoladas dos fitotelmos de *B. karatas*.

**Conclusões.** Os fitotelmos de *B. karatas* apresentaram maior índice de diversidade. No entanto, ambos os fitotelmos mostraram-se como um substrato rico para os estudos de diversidade e taxonomia destes microorganismos; e como potencial para novas espécies. Apoio financeiro: CNPQ, capes e fapemig.

### TLP-203. Efeitos da antibiose e inibição de germinação por *Bacillus pumilus* e *Bacillus subtilis* em *Thielaviopsis paradoxa*

Gustavo Venturini\*, Fabio Brandi\*, Wagner Bettiol\*

\*Embrapa Meio Ambiente Brasil.

**Introdução.** A podridão abacaxi pode inibir como retardar drasticamente a brotação dos colmos da cana-de-açúcar, provocando falhas e também acarretando perdas nos cortes subsequentes. O sintoma característico se dá pela fermentação das mudas, principalmente no início do desenvolvimento quando há maior concentração de açúcares, com o surgimento de tecido avermelhado e encharcamento da região do corte, produzindo aroma característico de essência de abacaxi. O objetivo deste trabalho foi validar os efeitos antagonísticos entre *B. pumilus* (qst 2808) e *B. subtilis* (qst 713) sobre *T. paradoxa*.

**Materiais e métodos.** O primeiro teste consistiu no antagonismo direto ao patógeno em placas de petri, totalizando 15 placas em 3 tratamentos (inoculação simultânea; 24 h e 48 h após o agente biológico). O teste seguinte avaliou o crescimento micelial na presença dos metabólitos produzidos pelos agentes biológicos, adicionados ao meio bda (batata-dextrose-ágar), em cinco concentrações (10%; 1%; 0,1%; 0,01%; 0,001%). O teste de germinação avaliou o percentual de germinação dos conídios (concentração de  $1,265 \times 10^6$  conídios/mL) na presença dos agentes biológicos nas mesmas 5 concentrações, com o agente biológico viável. O ensaio foi realizado em placas de petri pequenas, onde cada campo de observação consistiu em uma repetição, com 5 campos por placa e 3 placas por concentração.

**Resultados.** Ambos os agentes de biocontrole apresentaram efeitos antagonísticos significativos contra o patógeno, com destaque para *B. subtilis* em todos os ensaios (teste de pareamento no tratamento de 48 h; demais testes nas doses de 0,1%, 1% e 10%, com *B. pumilus* tendo efeito semelhante apenas em concentração máxima, 10%).

**Conclusões.** Conclui-se que *Bacillus pumilus* e *Bacillus subtilis* apresentam potencial antagonismo contra o patógeno *T. paradoxa*; *Bacillus subtilis* apresentou maior eficiência de controle em relação ao crescimento micelial e a inibição da germinação do patógeno em relação à *Bacillus pumilus* em todos os testes realizados.

### TLP-204. Evaluación de la efectividad en campo de cepas nativas de *Bacillus subtilis* bs-111 y *Trichoderma harzianum* TRHA-7 contra *Botrytis cinerea* "pudrición gris" en vid vinífera

Alejandro Patiño G.\*, Abad Flores P.\*, Rosa Egusquiza C.\*, Mario Alcarraz C.\*, Tito Libio Sanchez R.\*, Liz Mayra Isabel Rodriguez P.\*, Carla Trigos H.\*, Jessi Claudio Fonseca\*

\*Universidad Nacional Mayor de San Marcos Perú.

**Introducción.** La podredumbre gris ocasionada por *Botrytis* complica la producción de vinos en las principales zonas vitivinícolas del Perú, haciendo la fermentación más compleja, ya produce un antifúngico que mata a la levadura y con frecuencia detiene la fermentación antes de que el vino haya acumulado niveles suficientes de alcohol. El uso indiscriminado de agroquímicos ante este problema nos conlleva al uso de alternativas orgánicas más acordes con el medio ambiente como el uso de microorganismos. Nuestro objetivo es evaluar el poder sinérgico de las cepas nativas *Bacillus subtilis* bs-111 y *Trichoderma harzianum* TRHA-7 contra *Botrytis cinerea* "pudrición gris" en vid vinífera.

**Materiales y métodos.** Se seleccionó un sector de tierra de cultivo de vid variedad red globe en el fundo torrealba, hualal; con síntomas tempranos de la enfermedad. Se multiplicó la cepa de *Trichoderma harzianum* TRHA-7 en sustrato sólido (maíz molido) mediante producción artesanal. Se aplicó diluyéndolo a una concentración final de  $8.2 \times 10^7$

conidias/mL junto con *Bacillus subtilis* bs-111 a una concentración de  $2.5 \times 10^8$  esporas/mL, producido en fermentación sumergida en bioreactor de 140 L de capacidad; mezclándolos con aceite mineral al 2,0 %. Cada unidad experimental consto de 5 plantas, asperjadas en los estados de floración, media pinta y pinta total más una unidad testigo sin aplicación; las evaluaciones se dieron en 30 racimos de cada planta escogidas al azar y marcadas antes de la aplicación.

**Resultados.** Los tratamientos sinérgicos con ambas cepas presentaron una incidencia significativamente menor de la enfermedad a la presentada por los racimos testigos; de un 12.4% contra el testigo de 69.7%.

**Conclusiones.** Una aplicación sinérgica de *Bacillus subtilis* bs111 con *Trichoderma harzianum* TRHA-7 reducen notablemente la incidencia y la severidad causada por *Botrytis cinerea* en vid en aplicaciones a momentos de floración, media pinta y pinta total.

### TLP-205. Production of biodiesel from residual glycerin by *Mortierella isabellina*

Manuela Cristina Mota L.\*, Adriana Ferreira De S.\*, Roberta Sampaio P.\*, Wolfgang Harand\*, Jaceline Maria De Negreiros L.\*, Daniele Gilvanise De S.\*, Norma Buarque De G.\*, Paulo Henrique Da S.\*

\*Universidade Federal de Pernambuco Brasil.

**Introduction.** Oleaginous microorganisms are defined as those having a lipid content greater than 20%. The *Mortierella isabellina* species has been highlighted by having 86% lipids in their total biomass. The search for microorganisms that accumulate high levels of lipids becomes a promising biotechnological way to the reuse of glycerin as well as minimizing the costs of production of biodiesel. The strain *Mortierella isabellina* was used. To evaluate the production of lipids with the use of residual glycerin from production biodiesel by fungal biomass and lipids.

**Materials and methods.** The inoculum was prepared with 40 agar discs transferred for culture medium at concentrations (2, 4 and 8%) of the substrates: commercial glycerin, glycerin biodiesel, corn steep liquor and glucose (control) with pH 6.0. The flasks were incubated under stirring at 120 rpm, at 28°C for 168 h. After this period, the biomass was dried to constant weight. Total lipids were extracted using organic solvent system and quantified by calculating the difference weight x 100 per gram of dry biomass. The esterified fatty acids were subjected to gas chromatography.

**Results.** The results indicated that higher biomass production using waste glycerin from biodiesel concentration of 8%, corresponding to 20 g/l. And evaluating fatty acids in lipids was checked for the presence of these acids with their respective concentrations: myristic (C14:0) - 0.7%, palmitic acid (C16:0) - 20.3% oleic (C18:1) - 17.3% linoleic (C18:2) - 60.1%  $\alpha$ -linolenic (C18:3) - 1.6%. Being the highest peak of linoleic acid, especially among the other treatments performed.

**Conclusions.** The results demonstrated the possibility of reuse of industrial residues derived from biodiesel production, favoring the development of technological innovation with the generation of products with high added value.

### TLP-206. Bacteria and fungi number in German soils under four different land use

Ana Carla Stieven\*, Katharina Meurer\*, Daniela T. S. Campos\*, Carolina Hortêncio M.\*, Eduardo Guimarães C.\*, Hermann Jungkunst\*

\*Universidade Federal de Mato Grosso Brasil.

**Introduction.** The abundance and diversity of soil microorganisms in a system determine the speed and magnitude of processes such as nutrients mineralization and immobilization and listing of these can provide useful information on the effect environmental factors on microbial community. The objective of this work was quantify the total number of bacteria and fungi in soil under four different land use systems commonly used in the Germany central-east.

**Materials and methods.** Soil samples were collected at a depth of 0-10 cm, at the experimental farm of the UFZ in Bad Lauchstädt and the treatments was bare soil fallow; soil under rapeseed (*Brassica napus*) with and without fertilization; and soil under pea (*Pisum sativum*). The measurements were made by serial dilution and plating spread plate method on agar nutrient for bacteria and potato dextrose agar for fungi, according Wollum (1982).

**Results.** From the quantification of microorganisms was observed that the soil under rapeseed fertilization land use presented with a biggest bacteria and fungi number,  $3.14 \times 10^{-6}$  and  $1.39 \times 10^{-4}$  CFU g soil<sup>-1</sup>, respectively, followed by rapeseed without fertilization and peas, which showed very similar results, and fallow system with a smaller number of microorganisms,  $1.28 \times 10^{-6}$  and  $9.00 \times 10^{-3}$  CFU g soil<sup>-1</sup> to bacteria and fungi. Fertilization influenced positively the total bacteria and fungi communities, this condition can be justified because the fertilizer can be supplied ready raw material for the development of microorganisms, facilitating their assimilation, without degradation, and thereby driving the multiplication of this community.

**Conclusions.** Thus, concluded that the land use and the plant species directly influence the microorganisms number in the soil.

### TLP-207. *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* strains isolated from different species of amphibians present aggregative pattern of adherence

Flávia Ferreira B.\*, Carolina Sampaio S.\*, Afonso Gomes A.\*,  
Mônica Aparecida Midolli V.\*, Waldir Pereira E.\*,  
Tânia Aparecida Tardelli G.\*, Cecilia Mari Abe\*

Laboratório de Biologia Celular and Laboratório de Bacteriologia,  
Instituto Butantan (IBU), São Paulo, Brasil. Disciplina de Microbiologia –  
Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, Brasil.

**Introduction.** The microbiota present on amphibians' skin is directly associated to their habitats. Changes in this environment can result in increased susceptibility to infection by different pathogens. Despite the growing interest in amphibians and their biodiversity, little is known about the microorganisms that colonize their skin. This work aims to characterize most frequently found bacterial species in association to amphibian skin.

**Materials and methods.** *Citrobacter freundii* (38), *Escherichia coli* (14), and *Klebsiella pneumoniae* (10) isolates collected from the skin of different Brazilian species of amphibians were submitted to six hours hela cell adherence assay, PCR (to search for EAEC related genes) and hybridization assays (to search for genes associated to other *E. coli* categories). **Results.** Results showed that 25/38 (65.8%) of *C. freundii*, 9/14 (64.3%) of *E. coli* and 7/10 (70%) of *K. pneumoniae* were able to adhere to hela cells. Among adherent strains, 24/25 (96%) of *C. freundii*, 7/9 (77.8%) of *E. coli* and 3/7 (42.9%) of *K. pneumoniae* presented an aggregative adherence (AA) pattern on hela cells. When submitted to PCR assays searching for AATA, AGGR, AAFA, AGGA, AGG3A e AGG4A genes, no positive reaction were observed. Results were also negative to hybridization assays performed with EAEC, ST, LT, EAE, BFPA, STX1, STX2, INV genetic probes.

**Conclusions.** Most of the adherent strains presented a typical aa adherence pattern, and none of the gene markers studied. Adherence assays is still the gold-standard to characterize EAEC and some other *E. coli* categories. And, a common factor that is genetically shared by EAEC strains remains unclear. This work suggests that other factor(s) must be related to the AA adherence pattern observed in *E. coli* strains isolated from amphibian skin, and that further studies will be necessary to elucidate this factor, and clarify its importance to the bacteria-amphibian skin interaction.

### TLP-208. Evaluación de celulasas y hemicelulasas en el intestino de *Anthonomus grandis* boheman (Coleoptera: Curculionidae)

Emiliano Ben Guerrero\*, Ricardo Salvador\*,  
Facundo Felice\*, Eleonora Campos\*, Paola Talia\*

\*Instituto de Biotecnología, Cívica, CNIA, Inta Castelar, N. Repetto y Los Reseros S/N, (1686) Hurlingham, Provincia de Buenos Aires, Argentina.  
Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola, Cívica, CNIA, Inta Castelar,  
N. Repetto y Losargentina

**Introducción.** En la actualidad hay un gran interés en la utilización de biomasa lignocelulósica para la producción de bioetanol, debido principalmente al alto costo del petróleo y reducción de las reservas de crudo. La limitación del proceso está dada por el alto costo de las enzimas involucradas. El objetivo de este trabajo consistió en la prospección y evaluación de celulasas y hemicelulasas del intestino picudo del algodonero (*Anthonomus grandis* bohemian), para su utilización en la obtención de bioetanol de segunda generación.

**Materiales y métodos.** A partir de extractos de intestinos y cabezas de tres estadios larvales (4, 5 y 7 mm), pupas y adultos de *A. grandis*, criados en forma artificial, se realizaron ensayos de detección de la actividad  $\alpha$ -1,4 endoglucanasa. La misma se realizó mediante la cuantificación de azúcares reductores utilizando el ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS).

**Resultados.** Como resultado se observó una mayor actividad en extractos de intestino correspondientes al estadio larval 7 mm (0,8 ui/g). Del mismo se evaluaron actividades  $\alpha$ -1,4 endoglucanasa, pectinasa,  $\alpha$ -amilasa, xilanasas y  $\alpha$ -glucosidasa, tanto utilizando extractos del intestino entero como de sus fracciones (anterior, medio y posterior). Todas las actividades fueron medidas por DNS, excepto  $\alpha$ -glucosidasa, que fue medida mediante p-nitrofenol-celobiosidasa. El mayor registro enzimático correspondió a la actividad pectinasa, tanto en extracto de intestinos enteros (8,4 ui/g) como en sus fracciones (6,2 ui/g). La actividad  $\alpha$ -glucosidasa fue observada en intestino medio y posterior (1,6 ui/g), estando ausente en la región anterior. La actividad endoglucanasa fue similar en todas las regiones evaluadas (1 ui/g). Asimismo, la actividad xilanasas fue detectada sólo en el intestino entero y en la región anterior, pero presentó baja eficiencia (0,16 ui/g).

**Conclusiones.** En este estudio se demostró por primera vez la presencia de enzimas hidrolíticas en el intestino de *Anthonomus grandis*, de potencial utilidad para la producción de bioetanol.

### TLP-209. Produção de ligninasas por *Pleurotus ostreatus* em meio semi-sólido de bagaço de cana

Tânia Regina De Assis A.\*, Sandra Helena Da Cruz C.\*

\*Universidade de São Paulo, Brasil.

**Introdução.** A partir do processamento da cana-de-açúcar, são obtidos açúcar e álcool, e, principalmente, bagaço e vinhaça como resíduos. Estes são utilizados, respectivamente, para co-geração de energia e como fertilizante; no entanto, outros processos podem reaproveitar estes resíduos. O bagaço de cana, composto por celulose, hemicelulose e lignina, representa um excelente substrato para a produção de enzimas por fungos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade das enzimas lacase e peroxidase resultante do cultivo de *Pleurotus ostreatus* em meio semi-sólido de bagaço de cana e vinhaça.

**Materiais e métodos.** O bagaço de cana, pré-tratado com: (t1) NaOH + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (conc. Final 0,75%) (t2) NaOH (0,75%) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1%); (t3) água e o (t4) bagaço in natura, foi submetido a 120°C e 1 atm por 15 min. A seguir o bagaço foi lavado com água, até pH neutro e seco em estufa de circulação de ar. O meio de cultivo foi preparado com o bagaço pré-tratado e vinhaça na proporção de 1:5 (p/v) e foi inoculado com 2 plugs de uma cultura recém obtida de *P. ostreatus*. Após 7, 10 e 12 dias de cultivo a 29°C, foi obtido o extrato celular bruto, de onde foram analisadas as atividades de peroxidase e lacase utilizando como substrato guaiacol e siringadazina, respectivamente. O conteúdo de proteína total foi analisado utilizando o reagente de Bradford.

**Resultados.** O meio de cultivo contendo bagaço de cana e vinhaça propiciou o crescimento do fungo com produção das enzimas. Os tratamentos t1 e t2 apresentaram maior produção das enzimas que o t3 e t4, após 7 dias de cultivo. As atividades foram de até 36,9 u/l para lacase e 42,6 u/l para peroxidase.

**Conclusões.** O pré-tratamento químico do bagaço de cana propicia o cultivo do fungo *Pleurotus ostreatus* com níveis significativos de produção das enzimas lacase e peroxidase.

### TLP-210. Atividade antagônica *in vitro* de bactérias endofíticas de *Acrocomia aculeata*

Priscila Oliveira Santana S.\*, Vaneça De Almeida F.\*,  
Cintia Faria Da S.\*, Adriane De Melo R.\*,  
Polyana Cristina Dos Santos S.\*, Edson Luiz Souchie\*

\*Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano –  
Câmpus Rio Verde – Go Brasil.

**Introdução.** A macaúba (*Acrocomia aculeata*) possui expressivo valor comercial. Quase toda sua totalidade é utilizada: o palmito e a seiva; as folhas para forragem animal, cobertura de casas e extração de fibras; polpa para a indústria farmacêutica, alimentícia, de cosméticos e biodiesel. A seleção e uso de microrganismos endofíticos, benéficos à planta, traduzem-se em estratégia promissora para favorecer o controle de microrganismos

patogênicos e reduzir o custo final das mudas. Selecionar bactérias endofíticas antagonicas a fungo deteriorador de sementes de macaúba.

**Materiais e métodos.** Utilizaram-se placas com meio sólido batata dextrose agar, sendo inoculado, no centro das mesmas, o fungo deteriorador de semente de macaúba 26-p. Estas foram incubadas em estufa, na ausência de luz, a 28°C, por 48 h. Posteriormente, foram inoculados os isolados bacterianos endofíticos 127, 157, 171, 366 e 390, a uma distância de 3 cm do respectivo fungo. Os isolados bacterianos foram obtidos a partir do ambiente endofítico das raízes de a. Aculeata. Já o isolado fúngico foi obtido a partir de sementes de macaúba em germinação. O delineamento foi inteiramente casualizado com seis tratamentos (isolados bacterianos endofíticos), em triplicata. A cada dois dias de incubação, foi avaliado o comprimento do micélio fúngico, durante 15 dias. Ao final, foi feita a medição dos halos formados, os quais indicaram a capacidade de antibiose bacteriana frente ao fungo deteriorador de sementes.

**Resultados.** Dentre os cinco isolados bacterianos testados, apenas um (390) teve potencial antagonico ao fungo deteriorador de sementes de macaúba, o qual provocou a maior redução do crescimento do micélio fúngico. Entre os isolados bacterianos, não houve diferença entre os isolados 366, 157, 171, 127 e o controle, quanto à capacidade de supressão do crescimento do micélio fúngico.

**Conclusões.** O isolado bacteriano endofítico 390 possui antagonismo ao isolado fúngico 26-p deteriorador de sementes de macaúba.

### TLP-211. Cultivo de soja em argissolo utilizando lodo de estação de tratamento de esgoto

Giani Bohm\*, Leticia Bierhals\*, Sabrina Schwanz\*

\*Instituto Federal Sul-Rio-Grandense Brasil.

**Introdução.** A utilização de lodo de esgoto tratado como adubo orgânico tem sido mencionada como uma alternativa para o destino final deste resíduo. O cultivo de soja com a utilização de lodo como fonte de nutrientes se torna uma nova alternativa para a reposição da matéria orgânica e de nutrientes ao solo, e sua aplicação pode suprir suas necessidades e resultar em melhor desenvolvimento fisiológico e de produtividade de grãos. Porém surgem dúvidas quanto à possível alteração na atividade microbiana do solo e populações de fungos e bactérias. Com base no que foi apresentado, o objetivo do estudo foi determinar o carbono orgânico total (COT), o carbono da biomassa microbiana (cbm), a respiração basal e quociente metabólico do solo durante o cultivo de soja com diferentes doses de lodo.

**Materiais e métodos.** As análises de atividade microbiana foram realizadas seguindo os métodos descritos por Vance *et al.* (1987), Anderson and Domsch (1978) e modificado por Santos *et al.* (2004). O solo utilizado no experimento foi classificado como argissolo vermelho-amarelo distrófico. O lodo anaeróbio utilizado foi obtido da estação de tratamento de esgotos de pelotas, após passar pelo reator anaeróbio de leite fluidizado. O experimento foi realizado em vasos, num delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os tratamentos estudados foram: t1 – testemunha; t2 – adubação mineral + calcário; t3 – 50 g vaso-1 lodo + calcário; t4 – 100 g vaso-1 lodo + calcário; t5 – 200 g vaso-1 lodo + calcário.

**Resultados.** O resultado da relação cbm/cot indica que não houve efeito negativo do lodo sobre populações de microrganismos do solo. As maiores doses de lodo de esgoto proporcionaram maior atividade microbiana do solo e resultaram em maiores teores de carbono orgânico total, respiração basal e quociente metabólico do solo.

**Conclusões.** A aplicação de lodo resultou em impacto positivo para a qualidade do solo durante o cultivo de soja.

### TLP-212. Aplicación de las buenas prácticas de laboratorio en el control de la calidad bacteriológica de los roedores criados en condiciones controladas

Zenilda Zamora B.\*

\*Cenpalab Cuba.

**Introducción.** En la actualidad las investigaciones con roedores de laboratorio ha ido en aumento; y con ellos la lista de agentes infecciosos reconocidos como patógenos para la especie. Para los roedores de laboratorio constituye un requisito ser libres a las entidades que afectan su condición de libres de gérmenes patógenos específicos (SPF) dado su uso en las investigaciones. Es por ello que se hace necesario mantener

un estricto control sobre las producciones de animales y aquellos puntos críticos del proceso de producción que interfieren en su calidad. El objetivo del trabajo es mostrar los resultados de los controles bacteriológicos realizados a la producción de roedores SPF durante el año 2011

**Materiales y métodos.** Se realizó monitoreo de salud a 480 roedores (360 ratones y 120 ratas) libres de gérmenes patógenos específicos (SPF) y controles microbiológicos a los puntos críticos del proceso de producción: controles microbiológicos del agua y pruebas mixtas (1072 muestras), controles de autoclaves (4000), evaluación de desinfectantes (10) y exudados faríngeos al personal (120 muestras), todos descritos en el manual de procedimientos operacionales de trabajo (pot) del laboratorio de bacteriología del cenpalab, todos los resultados fueron comparados con las especificaciones de calidad del producto y/o ensayo.

**Resultados.** Los resultados mostraron que los roedores, cumplen con los requisitos bacteriológicos para la especie, no aislándose ninguna de las bacterias que afectan la categoría de animal SPF; los controles a los puntos críticos de la producción muestran que estos cumplen con sus especificaciones de calidad.

**Conclusiones.** La aplicación de las buenas prácticas de laboratorio en el control de la calidad bacteriológica de ratones SPF, se contribuye a la certificación de la calidad de esta especie obtenida en el cenpalab, las cuales cumplen con lo exigido por las regulaciones nacionales e internacionales, para el uso de esta especie con fines experimentales.

### TLP-213. Investigação da presença de bactérias do gênero *Vibrio* em camarões e mexilhões comercializados in natura em uma cidade do Rio de Janeiro, Brasil

Michele GC Guimarães\*, Lais RI Dos Santos M.\*, Rogerio Carlos Novais\*

\*Universidade do Estado do Rio De Janeiro Brasil.

**Introdução.** Bactérias do gênero *Vibrio* fazem parte da microbiota de camarões e mexilhões e o gênero possui pelo menos 12 espécies patogênicas, incluindo *V. cholerae*, responsável por várias pandemias de cólera. A contaminação acontece através do consumo de alimentos crus ou mal cozidos. Por se tratar de um tipo de pescado amplamente consumido pela população, este trabalho tem como objetivo investigar a presença de 4 espécies de *Vibrio* em camarões e mexilhões comercializados in natura na cidade de São Gonçalo, Rio de Janeiro.

**Materiais e métodos.** Vinte e cinco gramas de camarão/mexilhão adquiridos de pescadores, foram pesados assepticamente, adicionados a 225 mL de meio APA, e incubados a 37°C por 24 h. Uma alíquota de 100 µl foi inoculada em 10 mL de meio BHI e incubada a 37°C por 24 h. Alçadas desta cultura foram utilizadas para inocular o meio seletivo TCBS. As colônias foram então isoladas em agar nutriente e testadas para a enzima citricomo-oxidase, cuja presença caracteriza a família *Vibrionaceae*. As colônias oxidase positivas foram testadas para a sensibilidade ao agente vibriostático o/129. Visando confirmar a identidade das espécies de *Vibrio* (*V. cholerae*, *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*) as amostras foram submetidas ao PCR multiplex (Tarr *et al.*, 2006) e à ribotipagem por PCR.

**Resultados.** Cento e quatro isolados testaram positivamente para os provas bioquímicas realizadas. Em 15 isolados foi amplificado um fragmento de 897 pb, que indica a presença de *V. parahaemolyticus* e em 6, foi amplificado um fragmento de 248 pb, que corresponde a *V. cholerae*. Em 45 isolados foi amplificado apenas um fragmento de 663 pb, característico do gênero *Vibrio*, o que sugere tratar-se de outras espécies de *Vibrio* não investigadas neste trabalho.

**Conclusões.** Os isolados de *V. cholerae* e *V. parahaemolyticus* serão agora investigados para a presença dos principais genes de virulência e terão seus perfis de resistência a antimicrobianos investigados.

### TLP-214. Suscetibilidade de *Spodoptera frugiperda* e *Anticarsia gemmatilis* à proteína CRY2AA de *Bacillus thuringiensis* T01-326

Camila Soares F.\*, Isis Sebastião\*, Ana Rita Nunes L.\*, Janete Aparecida D.\*

\*Universidade. Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Brasil.

**Introdução.** Os microrganismos entomopatogênicos são importantes alternativas no controle biológico, devido à síntese de compostos, não

agresivos ao meio ambiente, e com atividade tóxica a insetos pragas. A bactéria *Bacillus thuringiensis* destaca-se neste contexto, sendo caracterizada pela expressão de cristais proteicos, as proteínas cry, durante a fase de esporulação. Estudos de toxicidade destas proteínas são importantes por apontarem novas possibilidades para o controle de pragas e manejo da resistência dos insetos às mesmas. O presente trabalho teve como objetivo verificar a toxicidade da protoxina CRY2AA de *B. thuringiensis* t01-326 para lagartas neonatas de *S. frugiperda* e *A. gemmatalis*.

**Materiais e métodos.** Para tanto, o gene CRY2AA foi amplificado a partir do DNA genômico extraído de *B. thuringiensis* t01326. O produto de amplificação foi clonado no vetor de expressão pet sumo e o conjunto inserido em células de expressão *Escherichia coli* BL21 (DE3). Em seguida, clones positivos foram utilizados para a expressão por meio da indução com IPTG. Após a extração, determinou-se a concentração da proteína CRY2AA, por densitometria em gel de SDS-page a 12%. O lisado proteico foi utilizado em bioensaios a uma concentração de 500 ng. CM-2 contra as lagartas neonatas de ambas as espécies. Os ensaios foram realizados com 64 lagartas divididas em quatro repetições e avaliados após 7 dias de exposição da lagarta à dieta artificial contendo a proteína CRY2AA. As médias foram submetidas ao Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Resultados.** Nos ensaios de toxicidade com a proteína CRY2AA, observou-se mortalidade de 100% das lagartas de *A. gemmatalis*. No entanto, para as lagartas de *S. frugiperda* não houve atividade inseticida na concentração testada.

**Conclusões.** Sendo assim, a proteína CRY2AA tem potencial para o controle de lagartas de *A. gemmatalis* por meio da formulação de bioinseticidas ou na produção de plantas transgênicas.

### TLP-215. Biosynthesis and characterization of short-chain-length polyhydroxyalkanoates produced by *Burkholderia xenovorans* lb400

Viviana Urtuvia\*, Pamela Villegas\*,  
Myriam Gonzalez\*, Michael Seeger\*

\*Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química, Centro de Biotecnología & Center For Nanotechnology and Systems Biology, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile.

**Introduction.** The highly versatile petroleum-based plastics have made them valuable materials for modern life with a wide range of applications. Searching for novel biodegradable polymers that possess similar physicochemical properties as conventional plastics is of increasing interest. Polyhydroxyalkanoates (PHAs) are biodegradable plastics synthesized by diverse bacteria from a range of substrates. *Burkholderia xenovorans* lb400 is an aerobic model bacterium to study the degradation of a wide range of aromatic compounds. Strain lb400 possesses the genes for the biosynthesis of pHas. The aim of this study was to analyse the biosynthesis of short-chain-length pHas (pHas-cl) by *B. xenovorans* lb400. To study the PHA synthesis by strain lb400, in a first approach staining of colonies with sudan black b dye was analysed. Lb400 colonies grown on mannitol showed intracellular accumulation of PHAscl. Strain lb400 is able to synthesize poly-3-hydroxybutyrate (PHB) and poly-3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate (PHBV). Strain lb400 produces pHB during culture using mannitol and glucose as carbon source and PHBV during culture using mixture mannitol:valerate and glucose:valerate.

**Materials and methods.** The PHAscl polymers produced by strain lb400 were characterized by gas chromatography with flame ionization detector (GC-FID), differential scanning calorimetry (DSC) and thermogravimetric analysis (TGA). The kinetic parameters and conditions of batch culture were determined for PHAscl production

**Results.** *B. xenovorans* lb400 showed a tendency to accumulate elevated amounts of the 3hb monomer (100 mol%) with a 45% accumulation of PHB. During culture on two carbon sources, 3hb and 3hv monomers (72 and 28 mol%) with a 48% accumulation of pHBv were observed.

**Conclusions.** This study showed that *B. xenovorans* lb400 is an attractive bacterium for producing pHascl under nutrient limitation. Acknowledgments: PhD conicyt, mecesup cdfsm1204 and cyted pribop fellowships (vu) and fondecyt 1110992 (ms), usm131109&131342 (ms,mg), pie>a (pv,vu), cn&sb (ms) and cyted pribop (ms) grants.

### TLP-216. Diversidad de bacterias, hongos y actinomicetos en suelos bajo diferentes usos en el Páramo de la Cortadera, Boyacá, Colombia

David Ricardo Hernández V.\*, Luz Marina Lizarazo F.\*

\*Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.

**Introducción.** Los páramos se consideran como una unidad ecológica reguladora de los flujos de agua; no obstante, estos ecosistemas están sufriendo irreparables transformaciones por la expansión humana y sus actividades, tales como la agricultura, ganadería y en algunos casos la minería. El tipo de uso de suelo se considera un factor que controla directa o indirectamente la estructura de las comunidades de microorganismos, cuya actividad es fundamental para el mantenimiento de los ciclos biogeoquímicos que allí se presentan. Objetivo. Con este estudio se pretende evaluar la diversidad de microorganismos (bacterias, hongos y actinomicetos) del suelo presentes en el páramo de la cortadera bajo diferentes usos antrópicos.

**Materiales y métodos.** Se realizó un total de 13 calicatas de 1 m<sup>3</sup> en zonas de cultivos, pastoreo y con vegetación nativa de páramo, tomando muestras de suelos a lo largo de la calicata. Para analizar la diversidad de los microorganismos presentes, se está llevando a cabo el método de recuento en placa realizando diluciones seriadas, sembrando por duplicado en cajas de petri con distintos medios para bacterias (heterótrofas y oligotróficas), actinomicetos y hongos. Las colonias formadas son descritas macroscópica y microscópicamente identificadas hasta genero de acuerdo a pruebas bioquímicas y son expresadas en UFC/g.

**Resultados.** Se han aislado bacterias del género *Bacillus*, y hongos filamentosos de los géneros *Penicillium*, *Chrysosporium*, *Scopulariopsis*, *Paecilomyces* y *Cladosporium*.

**Conclusiones:** la mayor causa de variación en la diversidad de microorganismos (bacterias, actinomicetos y hongos) en los sitios de muestreo, se atribuye a la diferencia de condiciones medio ambientales, vegetación y tipo de suelo.

### TLP-217. Identificación de actinomicetos en la Basílica Colegiata de Ntra. Señora de Guanajuato México

Brisca Zamarripa P.\*, Veridiana Reyes\*, Aurelio Alvarez V.\*,  
Carmen Cano C.\*, Carlos Angeles Chávez\*, Jorge Cervantes\*

\*Depto. de Química, Universidad De Guanajuato México.

**Introducción.** Las tobas volcánicas o ignimbritas (piedras síliceas), se han utilizado en la construcción de muchos monumentos alrededor del mundo, sin embargo, el estudio de su biodeterioro no ha sido tan amplio como el de las piedras calizas, debido a que gran parte del patrimonio arquitectónico mundial está construido con estas últimas. De las comunidades microbianas que afectan a los monumentos, los actinomicetos son especialmente interesantes debido a la versatilidad de sus actividades metabólicas: pueden mineralizar materia orgánica que hongos y bacterias no usan, quelar iones metálicos, hidrolizar minerales síliceos, contribuir a la formación de pátinas oscuras, provocar daños mecánicos a través de sus "hifas" y sobrevivir a los procedimientos de conservación formando pseudoesporas. Objetivo: identificar por microbiología clásica y biología molecular actinomicetos aislados de ignimbrita de la Basílica Colegiata de Ntra. de Guanajuato (México), antes y después de su restauración.

**Materiales y métodos.** De las muestras superficiales obtenidas, en 2005 y 2010, se aislaron 30 cepas diferentes. Estos cultivos se observaron al microscopio óptico previamente teñidos por tinción de gram. Una porción (953 pb) de cada gen 16s ARNr de los aislados se amplificó con los primers midex-d y midex-r (diseñados en nuestro laboratorio) mediante el uso de ADN genómico a partir de cada aislado como plantilla. La alineación e identificación de las secuencias se realizó en la base de datos blast.

**Resultados.** Se aislaron e identificaron 22 cepas de actinomicetos morfológicamente diferentes.

**Conclusiones.** Se aislaron cepas de actinomicetos en las muestras obtenidas después de la limpieza de la zona de muestreo, excepto en el punto donde cinco años antes se tuvo el mayor número de especies, dicho punto presentaba menos daños físicos que los otros. El género que prevaleció después de la limpieza fue: *Streptomyces*. Cuatro géneros agrupan las cepas identificadas: *Streptomyces*, *Actinoplanes*, *Micrococcineae* y *Geodermatopilaceae*.

### TLP-218. Quantification of bacteria and archaea in rhizosphere of wild and modern common bean

Josiane Barros C.\*, Stalin Sarango F.\*, Emiliana Manesco R.\*,  
Maíke Rossman\*, Rodrigo Mendes\*

\*Universidade Estadual de São Paulo, Brasil.

**Introduction.** Rhizosphere microbiome has received ample attention in research considering that distinct crops harbor a rich and diverse rhizobacterial community. Recently was postulated that due to genetically improved plants may have lost their ability to recruit beneficial bacteria. In this context, the comparison of wild and modern materials is key to understand the selection of microbes in the rhizosphere by the host plant. In this study we aimed to quantify bacterial and archaeal 16s rRNA gene by using QPCR and compare their abundance in bulk soil and rhizosphere of wild plants and modern cultivars of common bean.

**Materials and methods.** The experiment was performed using two cultivars, i.e midas and iac-alvorada and two wild plants, i.e. g12873 and wild mex. Plants were grown in greenhouse conditions considering four replicates and sampled during the flowering stage. Total DNA was extracted and bacteria and archaea 16s rRNA gene was quantified using QPCR.

**Results.** In two independent experiments the amount of bacteria or archaea in the rhizosphere ranged from 2- to 8 fold when compared with bulk soil. No significative difference in abundance was observed when g12873 (wild) and midas (cultivar) were compared. However, in the second experiment, which included wild mex and iac alvorada, the wild plant was able to harbor higher abundance of bacteria ( $p=0,0001$ ) when compared with the modern cultivar iac alvorada. Interestingly, the abundance of archaea was higher ( $p=0,0019$ ) in the midas rhizosphere when compared with the wild plant g12873.

**Conclusions.** The plant is able to attract and enrich bacteria and archaea in the rhizosphere when compared with bulk soil. The results obtained from iac alvorada and wild mex experiment, suggests that ancestral materials communicated with microbes resulting in a higher quantity of bacteria in its rhizosphere than improved cultivars.

### TLP-219. Isolamento de cepas de *Staphylococcus fleuretti* e *Staphylococcus succinus* em tomates após irradiação gama

Maria Cláudia Valério V.\*, Carlos Eduardo De Oliveira C.\*,  
Evelynne Gomes S.\*, Laís De Souza P.\*, Igor Felipe Andrade C.\*,  
Glêzia Renata Da S.\*, Rosilma De Oliveira A.\*, Kêssia Xisto  
da Fonseca R.\*, Waldecir Colaço\*

\*Universidade Federal de Pernambuco Brasil.

**Introdução.** O tomate é um dos frutos mais consumidos no mundo. Bactérias da família Micrococcaceae são responsáveis pelos grandes surtos de gastroenterites em humanos. A irradiação consiste num método físico que reduz as perdas eliminando organismos deteriorantes de alimentos. O objetivo deste trabalho foi identificar e determinar o perfil de resistência de bactérias da família Micrococcaceae a partir de tomates irradiados.

**Materiais e métodos.** Foram utilizados três lotes contendo 80 tomates cada um, divididos em controle e irradiados. As amostras foram embaladas individualmente em papel filme esterilizado e devidamente identificadas quanto à dose de irradiação aplicada. O material foi submetido à irradiação com raios gama, em irradiador com fonte de cobalto-60, utilizando as doses: 1,0; 1,5 e 2 kgy. Para a análise microbiológica os tomates foram cortados, sendo retiradas as cascas a fim de obter amostras pesando 25g. Cada amostra foi transferida a um erlenmeyer contendo água esterilizada, agitando-se o conjunto mecanicamente. Alíquotas das águas de lavagem foram semeadas por esgotamento nos meios seletivos e diferenciais. Após reisolamento, as colônias foram submetidas ao método de coloração de gram, em seguida realizados os testes bioquímicos para identificação clássica. As provas de susceptibilidade a antibióticos foram realizadas segundo o CLSI.

**Resultados.** Foram isoladas quatro cepas de *Staphylococcus succinus* e uma cepa de *S. fleuretti* nas amostras de tomate irradiados com a dose de 1,0 kgy, não havendo presença de isolados nos tomates submetidos a demais doses. Quanto ao perfil de resistência, das linhagens de *S. succinus* identificadas, três foram sensíveis a todos os antibióticos testados e uma apresentou resistência à penicilina. A cepa de *S. fleuretti* isolada após a irradiação apresentou resistência à penicilina e oxacilina.

**Conclusões.** Irradiação gama na dose de 1,5 e 2 kgy em tomates foi efi-

ciente como também os micro-organismos isolado após irradiação não apresentaram perfil de multirresistência.

### TLP-220. Bacterias con alta actividad ACC-deaminasa promueven el crecimiento de trigo ante condiciones de estrés salino mejor que bacterias con baja actividad

Patricio Barra\*, Nitzia Inostroza\*, Milko Jarquera\*

\*Universidad de La Frontera Chile.

**Introducción.** Plantas estresadas sintetizan altos niveles de etileno a partir de su precursor el 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC). Etileno es muy importante para el desarrollo de la planta, pero su aumento desencadena una merma de su crecimiento. Algunas bacterias endófitas y rizosféricas producen la enzima ACC-deaminasa, que degrada el ACC, y consecuentemente disminuye la cantidad de etileno, favoreciendo el crecimiento de la planta. Bacterias con actividad ACC-deaminasa de 20 nmol akb mg proteína<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, serían suficientes para promover el crecimiento. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la inoculación de consorcios bacterianos endofíticos y rizosféricos con altas y bajas producción de ACC-deaminasa sobre el crecimiento de plántulas de trigo sometidas a condiciones de estrés salino.

**Materiales y métodos.** Cuatro consorcios bacterianos fueron formulados (tres cepas cada uno), dos de ellos con bacterias endofíticas con alta y baja actividad ACC-deaminasa; y los otros dos con bacterias rizosféricas con alta y baja actividad ACC deaminasa, respectivamente. Los consorcios fueron inoculados en semillas de trigo, las cuales fueron irrigadas por un mes con agua destilada (control) y soluciones salinas de 250 mm y 450 mm, respectivamente. Crecimiento y peso seco, de la parte aérea y de la raíz de trigo fueron determinados.

**Resultados.** Plantas inoculadas con bacterias endofíticas con alta actividad ACC-deaminasa (consorcio 1) presentaron mejores resultados. El consorcio 1 incrementó significativamente ( $p < 0.05$ ) la longitud aérea de la planta en 31,8% y la raíz en 29,5%, a 450 mm de NaCl. Mientras, que el peso seco aéreo, a 250 y 450 mm de NaCl, fue incrementado en un 43,8% y 32,5%, respectivamente; y el peso seco de la raíz a 250 mm fue incrementado 38,8%

**Conclusiones.** Bacterias endofíticas con actividad ACC-deaminasa alta, mitigan mejor los efectos del estrés salino en trigo que bacterias con baja actividad ACC-deaminasa y que bacterias rizosféricas.

### TLP-221. Isolation of actinobacteria from cerrado soil and primary screening of production of L-asparaginase and L-glutaminase enzymes.

Petain Jose Ferreira N.\*, Bruno Francesco Rodrigues De O.\*,  
Renan de Souza S.\*, Ariana Alves R.\*, Lia Costa Pinto W.\*,  
Thaís Maitan V.\*, Igor Daniel Alves\*, José Daniel Gonçalves V.\*

\*Universidade Federal de Goiás, Brasil.

**Introduction.** The most common cause of natural death among young people under 25 years is cancer. Within this age group the most common types of cancer are the acute leukemias. The most widely used drug treatments for acute lymphoblastic leukemia are based on the use of L-asparaginase and L-glutaminase enzymes. The search for new organisms producing these enzymes is important for cost reduction and improved quality of life for people who depend on these drugs. Objectives: the aim of this study was to isolate and test rare microorganisms that produce L-glutaminase and L-asparaginase enzymes.

**Materials and methods.** Isolation of microorganisms was carried out according to the methodology described by Palleroni (1980). The isolates were tested in a specific medium for the activity of each of these enzymes. The medium contained an indicator for the determination of ammonium production by the metabolism of the amino acids tested (L-glutamine and L-asparagine). The ratio between the size of the rosy halo (by the production of ammonia) by the size of the colony after five days of growth at 30°C formed the enzyme index (ei). This was used to determine the best isolates.

**Results.** The best results of L-asparaginase activity were demonstrated by isolate a.1 with an enzymatic index of 4.1. For the enzyme L-glutaminase, isolate a.16 showed the best enzymatic index (2,3).

**Conclusions.** These preliminary results of preclinical testing suggest that the isolate a.1 has a good applicability in the industrial scale production

of L-asparaginase enzyme. The characterization of production parameters and kinetics of the enzyme L-asparaginase suggests that it has biotechnological potential.

### TLP-222. Isolation and screening of ureolytic activity from cerrado soil bacteria from Goiás

Lia Costa Pinto W.\*, José Daniel Gonçalves V.\*

\*Universidade Federal de Goiás Brasil.

**Introducción.** Precipitation of calcium carbonate by soil bacteria is a common phenomenon and in a great part carried out through urea degradation. This phenomenon, also called biocementation, has possible applications on the construction field and on bioremediation processes, making its study of great importance. The aim of this work was to isolate cerrado soil bacteria from Goiás with ureolytic activity.

**Materiais e métodos.** Soil samples were collected in three different places of the cerrado from Goiás. For bacterial isolation, the medium christensen urea agar was used, and the ureolytic activity was measured through the color change of the medium, going from orange to pink. Gram staining was performed to verify the bacterial morphology and the koh test (RYU) was done to confirm the gram staining.

**Resultados.** Four bacterial isolates with ureolytic activity were obtained, all of them being Gram-positive rods. Of the four isolates, three presented high ureolytic activity, while one showed low ureolytic activity.

**Conclusões.** Observing the colony morphology of one of the isolates, one can say that it belongs to the genus bacillus. Nevertheless, it is necessary to carry out biochemical and molecular tests for the precise identification of these isolates, as well as posterior studies to test their efficacy on precipitating calcium carbonate.

### TLP-223. Microalgas, protozoos y bacterias en la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) de la destilería Manuelita S.A

Sandra Milena Rodríguez P.\*, Iglees Paola Parra A.\*, Anyela Vanessa Velasquez E.\*, Ximena Paola Rodríguez P.\*

\*Universidad Popular del Cesar Colombia.

**Introducción.** La capacidad de las microalgas, bacterias y protozoos en el tratamiento de las aguas residuales, puede ser aprovechada para obtener efluentes transparentes y de mejor calidad. Evaluar la eficiencia de la diversidad microbiota presente en la planta de tratamiento de aguas residuales de la destilería Manuelita S.A.; en relación con los parámetros microbiológicos y físico químicos.

**Materiales y métodos.** Se realizaron tres muestreos por mes, durante tres meses, determinando la (demanda química de oxígeno) DQO, pH, nitrógeno total (nt), fósforo, sólidos suspendidos totales y sólidos sedimentables. Así mismo un análisis cualitativo y cuantitativo realizando la observación microscópica en cámara de neubauer (microalgas y protozoos), y en bacterias la tinción diferencial, como la de gram e identificación bioquímica con el método automatizado Microscan-Autoscan-4.

**Resultados.** Se identificaron 37 géneros de microorganismos entre estos están: 13 microalgas subdivididas en: 8 clorophytas, 3 cyanophytas y 1 diatomea; también, 2 rotíferos y 10 protozoos. En la laguna de igualación y la laguna de aireación con 4,77x10<sup>8</sup> ufc/mL y 2,86x10<sup>8</sup> ufc/mL de bacterias predominaron durante los tres meses de muestreo, asimismo se encontró un promedio de 6,40 x10<sup>6</sup> cel/mL de microalgas y 3,98x10<sup>6</sup> ind/mL del grupo de los protozoos. En el clarificador secundario, disminuyeron todos los grupos microbianos; aunque las bacterias fueron las que predominaron, seguido de los protozoos y finalmente las microalgas, los valores en forma descendente para cada grupo fueron 7,31x10<sup>7</sup> ufc/mL >2,67x10<sup>6</sup> ind/mL >2,02x10<sup>6</sup> cel/mL respectivamente. Los resultados mostraron que la dco, sólidos, nt y fósforo, disminuyeron en las etapas del tratamiento, los valores de pH no fueron significativos para cada laguna durante los tres meses.

**Conclusiones.** Los resultados indicaron que el tratamiento de aguas residuales por los microorganismos en esta planta fue eficiente; por lo tanto el agua residual se puede utilizar para riego.

### TLP-224. Caracterización de las comunidades bacterianas asociadas a la filósfera de *Deschampsia antarctica*

Fernanda Cid Alda\*

\*Universidad de La Frontera Chile.

**Introducción.** La superficie aérea de plantas, conocida como filósfera, es un ambiente poco estudiado, sobre todo en plantas extremófilas de ambientes antárticos. Objetivo: caracterizar las comunidades bacterianas asociadas a la filósfera de *Deschampsia antarctica*.

**Materiales y métodos.** Suspensiones de 1 gr de hoja de 8 plantas de las Islas Shetland del Sur, Antártica (Chile), fueron sembradas en medios de cultivo oligotrofos. Bacterias fueron contadas, aislados, y fenotipos similares fueron diferenciados genotípicamente mediante ERIC-PCR (enterobacterial repetitive intergenic consensus-polymerase chain reaction). Por otro lado, el ADN de las suspensiones fue extraído para analizar la estructura de las comunidades bacterianas de mediante electroforesis en geles con gradiente de desnaturalización (DGGE; gen 16s ARNr). Los geles de DGGE fueron analizados con el software phoretix 1d y la similitud/diferencias de las comunidades fue visualizada por escalamiento multidimensional no métrico (nmms). Adicionalmente, las bandas más representativas del gel de DGGE fueron cortadas, re-amplificadas y secuenciadas.

**Resultados.** La carga bacteriana rangeó entre 2-12x10<sup>5</sup> CFU g<sup>-1</sup> de hoja, observándose diferencias significativas (p<0.05) entre las plantas muestreadas. La genotipificación permitió observar que el 82-92% de los aislados obtenidos fueron genotípicamente diferentes, incluso en grupo de aislados fenotípicamente similares. El análisis de DGGE agrupó las comunidades bacterianas de plantas colectadas en el mismo sitio, sin embargo plantas colectadas en un mismo sitio, también presentaron comunidades significativamente diferentes. Por otra parte la secuenciación de las bandas representativas coincidieron con *Pseudomonas* sp., *Psychrobacter* sp. y *Agrobacterium* sp.

**Conclusiones.** La filósfera de *D. antarctica* mostraron cargas de 2-12x10<sup>5</sup> CFU g<sup>-1</sup> de hoja, con aislados en su mayoría genotípicamente diferentes. Además, este estudio evidenció que la estructura de las comunidades bacterianas presente en plantas de *D. antarctica* es variable inclusive en sitios de muestreo cercanos. Agradecimientos: beca de doctorado (inach, dt\_01-13; conicyt, 21140534). Proyecto inach (rt\_14-12) y proyecto cooperación Chile-EE.UU.(USA2013-010).

### TLP-225. Estudo da potabilidade da água de comunidades rurais e indígenas do entorno do lago da hidrelétrica de Tucuruí

Wagner Roberto Santos Dos S.\*, Maria Tayane Silva P.\*, Maria Adezi De Moura C.\*, João Elias Videira F.\*

\*Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará Brasil.

**Introdução.** A água é um bem essencial para a existência da vida em nosso planeta. Ela, apesar da enorme quantidade disponível, tornou-se muito preciosa, pois apenas uma água de boa qualidade nos ajudará a manter uma vida saudável. O projeto "estudo da potabilidade da água de comunidades rurais e indígenas do entorno do lago da hidrelétrica de Tucuruí" tem como finalidade realizar uma avaliação da qualidade da água utilizada para consumo humano, bem como conhecer as possíveis fontes de poluição que possam estar acontecendo na comunidade de Santa Luzia, localizada na zona rural do município de Breu Branco, em torno do grande lago criado com a construção da usina hidrelétrica de Tucuruí.

**Materiais e métodos.** Utilizou-se kits de colitests (teste par detecção de coliformes totais e *E. coli*) para analisar amostras de água da comunidade de Santa Luzia no município de Breu Branco no Pará, essas amostras foram mantidas em refrigeração até a chegada no laboratório, onde foram colocadas na incubadora a 37°C por 24 h. O teste dá positivo quando há alteração de cor púrpura para amarelo. Nesses casos, foi feita a prova de fluorescência.

**Resultados.** Os resultados revelaram que os igarapés em estudo, estão contaminados por coliformes totais e *Escherichia coli*. Portanto, essas águas estão fora dos padrões de potabilidade para o consumo humano, de acordo com a legislação vigente (resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do conama). Caracterizando um fator de risco para a saúde daqueles que a utilizam. As causas dessa contaminação se dá pela presença de animais próximos aos igarapés, assim como a construção de fossas sépticas próxima dos igarapés.

**Conclusões.** Conclui-se que são necessárias medidas preventivas para contornar o problema da contaminação. O uso dos igarapés precisa ser feito de forma a preservar mais o meio ambiente, evitando assim a proliferação de doenças veiculadas pela água.

### TLP-226. Monitoring of the microbiota in the cooling tower system of a petroleum refinery supplied with tertiary-treated industrial wastewater as makeup water

Vera Lúcia Dos Santos S.\*, Andrea Lima Alves A.\*, Al, Marcus Vinícius Dias-Souza\*, Rafael Silva Mendonça M., Andréa Azevedo V.\*, Sérgio Pagnin Pagnin, S, Vânia M. J. Santiag.

\*Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.

**Introduction.** The objective of this study was to monitor planktonic and sessile biological growth on two industrial scale cooling tower systems of the petroleum refinery operating with chlorinated tertiary effluent (ctrw) or clarified and chlorinated freshwater (ctcw) as makeup water, in order to evaluate the effectiveness of the microbiological control strategy used in the refinery and the viability of using treated tertiary industrial wastewater as makeup water.

**Materials and methods.** Biofilm monitoring were conducted by removal at intervals of 7 days (may 2013-april 2014) of three glass slides, that were coupled into coupon holders and immersed in cooling towers basins (ctrw and ctcw). At each evaluation, glass slides were dip-rinsed in sterile saline and subjected to ultrasonic bath (3 cycles/ 2 minutes, 40khz) for biofilm removal. The suspensions were serially diluted and inoculated in pca (oxid) for the quantification of total aerobic heterotrophic bacteria (hpc). Samples of water from the water basins also were examined.

**Results.** In the ctrw, the density of hpc adhered to glass slides ranged from 0 to 3.7x10<sup>6</sup> CFUcm<sup>-2</sup>, with 6 points higher than 10<sup>5</sup> CFUcm<sup>-2</sup>, which is considered low biofilm amount and without risk for the tower. In the ctcw, the values ranged from 2 to 2.53x10<sup>6</sup> CFUcm<sup>-2</sup>, with 2 points higher than 10<sup>5</sup> CFUcm<sup>-2</sup>. In general, the higher density of planktonic hpc was observed for the ctrw, which values ranged from 0 to 1.37x10<sup>6</sup> CFUml<sup>-1</sup> (6 points higher than 10<sup>4</sup>), while in the ctcw, the values ranged from 2 to 7.48x10<sup>3</sup> CFUml<sup>-1</sup>, with all points below 10<sup>4</sup> - control criteria used by water treatment companies.

**Conclusions.** These data indicate that, in general, the strategies of the water treatment station (free chlorine) and industrial wastewater treatment station followed reverse electro dialysis system (free chlorine plus chloramine) were effective for the microbiological control of the two makeup water sources.

### TLP-227. Avaliação da detecção de patógenos alimentares brasileiros em diversas matrizes alimentares pelo equipamento molecular detection system (MDS) da 3M™

Susana De Oliveira E.\*, Adriana Tassinari\*, Eduardo Tondo\*

\*Universidade Federal do Rio Grande do Sul Brasil.

**Introdução.** O número de casos de doenças transmitidas por alimentos é elevado em todo mundo, e a detecção dos microrganismos causadores dessas doenças é importante para prevenir novos surtos. Métodos de identificação de microrganismos têm sido muito utilizados no controle da qualidade de alimentos e no monitoramento dos ambientes de produção, contudo tais métodos geralmente são demorados e laboriosos. O equipamento mds (molecular detection system) da 3M™ é capaz de detectar rapidamente *Salmonella* sp., *Escherichia coli* O157 e *Listeria* sp. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar a detecção de patógenos alimentares em diversos alimentos pelo mds.

**Materiais e métodos.** Amostras de carnes, aves, pescado, lácteos, frutas, vegetais, água, rações, chocolate e produtos de panificação foram contaminadas artificialmente segundo o esquema: controle negativo; contaminação artificial com microrganismo a ser detectado (1-10 CFU/25g ou mL); contaminação artificial com microrganismos interferentes (10-100 CFU/25g ou mL); contaminação artificial com microrganismo a ser detectado mais interferentes nas concentrações citadas anteriormente. No ensaio de detecção de salmonella utilizou-se cepa *S. enteritidis* se86 (principal causador de surtos alimentares no sul do Brasil), para *E. coli* O157:h7, usou-se cepa isolada de carcaça bovina e para *Listeria* utilizou-se cepa, isolada da indústria alimentícia.

**Resultados.** Foram examinadas 90 amostras, totalizando 720 testes individuais em duplicata. Desses testes 93,75% apresentaram resultados esperados. No ensaio para detecção de salmonella, a sensibilidade foi de 95%, a especificidade de 97% e a acurácia de 96%; para *E. coli* O157:h7 a sensibilidade foi de 90%, a especificidade de 95% e a acurácia de 91% e para *Listeria* sp. Foi 99%, 90% e 93%, respectivamente.

**Conclusões.** Assim o mds demonstrou um bom desempenho na detecção de patógenos alimentares isolados no Brasil e inoculados em alimentos. Essas análises também sugerem que esse equipamento pode ser utilizado tanto em testes de screening como em testes confirmatórios para os patógenos testados.

### TLP-228. Characterization of WCB cluster of glycosyltransferase associated to the synthesis of antimicrobial compounds by *Burkholderia seminalis* strain tc3.4.2r3

Priscila Jane Romano De O.\*, Emy Tiyo Mano\*, Aline Aparecida Camargo Das N.\*, Ana Olívia Souza\*, Wellington Luiz De Araújo\*

\*Universidade de São Paulo, Brasil.

**Introduction.** *Burkholderia* produce compounds with antimicrobial activity that could replace chemical pesticides. Genes of *Burkholderia seminalis* strain tc3.4.2r3 associated to the synthesis of antimicrobial compounds were previously identified by analyzing a mutant library, among these genes, we identified a gene that encode a glycosyltransferase (WCBE) which is described in stage of modification of secondary metabolites with antimicrobial activity. This project aims to understand the role of glycosyltransferase gene contained in cluster wcb in inhibiting pathogens by *B. seminalis* tc3.4.2r3 strain.

**Materials and methods.** The mutants with glycosyltransferase inactivated by tn5 (m3, m4 and m7) were studied. Comparison of the WCB cluster region with other species of burkholderia genus was performed by MLST analysis. These mutants were evaluated for the metabolic profile compared to the wild type strain by pairing tests, metabolites extraction with solvents and HPLC.

**Results.** MLST analysis showed that there were unique genes for this isolated, such as a gene encoding a hypothetical protein and epimerase gene. WCB gene is very conserved in the group and has a pks domain, suggesting that this cluster may be associated not only with the synthesis of a capsule, but also with the synthesis of secondary metabolites. Pairing test conducted for mutants m3, m4 and m7 and the wild strain of *Burkholderia* against phytopathogenic fungi revealed all mutants lost their ability to inhibit pathogens compared to the wild type. In the antagonism test with extracts of 24, 48 and 120 h against both mutants and wt inhibited certain fungi, suggesting that different molecules are extracted in the process. Extracts from 48 h of butanol, which had biological activity when compared to the 120 h for the same solvent, which had no activity, presented many unique peaks in HPLC.

**Conclusions.** Despite wcb being located in capsule cluster, it is probably involved in the antimicrobial production.

### TLP-229. Respiração basal do solo sob diferentes sistemas de uso do solo

Bárbara De Motta S.\*, Heiriane Martins S.\*, Amanda Ribeiro C.\*, Suzana Da Silva O.\*, Andréia De Oliveira V.\*, Daniela Tiago Da S.\*

\*Universidade Federal do Mato Grosso-Ufmg Brasil.

**Introdução.** A respiração basal (RB) do solo compreende a respiração dos micro-organismos sem adição de substratos orgânicos. Sua análise é realizada pela emissão de CO<sub>2</sub>, que representa a oxidação da matéria orgânica pelos micro-organismos de metabolismo aeróbico, e indica a atividade metabólica e o estágio fisiológico da célula microbiana, que é influenciada por diversos fatores no solo. O objetivo deste trabalho foi mensurar a quantidade de CO<sub>2</sub> contido na biomassa microbiana e expressar a sua qualidade.

**Materiais e métodos.** Foram coletadas amostras de solo na profundidade de 0-20 cm nos sistemas: mata nativa, cinco configurações de integração lavoura-pecuária (ILP) e uma sucessão de culturas (soja/milho), durante o período de chuva na região, com avaliações em 2012 e 2013. Quantificou-se o carbono liberado na forma de CO<sub>2</sub> por meio do método fumigação-incubação do solo, os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas por meio do Teste de Tukey (p < 0,05%).

**Resultados.** Não houve diferença estatística entre os sistemas no ano de 2012, diferentemente de 2013, em que dois sistemas de ilp e a mata nativa, tiveram os maiores valores da rb, onde tais resultados, podem ser atribuídos pela quantidade de matéria orgânica disponível. Com relação às épocas, em 2013 a rb foi maior em relação ao ano anterior, o que pode ter sido influenciado pelos fatores climáticos, que em 2012 foram afetados pelos efeitos do *niña*.

**Conclusões.** Os elevados valores da rb na ilp e na mata, podem ser justificados pelo maior aporte de matéria orgânica e não às condições de estresse. Portanto, os sistemas de ilp, estimulam a atividade biológica do solo, a ciclagem de nutrientes e o fluxo de energia no sistema.

### TLP-230. Propagación *in vitro* e identificación de extremófilos de termales de la geografía Colombiana

Jessica L. Campo-Giraldo\*, Mauricio Rivera-Jaramillo\*,  
Diego F. Chávez-Henao\*, Mauricio Corredor\*

\*Grupo Genética y Bioquímica de Microorganismos (Gebiomc), Ins. de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Univ. de Antioquia Colombia.

**Introducción.** Colombia cuenta con una gran cantidad de afloramientos de aguas termales con una gran biodiversidad aún sin catalogar y aprovechar. Todos los departamentos de la zona andina tienen termales y poco se conoce de los microorganismos que los habitan. Además, los microorganismos extremófilos tienen gran importancia por su uso industrial. La bioprospección centra su interés en la búsqueda dirigida de microorganismos, con potencial biotecnológico. Actualmente hay pocos estudios de bioprospección en termales, los cuales poseen extremófilos con alta diversidad genética y enzimas estables a altas temperaturas. Objetivo propagar *in vitro* e identificar extremófilos procedentes de termales de la zona andina colombiana.

**Materiales y métodos.** Se colectaron muestras de agua de termales de Antioquia, Caldas y Risaralda. Los extremófilos se cultivaron *in vitro* en una mezcla de sales con NaCl,  $MgSO_4$ ,  $NH_4NO_3$ ,  $H_2PO_4$ , y disoluciones de  $FeCl_3$  y  $H_2SO_4$  entre 20 y 50 mm. Los cultivos se incubaron a temperaturas de 50, 80 y 100 °C en ausencia de luz. La identificación se realizó por microscopía y por ADN. Se hicieron pruebas de hipótesis para evaluar crecimiento de extremófilos en los diferentes medios y se calculó abundancia y variabilidad.

**Resultados.** Los medios utilizados permitieron la propagación de varios géneros de Arqueas y Bacterias. Los análisis de ADN y microscópicos revelan la presencia de grupos de termófilas, sulfurosas, firmicutes y proteobacterias, entre otras. Además se observó crecimiento en las disoluciones de  $FeCl_3$  y  $H_2SO_4$  en la mezcla de sales, lo que indica su tolerancia a altas temperaturas y a ambientes tóxicos.

**Conclusiones.** Se observó propagación de varios géneros de extremófilos procedentes de termales colombianos. Además se lograron identificar varios grupos de termófilas, sulfurosas, firmicutes y proteobacterias. Se evidenció la resistencia de arqueas y bacterias a altas temperaturas y a ambientes tóxicos. Se planea evaluar el potencial biotecnológico de los extremófilos propagados.

### TLP-231. Ecología microbiana da rizosfera de plantas de milho inoculadas com *Azospirillum* sp: II. Atividade da fosfatase ácida e alcalina

Denise Pacheco R.\*, Livia Maria Ferraz Da F.\*, Katelyn Karolline  
Barbosa Dos S.\*, Márcia Cristina Ribeiro De O.\*, Christiane Abreu  
De Oliveira P.\*, Lauro José Moreira G.\*, Ivanildo Evódio M.\*

\*Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária, Brasil.

**Introdução.** A manutenção da qualidade do solo é fundamental para a sustentabilidade de agroecossistemas, visando a produção agrícola e preservação ambiental. Na cultura do milho, tem-se ampliado o uso da tecnologia de inoculação com bactérias fixadoras de nitrogênio como substituto de fertilizantes químicos. Entretanto, estudos relacionados aos impactos dessa tecnologia sobre a microbiota autoctone ainda é incipiente. Objetivou-se avaliar o impacto de diferentes formas de aplicação de inoculantes a base de *Azospirillum* na qualidade biológica do solo da rizosfera, utilizando-se a atividade enzimática das fosfatase ácida e alcalina como bioindicadoras.

**Materiais e métodos.** O experimento foi conduzido no ano agrícola 2012/2013, em solo classificado como latossolo vermelho distrófico,

em área experimental da empresa milho e sorgo, sete lagoas- brasil. Foram testados os seguintes tratamentos: sete métodos de aplicação de inoculante (no sulco; semente; via foliar aos 10 dias após a germinação (dag); sulco + via foliar 20 dag; semente + via foliar aos 20 dag; via foliar aos 10dag e 20dag; e sem inoculante) e três doses de n em cobertura (0, 40 e 80 kg ha<sup>-1</sup> n), em blocos casualizados, com parcela subdivida, sendo dose de n nas parcelas e métodos de aplicação nas subparcelas. Amostras de solo rizosférico foram coletadas no estádio de florescimento. A atividade das enzimas fosfatase ácida e alcalina foi determinada utilizando como substrato o p-nitrofenilfosfato (pnpp).

**Resultados.** Observou-se que a dinâmica de fósforo estimada através das enzimas fosfatase ácida e alcalina não foi alterada de modo significativo pela diferentes formas de aplicação do inoculante, bem como pela disponibilidade de nitrogênio.

**Conclusões.** A inoculação não alterou a atividade microbiana do solo determinado pelos bioindicadores utilizados na rizosfera do milho.

### TLP-232. Selección de microorganismos termófilos nativos productores de enzimas extracelulares como inoculantes para acelerar procesos de compostaje de residuos orgánicos de la selva central del Perú

Abad Flores P.\*, Rosa María Egusquiza C.\*, Mario Alcarraz C.\*, Tito  
Libio Sánchez R.\*, Alejandro Patiño G.\*, Manuel Armas P.\*, Jessi  
Claudio Fonseca\*, Diego Macedo P.\*, Carla Ximena\*

\*Universidad Nacional Mayor de San Marcos Perú.

**Introducción.** La actividad agroindustrial desarrollada alrededor de la explotación de café, cacao, y frutales en la selva central del Perú generan una gran cantidad de residuos orgánicos que pueden revalorarse aplicando biotecnologías apropiadas. La transformación aerobia microbiana, por compostaje se presenta como una solución. El objetivo planteado fue seleccionar microorganismos termófilos, celulolíticos, amilolíticos, proteolíticos y lipolíticos con potencial de ser utilizados como inoculantes aceleradores de procesos de compostaje.

**Materiales y métodos.** Se aislaron e identificaron por métodos convencionales *B. subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Pseudomonas* spp., *Actinomyces* sp., *Thermoactinomyces* sp., *Micromonospora* sp. y *Thermoactinomyces* sp.; hongos con propiedades celulolíticas: *Aspergillus niger*, *A. fumigatus*; *A. flavus* y *Trichoderma* sp. A partir de muestras de compost de pichanaqui, chanchamayo y tocache (San Martín). Se eligieron mediante pruebas de antagonismo 16 bacterias, 4 hongos y 4 actinomicetos con alta capacidad enzimática. Los inoculantes microbianos fueron preparados por fermentación sumergida. Se realizó una evaluación del tiempo del proceso de mineralización del compost y una validación en campo realizado en plántulas de café.

**Resultados.** El proceso de degradación se aceleró un 37.8 % con la inoculación de los microorganismos. El ensayo de validación agronómica de los compost inoculados, suelo con gallinaza al 30 % (control relativo) y con control negativo sin abonar; presentó incrementos significativos en el contenido de nutrientes foliares en comparación con el de gallinaza y el control negativo.

**Conclusiones.** La utilización de especies microbianas termófilas seleccionadas como inoculantes en procesos de compostaje, se presenta como una estrategia de interés para mejorar y/o acelerar dichos procesos y generar un producto de superiores características organolépticas.

### TLP-233. Diversity of bacterial associated with cultivated Cyanobacteria through ion torrent platform

Pedro Avelino Maia De A.\*, Ana Paula Dini Andreote A.\*, Armando  
Cavalcanti Franco D.\*, Arthur Prudencio De Araujo P.\*, Thiago  
Gumiere G.\*, Ademir Durrer B.\*

\*ESALQ-USP Brasil.

**Introduction.** The phylum cyanobacteria belongs to the bacteria domain, being widely distributed in a vast range of natural environments. These microorganisms occur in unicellular, filamentous or branched filamentous forms, usually surrounded by a mucilaginous matrix. These extracellular materials have been characterized as a nutritional source that favor the growth and establishment of mutualistic interaction with other organisms (mainly heterotrophic bacteria). However, the microbial community structure associated



with diverse cultivated cyanobacteria in highly specific environmental conditions is almost unknown.

**Materials and methods.** Therefore, the aim of this study was to show the diversity of bacteria associated to several genera of cyanobacteria. In this context, thirty-three strains from eight cyanobacterial genera, isolated from six different environments, were randomly selected from a cyanobacterial culture collection belonging to the cellular and molecular biology laboratory CENA/USP. The DNA of the microbial community associated to each strain was extracted from cells suspensions grown into liquid medium BG11. The bacterial diversity was further assessed by ion torrent (next generation sequencing).

**Results.** The results demonstrated a high diversity approximately 50% of the sequences are from bacterial assemblages associated to each individual cyanobacteria strain. The sequences analysis revealed that the principal phyla associated to the mucilaginous matrix were proteobacteria (69,5%), bacteroidetes (21,8%) from a total of 8446 otu's (operational taxonomic unit). Also, through a cluster analyses was observed that the distribution of bacterial composition doesn't follow a specific pattern that can describe an influence of each variable analysed such as, genus, environment or isolation medium culture. Nevertheless, these results suggest that there is a microbial core over all the strains isolated from distinct environments.

**Conclusions.** This work highlights some insights on the close relationship of the bacterial community associated with cyanobacteria, supporting the idea that cyanobacteria can structure microbial communities, what possibly indicate a role of such organisms in the cyanobacteria metabolism.

### TLP-234. Qualidade higiênico-sanitário da ostra (*Crassostrea rhizophorae*) cultivada e comercializada em municípios do estado de Alagoas, Brasil

Artur Bibiano De Vasconcelos\*, Jânio Pereira Da Silva\*, Jarbas Macena De Oliveira Júnior\*, Elizabeth Simões Do Amaral Alves\*, Juliana Carla Cavalcanti Marques\*

\*Universidade Federal de Alagoas, Brasil.

**Introdução.** A ostra (*Crassostrea rhizophorae*) é um molusco bivalve que possui grande capacidade de filtração. Por ser um marisco bastante consumido na forma in natura no território brasileiro, tem contribuído para a transmissão de doenças infecciosas. Devido a este fato, é considerado um risco potencial iminente à saúde pública. Objetivou-se com este trabalho caracterizar o perfil higiênico-sanitário de *Crassostrea rhizophorae*, das principais áreas de cultivo do litoral do estado de Alagoas, Brasil.

**Materiais e métodos.** As coletas foram realizadas nas áreas de cultivo de ostras, localizadas nos municípios de Barra de Camaragibe, Barra de São Miguel, Coruripe, Ipioca, Porto de Pedras. Um total de 25 amostras foram coletadas e encaminhadas ao laboratório de microbiologia de alimentos da universidade federal de Alagoas e foram processadas sob metodologia específica para análise microbiológica em alimentos e detecção de coliformes a 45°C, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. e *Staphylococcus coagulase positiva* no período de 24 h.

**Resultados.** Os resultados obtidos para coliformes a 45°C variaram de <3 a 2,1 x 10<sup>2</sup> nmp/g. A presença de *Escherichia coli* foi confirmada em 9 das 25 amostras, e em 02 amostras confirmou-se a presença de *Salmonella* sp. Com relação aos *Staphylococcus coagulase positiva*, 01 amostra apresentou contagem de 10,4 x 10<sup>2</sup> CFU/g.

**Conclusões.** No âmbito da ostreicultura, o valor máximo permitido para coliformes termotolerantes na água de cultivo corresponde a 1000 nmp/100 g e todos os resultados ficaram inferior a este valor, entretanto apresentaram-se impróprios ao consumo, devido a presença de *Salmonella* sp, evidenciando risco direto à saúde do consumidor.

### TLP-235. Screening of soil contaminants using yeast cells

Luiz Humberto Gomes\*, Keila Maria Roncato D.\*, Marcos Yassuo Kamogawa\*, Felipe Gabriel Andriano\*, Simone Possedente D.\*

\*USP-ESALQ, Brasil.

**Introduction.** Due to city expansion and industrialization, contaminated soils are increasing, offering higher and higher risk to human health. For this reason, the fast identification of contaminated areas is extre-

mely important for bioremediation actions. Several organisms and microorganisms are suitable for experimental protocols for toxic screening, which it can be fast and easy-to-do, as well as extrapolated to superior eukaryotes *Saccharomyces cerevisiae* yeast has high homology to superior eukaryotes, allowing toxic studies with human beings and it presents easy cultivation method, maintenance and it is very sensible to environmental changes. Objectives: to use yeast in the presence of toxic agents for detection purposes using the micro plating and the tcc technique (2,3,5 triphenyl tetrazolium chloride).

**Materials and methods.** 20 different yeast, from several genera were tested in the presence of cadmium and gasoline contaminated soils. For each strain, data were recorded after 54 h, where 24 h were for yeast growth, 4 h for TCC technique and 24 h for micro plating technique.

**Results.** Data show high efficiency on the yeast used for detection of contaminants in soil and candida species seemed to be more sensible to toxic agents than *Saccharomyces* species and the replications of the results were more consistent in the micro plating (%cv=25.2) related to tcc technique (%cv=41.4).

**Conclusions.** In both methods, yeast cell can be used as toxic monitoring organisms and it provides a fast, economic and reliable methodology for cadmium and gasoline contaminated soils.

### TLP-236. Atividade antimicrobiana de carvão ativado impregnado com prata

José Daniel Ribeiro C.\*, Plínio Naves\*, Lorena Oliveira\*, Letícia Sebastião\*

\*Universidade Estadual de Goiás Brasil.

**Introdução.** Carvão ativado (ca) é um adsorvente hidrofóbico altamente poroso utilizado em filtros de água domésticos. Na filtração, a matéria orgânica e os micro-organismos presentes na água são retidos na estrutura porosa do ca, estes podem crescer em biofilmes sobre sua superfície. Com o intuito de inibir este crescimento, impregna-se o ca com prata. Este trabalho objetivou verificar a atividade antimicrobiana do ca impregnado com diferentes concentrações prata contra *Pseudomonas aeruginosa*.

**Materiais e métodos.** Amostras de ca foram tratadas com solução de agno3 para se obter ca impregnado com 0,0295% a 0,2214% em massa de prata, em seguida foram aquecidas em mufla por 2h a 500°C para redução da prata, que foi quantificada por espectrometria de absorção atômica. Suspensões ajustadas de *P. aeruginosa* ATCC 9027 (7,0x10<sup>7</sup> CFU/mL) em água peptonada foram submetidas à filtração com 5g de ca impregnado com prata e sem o metal. Após a filtração, as amostras de ca foram incubadas durante 7 dias a 37°C, em seguida foram transferidas para tubos com solução fisiológica estéril e submetidas a sonicação com ultrassom a 25kHz por 5 minutos para o desprendimento do biofilme microbiano e quantificação das bactérias viáveis.

**Resultados.** Ca sem prata não inibiu de forma significativa o inóculo inicial (3,0x10<sup>7</sup> CFU/mL). Todas as amostras impregnadas com prata reduziram significativamente a viabilidade de *P. aeruginosa* no ca, com resultados variando de 1,9x10<sup>5</sup> a 1,5x10<sup>6</sup> CFU/mL.

**Conclusões.** A prata inibiu a proliferação de *P. aeruginosa*, demonstrando efeito bacteriostático, pois o aumento de sua concentração não foi proporcional ao seu efeito inibitório, uma vez que o aumento de sete vezes de prata inibiu apenas 1log de micro-organismos.

### TLP-237. Isolamento e caracterização morfo-fisiológica de bactérias fixadoras de nitrogênio em simbiose com *Anadenanthera colubrina* (angico branco) e *Anadenanthera macrocarpa* (angico vermelho)

Izabelle Gonçalves Melo\*, Rosângela Cristina Marucci\*, Eveline Anielli Cristelli Soares\*, Luiz Marcelo Aguiar Sans\*, Cristiane Abreu De Oliveira P.\*, Ivanildo Evódio Marriel\*

\*Centro Universitário de Sete Lagoas – UNIFEMM Brasil.

**Introdução.** O estado de Minas Gerais possui extensas áreas com solo degradado, principalmente em razão de atividades mineradoras ou de sistemas de manejos agrícolas inadequados. Dentre as estratégias de recuperação, a revegetação com espécies nativas do próprio bioma tem sido recomendada. Nesse caso, dá-se preferência por algumas espécies de leguminosas arbóreas, que são altamente competitivas em função

de suas capacidades simbióticas com bactérias fixadoras de nitrogênio, além de seu uso para fins medicinais e de madeira, etc. Propôs-se neste trabalho, isolar e caracterizar estirpes de rizóbios em simbiose com duas espécies de leguminosa arbóreas.

**Materiais e métodos.** Para isolamento das bactérias, foram coletados nódulos das espécies, *Anadenanthera colubrina* (angico branco) e *Anadenanthera macrocarpa* (angico vermelho), nativas do bioma cerrado. Aliquotas das suspensões dos nódulos, desinfestados e macerados, foram transferidas para meio manitol sólido (yma), com vermelho congo e pH 6,8, para isolamento, purificação e avaliação da morfologia das colônias e, meio yma com azul de bromotimol, para a caracterização fisiológica. A caracterização morfológica foi efetuado em relação a tempo de crescimento, cor, detalhe óptico, tamanho, superfície, absorção de corante, tipo de borda e consistência. E, a característica fisiológica foi avaliada em relação à acidificação do meio.

**Resultados.** Observou-se alta diversidade entre estirpes de rizóbios para as características morfo-fisiológicas analisadas. Independente das espécies de plantas hospedeiras, houve predominância de colônias classificadas como de crescimento rápido, consistência gomosa, detalhe óptico brilhante, coloração rosada, borda lisa e produtoras de ácido. Entretanto, o angico branco apresentou também colônias pequenas, com superfície plana, bordas irregulares e absorção parcial do corante, enquanto o angico vermelho apresentou colônias, na maioria dos casos, de tamanhos médio e grande, com superfície côncava e sem absorção do corante.

**Conclusões.** As estirpes de rizóbios apresentam diversidade fenotípica dentre e entre espécies de leguminosas arbóreas nativas do cerrado.

### TLP-238. Caracterización bioquímica de la secreción mucosa del caracol gigante africano *Achatina fulica*, recolectados en el área metropolitana de Bucaramanga

Nelson Uribe D.\*, Arley Rey P.\*, Andrés Pereira P.\*,  
Paola López Rueda, Jennifer Castro Ortiz

\*Universidad Industrial de Santander Colombia.

**Introducción.** *Achatina fulica* es un gasterópodo nativo de África oriental y nororiental, de importancia para la salud pública, la biodiversidad y el sector agropecuario, pues está ubicado dentro de las cien especies exóticas invasoras más dañinas del mundo. Sin embargo, existe un gran potencial biomédico ya documentado, en la presencia de moléculas con propiedades antimicrobianas en las secreciones de este gasterópodo. Objetivo: realizar la caracterización bioquímica de la secreción mucosa de *A. fulica*.

**Materiales y métodos.** Se recolectó un pool de secreción mucosa mediante estimulación directa de los caracoles con corriente eléctrica de 9v. Se determinaron lípidos, glúcidos y proteínas por medio de pruebas bioquímicas cualitativas en la secreción entera y a las fracciones soluble y mucoprotéica, y se cuantificaron proteínas y glúcidos por Bradford y el método del fenol-ácido sulfúrico respectivamente.

**Resultados.** Se encontró una concentración de proteínas de 701.92 ag/mL en la fracción soluble y de 98.07 ag/mL en la fracción de mucinas. La concentración de glúcidos fue de 194.3 ag/mL en la fracción soluble y menor de 10 ag/mL en la fracción de mucinas. El pH de la secreción fue de 7.96.

**Conclusiones.** Los hallazgos de este trabajo, guardan relación con los reportes encontrados en la literatura. Se evidencia la presencia de mucinas y de glicoproteínas a las cuales se les podría determinar en estudios posteriores su actividad antimicrobiana.

### TLP-239. Enzymatic assay of cellulolytic microorganisms from mangrove soil

Marcus Vinicius Forzani A., Renan De Souza S., Matheus Maitan V., Bruno Francesco Rodrigues De O., Petain Jose Ferreira N., Thaís Maitan V., Ariana Alves R., Igor Daniel Alves R.

\*Universidade Federal de Goiás Brasil.

**Introduction.** The biggest problem that derail the feasibility of second generation biofuel production are: the high cost of cane bagasse pre-treatment and the hydrolysis products' inhibitory feature of fermentation. In this work, the objective was to select microorganisms producers of cellulolytic enzymes from mangrove soil.

**Materials and methods.** It was isolated from mangrove soil 14 microorganisms using carboxymethylcellulose and 7 microorganisms using glicol.

rol. Therewith, it was measured the enzymatic index to determinate the best producers strains, using carboxymethylcellulose, esculin and cane bagasse as carbono source.

**Results.** Of the 21 strains, 10 produced all the three enzymes tested, endoglucanases, exoglucanases and  $\alpha$ -glucosidases.

**Conclusions.** Connect the capacity of hydrolyse cane bagasse and the capacity of fermente the hydrolysis' by products into biofuels maybe the secret to consolidate the alcohol industry, and for that a big challenge is to optimize enzymatic assays.

### TLP-240. La influencia de la actividad agrícola en la presencia de macrofauna edáfica

Juliana Isabel Carvajal T.\*

\*Fundación Universitaria de Popayán Colombia.

**Introducción.** En la finca Los Robles, se dispuso 9804 m<sup>2</sup> de pasto penisetum y un área de bosque primario, con el objetivo de evaluar y comparar la macrofauna en función de su diversidad vegetativa y ambientes biofísicos.

**Materiales y métodos.** En el área cultivada, se distribuyeron 3 bloques de acuerdo a la pendiente y sombra. Se utilizó la metodología del monolito de suelo, recomendado por instituto de fertilidad y biología de suelos tropicales (tsbf).

**Resultados.** Del bosque primario se recolectaron 382 individuos de los cuales 352 corresponden a estadio adulto y los restantes a inmaduros, siendo haplotaxida la taxa más numerosa con el 46% de los organismos muestreados de 0-10 cm; el b1 presentó 127 individuos de los cuales 110 son adultos, b2 evidenció 113 y b3 163 ejemplares adultos, el grupo abundante correspondió a haplotaxida. Lavelle (2000), afirma que algunos grupos taxonómicos de fauna edáfica se presentan únicamente a ciertas profundidades resaltando de 0 a 10 cm donde se pudo apreciar haplotaxida como grupo de mayor presencia de individuos, destacando su papel como ingenieros del suelo, involucran grupos consumidores de materia orgánica como las lombrices con impacto específico en el interior del suelo a partir de la transformación de propiedades físicas. También se evidenciaron organismos detritívoros, como milpiés (spirobolida, polydesmida y ciertos caracoles), cuya función es fragmentar e iniciar el proceso de descomposición, aumentando la superficie de exposición para el ataque de la microflora en el suelo. En profundidades mayores de 20-30 en bosque se encontró presencia de grupos depredadores como opiliones y pseudoescorpiones. El b2 y b3 de 0 a 10 cm se aprecia depredadores del grupo taxonómico araña.

**Conclusiones.** En la zona cultivada se observa presencia en mayor proporción de la taxa haplotaxida de 0 a 10 cm. La actividad agrícola genera una intervención mecánica y química que incide en la diversidad de edafofauna.

### TLP-241. Evaluación microbiológica de la presencia de hongos endófitos en praderas de *Lolium perenne* L. en el sur de Chile

Melissa Heise M.\*, Marcelo Gonzalo Lizama V.\*,  
Paola Alejandra Fincheira R.\*, Muriel Melo\*, Fernando Ortega K.\*,  
Andrés Eduardo Quiroz C.\*, Leonardo Javier Parra B.\*

\*Universidad de La Frontera Chile.

**Introducción.** Actualmente, no existe claridad concerniente a las cepas y nivel de hongos endófitos presentes en praderas de Ballica (*L. Perenne*) en el sur de Chile. La importancia de lo anterior, radica en que la presencia de hongos endófitos en *L. Perenne* permite controlar plagas insectiles debido a la liberación de compuestos denominados alcaloides y con ello aumentar la productividad de la pradera. Determinar la presencia de hongos endófitos en diferentes poblaciones de Ballica del sur de Chile, mediante un análisis microbiológico.

**Materiales y métodos.** Se colectó material vegetal en diferentes praderas de Ballica en dos regiones del sur del país (la araucanía y los lagos). Se colectaron muestras del tejido bajo el tallo (epidermis) y se aplicó tinción de rosa bengala 0,5% disuelta en solución de etanol 5% p/v (n=40/zona de muestreo). Los tejidos fueron examinados bajo microscopio trinocular (40x). Se consideraron positivas aquellas plantas donde se observaron hifas de hongo asociadas a las células de la lígula (tallo).

**Resultados.** En las zonas evaluadas, la presencia de endófitos fue de 62,9% para la araucanía, y 37,1% para los lagos. La menor incidencia en

la región de los lagos coincide con algunos reportes que indican que uno de los principales problemas que afecta la relación planta-hongo se relaciona con la pérdida de viabilidad del endófito, a medida que aumenta la edad de la semilla forrajera.

**Conclusiones.** Una técnica rápida y sencilla como es el análisis microbiológico mediante tinciones es una herramienta útil para determinar en forma rápida y precisa la presencia de hongos endófitos presentes en praderas del sur de Chile. Sin embargo, futuros estudios son necesarios para determinar la viabilidad del endófito en condiciones de almacenaje y determinar la o las especies de hongo presentes en esta forrajera.

### TLP-242. Biotransformación de roxarsona proveniente de lixiviado de suelo, por comunidades bacterianas de aguas subterráneas en condiciones anaeróbicas

Santiago Xavier Mafla A.\*, Víctor Leandro Campos A.\*, Carla León L.\*, Víctor Gabriel Guzmán F.\*, María Angelica Mondaca J.\*

\*Universidad de Concepción Ecuador.

**Introducción.** La Roxarsona® es usada como complemento nutricional y antiparasitario, en la industria agrícola. Las bacterias presentes en estiércol, suelo y agua transforman la roxarsona en productos tóxicos, estos pueden lixiviarse desde la superficie hacia las napas de agua produciendo una exposición crónica por ingesta de arsénico inorgánico. El objetivo fue evaluar la transformación y toxicidad del lixiviado de suelo por las comunidades bacterianas en el agua de pozo en condiciones anaeróbicas.

**Materiales y métodos.** Se implementaron microcosmos con y sin las comunidades bacterianas de agua de pozo. Las transformaciones fueron analizadas mediante espectrofotometría en 20 días y la toxicidad por medio del kit comercial Toxi-Chromotest.

**Resultados.** Los resultados del estudio demostraron que las comunidades microbianas de suelo, estiércol y agua de pozo en condiciones anaeróbicas (microcosmo b4) pudieron transformar la roxarsona en un 97,67% encontrándose una concentración final de roxarsona de 3ppm; 3,15 ppb de as (iii) y 0,78 ppb de as (v). El análisis de toxicidad mostró un 70% de inhibición de  $\alpha$ -galactosidasa en los microcosmos indicando que la biotransformación de roxarsona puede ser tóxica para el hombre.

**Conclusiones.** La roxarsona y los compuestos de su transformación afectaron la capacidad metabólica de las comunidades bacterianas aumentando la oxidación de carbohidratos, aminoácidos y polímeros; además de afectar la estructura de las comunidades bacterianas especializando y reduciendo la diversidad de especies. El ensayo mds del patrón de bandeado obtenido del DGGE pudo identificar dos grupos con un 40% de similitud en; el primero formado por los microcosmos que no poseían roxarsona y el segundo formado por los microcosmos que poseían un porcentaje de transformación de roxarsona mayor al 50%. La secuenciación de las principales bandas obtenidas por DGGE demostraron la presencia de proteobacteria (48,38%), firmicutes (35,48%), actinobacteria (9,67%), planctonmycetes (3,22%) y spirochaetes (3,22%).

### TLP-243. Diversidade de *Bacillus* endofíticos do inhame (*Dioscorea rotundata*)

Patricia Oliveira Dos S.\*, Mariah Rodrigues B.\*, Ana Cláudia Oliveira Souza S.\*, Jorge Teodoro De Souza\*

\*Instituto Federal Baiano; Universidade Federal do Recôncavo da Bahia Brasil.

**Introdução.** O agronegócio do inhame tem apresentado um aumento expressivo, contribuindo para a expansão de áreas cultivadas, sendo de grande importância para o nordeste brasileiro. Apesar disso, a severidade de pragas e doenças e o baixo nível tecnológico empregado contribuem para a baixa produtividade dessa lavoura. Esses aspectos tornam necessárias buscas por alternativas tecnológicas para o aumento da produção. Uma dessas alternativas é o uso de bactérias endofíticas para a promoção de crescimento e controle de pragas e doenças. Existem poucos trabalhos referentes a endofíticos do inhame. Esse trabalho objetivou estudar a diversidade de *Bacillus* endofíticos do inhame.

**Materiais e métodos.** As bactérias foram isoladas de diferentes partes da planta (folhas, caule, rizóforo e raízes). Foram obtidos 88 isolados, dos quais se extraiu o DNA com o método de fervura e centrifugação. Foi realizado estudo de diversidade genética utilizando o método de

random amplification of polymorphic DNA – RAPD. As análises de agrupamento foram realizadas com o método neighbor-joining utilizando o programa freetree. Foi realizado sequenciamento da região 16s do DNA para identificação taxonômica. A árvore filogenética foi construída com o programa Mega5, com o método neighbor-joining, utilizando o modelo Kimura-2-parâmetros.

**Resultados.** Foram gerados 28 grupos rapd no dendograma. Foi encontrada maior diversidade genética nas raízes, seguidas por rizóforos, folhas e caule. Apesar do maior número de isolados ter sido obtido de folhas, esses órgãos apresentaram uma baixa diversidade genética, com apenas 2 grupos rapd. As bactérias do gênero *Bacillus* foram agrupadas em três complexos de espécies: *B. cereus*, *B. thuringiensis* e *B. safensis*.

**Conclusões.** Esse trabalho é o primeiro a analisar a diversidade genética de bactérias endofíticas em inhame. Mostrou que *Bacillus* endofíticos ocorrem em todos os órgãos das plantas, que diferem nestes, e a maior diversidade pode ser encontrada nas raízes e rizóforos. Três espécies foram identificadas *B. cereus*, *B. thuringiensis* e *B. safensis*.

### TLP-244. Qualidade microbiológica de leite cru coletado nos municípios de Boca da Mata e Maribondo

Bruno Fernando Oliveira A.\*, Sidney José Dos S.\*, Sybelle Georgia Mesquita Da S.\*, Tania Marta Carvalho Dos S.\*, Beatriz Paes Duarte B.\*, Micheline Thais Dos S.\*, Jockeliny Mayara Camara D.\*

\*Universidade Federal de Alagoas Brasil.

**Introdução.** O leite é considerado um dos alimentos mais nutritivos presentes na natureza, sendo rico em proteínas, gordura, vitaminas e sais minerais. Considerando-se esses fatores, o leite constitui-se em um excelente meio de cultura para a maioria dos microrganismos fazendo-se necessária sua correta manipulação afim de se obter um alimento seguro e de qualidade satisfatória e que esteja dentro dos padrões estabelecidos pela legislação (in 62). Este trabalho tem como objetivo determinar a qualidade microbiológica do leite cru proveniente dos municípios de Boca da Mata e Maribondo.

**Materiais e métodos.** Foram realizadas 5 coletas mensais de leite e encaminhadas ao laboratório de microbiologia para serem analisadas. As amostras foram coletadas assepticamente e diluídas em solução de água peptonada a 0,1%. Assim, 25 mL das amostras de leite foram diluídas em 225 mL de água peptonada (10-1). Dessa diluição, foram realizados testes para presença de listeira (leite cru e pasteurizado), *Salmonella* e *Staphylococcus* para análise de listeira, foi utilizado caldo de enriquecimento de infusão de cérebro e coração (BHI) e incubados a 37°C/24 h. em seguida inoculados em meio específico para listeria (37%/72 h). para análise de *Salmonella*, foi utilizado meio de enriquecimento selenito cistina (37°C/24 h) e em seguida transferido para o meio *Salmonella shigellae* para então serem realizados testes bioquímicos de urease e descaboxilação de lisina para confirmação de salmonella. para análise de *Staphylococcus*, as amostras foram plaqueadas em meio específico (Baird-Parker) e incubadas a 37%/24 h.

**Resultados.** Todas as amostras apresentaram resultado positivo para presença de *Listeria* e *Staphylococcus* spp. Os testes bioquímicos para *Salmonella* apresentaram resultados negativos, descartando a possibilidade de contaminação por esta bactéria.

**Conclusões.** Os resultados obtidos mostram que o leite não está em conformidade com a in 62. Falhas na ordenha comprometem a qualidade do produto, fazendo-se necessárias melhorias para garantir a segurança do alimento que será consumido pela comunidade.

### TLP-245. Avaliação da toxicidade do óleo diesel degradado por bactéria

Jacilene Marques M.\*, Geórgia Gomes Da C.\*, Raul Felipe Neves C.\*, Pêrsio Alexandre Silva\*, Flávia Virgínia Ferreira A.\*, Norma Buarque De G.\*, Maria De Fátima Vieira Queiroz S.\*

\*Universidade Federal de Pernambuco Brasil.

**Introdução.** Com o aumento da população humana e o desenvolvimento tecnológico, há uma crescente demanda da utilização do petróleo e de seus derivados como fonte de energia, no entanto, estes combustíveis vêm ocasionando sérios problemas ambientais. A biorremediação é uma técnica cada vez mais utilizada nos processos de descontaminação de ambientes, além de ser acompanhada com o controle da toxicidade dos subprodutos. Este trabalho objetivou medir a capacidade de *Baci-*

*Illus sp.* Crescer em concentrações crescentes de óleo diesel e determinar a toxicidade do material residual biodegradado.

**Materiais e métodos.** Foi realizado um planejamento fatorial (24), envolvendo dois níveis e 4 fatores, totalizando 16 ensaios e 3 pontos centrais, sendo analisados estatisticamente pelo software statistic 8.0. Foram testados diferentes inocúlos de 3 micro-organismos (*C. elegans*, *R. arrhizus* e *A. niger*) e concentrações variadas de glicose, tendo como variável resposta a degradação de hidrocarbonetos por cromatografia gasosa. Os ensaios foram realizados em frascos de erlenmeyers, de forma estática, durante 15 dias e submetidos a uma temperatura de 28 ±2°C.

**Resultados.** A variação simultânea dos fatores testados permitiu verificar o desempenho dos fungos na degradação dos hidrocarbonetos do óleo diesel. A cromatografia gasosa revelou o maior percentual de degradação no ensaio 15, atingindo picos de até 98%. Neste ensaio havia maiores concentrações de inocúlos dos micro-organismos (*R. arrhizus* e *A. niger*) e de glicose (4 mL), utilizada como fonte de carbono adicional. Estatisticamente foi considerada significativa: a concentração do inocúlo do *A. niger* e a interação entre esta e a concentração de glicose.

**Conclusões.** Todos os micro-organismos testados apresentaram potencial para degradação do óleo diesel. Contudo, o processo de biodegradação é otimizado quando aumenta o inocúlo do *A. niger* e a concentração de glicose.

### TLP-246. Nitrogen removal of uasb reactor effluent in an aerated - facultative pond at a poultry slaughterhouse

Eloisa Pozzi\*, Valeria Del Nery\*, Sakamoto Isabel Kimiko\*, Moura Rafael Brito\*, Marcia Helena Rizato Damianovic\*

\*Universidade de São Paulo Brasil.

**Introduction.** Anaerobic digestion is used to treat wastewater from food industry. The treatment system wastewater consists of a uasb reactor (1,280 m<sup>3</sup>) followed by an aerated-facultative pond (afp) (13,000 m<sup>2</sup>) as post-treatment of poultry slaughterhouse wastewater. The parameters of the system, at real scale, were monitored seven times and the density of microorganisms four times at three sampling points (p1, p2 and p3). P1 is located in aerated pond area, while the p2 and p3 refer to facultative areas pond. The aim of this study was estimate the density of nitrifying, denitrifying bacteria and infer about the microbial diversity of afp used as post treatment.

**Materials and methods.** Nitrifying and denitrifying bacteria were estimated by MPN technique. The 16s rRNA fragments were amplified by pcr and it was analyzed using DGGE.

**Results.** Nitrifying microorganisms and nitrification rates were higher at p1 than at p2 and p3, however p1 had lower similarity coefficient (50%) to bacteria domain (pearson's correlations) than p2 (86%) and p3 (76%) at all periods of sampling. These similarity coefficients indicate differences between bacterial communities. On the other hand, the bacterial population was more diverse at p1 (shannon 3.0) in comparison to p2 and p3 (shannon 2.0), since at p1 the effluent composition was more complex and was required more diversified bacterial metabolism. The density of aob and nob decreased during december and february, reaching the order of 10 2 mpn/mg vss. It was in agreement with the highest temperatures of the year when the concentration of do in the system had decreased. Facultative denitrifying bacteria increased significantly from august (10 11) to february (10 14). The afp presented cod, bod, tkn and ammonia removal efficiencies of 47.4±22.2%, 57.8±15.4%, and 69.5±15.3%, 88.2±6.0%.

**Conclusions.** Nitrification and denitrification processes occurred simultaneously in afp.

### TLP-247. Qualidade microbiológica determinada por características de produção no leite coletado no município de Satuba-AI

Sybelle Georgia Mesquita Da S.\*, Bruno Fernando Oliveira A.\*, Tania Marta Carvalho Dos S.\*, Sidney José Dos S.\*, Yamina Coentro M.\*, Felipe Alexandre Tenório\*, João Manoel Da S.\*

\*Universidade Federal de Alagoas Brasil.

**Introdução.** O leite é um alimento rico em nutrientes, vitaminas e minerais. Mas também é um excelente meio de cultura para muitos micro-

organismos. Falhas ocorridas durante a ordenha e processamento contribuem para a comercialização de produtos lácteos com características microbiológicas fora dos padrões regulamentares. O objetivo deste trabalho foi verificar a qualidade microbiológica e os principais pontos de contaminação do leite cru e pasteurizado coletados no município de Satuba.

**Materiais e métodos.** Foram realizadas 5 coletas mensais de leite e coletas no ambiente de ordenha com swab (ralo, chão, teteiras, latão, ração e mãos dos ordenhadores) e encaminhadas ao laboratório de microbiologia para serem analisadas. As amostras foram coletadas assepticamente e diluídas em solução de água peptonada a 0,1%. Assim, 25 mL das amostras de leite foram diluídas em 225 mL de água peptonada (10-1). Para as amostras do ambiente de ordenha, os swabs foram submersos em solução de água peptonada de mesma concentração. Dessa diluição, foram realizados testes para presença de listeria (leite cru e pasteurizado), *Salmonella* e *Staphylococcus* para análise de listeria, foi utilizado caldo de enriquecimento de infusão de cérebro e coração (BHI) e incubados a 37°C/24 h. em seguida inoculados em meio específico para listeria (37°C/72 h). Para análise de salmonella, foi utilizado meio de enriquecimento selenito cistina (37°C/24 h) e em seguida transferido para o meio *Salmonella Shigellae* para então serem realizados testes bioquímicos de uréase e descaboxilação de lisina para confirmação de salmonella. Para análise de *Staphylococcus*, as amostras foram plaqueadas em meio específico (Baird-Parker) e incubadas a 37°C/24 h.

**Resultados.** Todas as amostras apresentaram resultados positivo presença de *Listeria* e *Staphylococcus* spp. Os testes bioquímicos para salmonella descartaram a possibilidade de contaminação por esta bactéria.

**Conclusões.** Os resultados obtidos mostram que o leite está fora dos padrões estabelecidos pela instrução normativa 62, provavelmente devido a más condições do ambiente de ordenha.

### TLP-248. Análisis genómico y proteómico de la respuesta a estrés oxidativo en la bacteria degradadora de compuestos aromáticos *Burkholderia xenovorans* Ib400 (genomic and proteomic analysis of oxidative stress response in the aromatic- degrader bacterium burkholder)

Valentina Méndez\*, Gabriel Padrón\*, Michael Seeger\*

\*Laboratorio Dde Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental, Departamento de Química & Centro de Nanotecnología y Biología de Sistemas & Centro de Biotecnología, Universidad Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile & 2división De Cuba.

**Introducción.** *Burkholderia xenovorans* Ib400 es una bacteria modelo en la degradación de compuestos aromáticos. El metabolismo aerobio de compuestos aromáticos genera estrés oxidativo. Los mecanismos involucrados en la respuesta de estrés oxidativo durante la degradación de compuestos aromáticos son poco conocidos. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la respuesta a estrés oxidativo mediante análisis del genoma y del proteoma *B. xenovorans* Ib400. Se utilizaron herramientas bioinformáticas para la búsqueda de genes.

**Materiales y métodos.** Para el análisis proteómico, se cultivó *B. xenovorans* Ib400 en medio mínimo y se expuso a paraquat. Los péptidos obtenidos por digestión se analizaron por espectrometría de masas de alta resolución orbitrap.

**Resultados.** Se identificaron 6 genes en el cromosoma menor y dos en el cromosoma mayor que codifican para la alquil hidropéroxido reductasa. Se encontraron 6 copias del gen que codifica la enzima catalasa en ambos cromosomas. El gen OXYR se agrupan los genes kata y dpsa, que codifica una ferritina de unión a DNA. Se identificaron genes que codifican para las proteínas fumarasa c, aconitasa, superóxido dismutasa y ferredoxina reductasa dependiente de NADP. Durante la exposición a paraquat se observó la inducción de proteínas DPSA, alquil hidropéroxido reductasa, fumarasa c, catalasa, glutatión peroxidasa y la proteína de resistencia a peróxido OHR, que es un sistema enzimático reductor en *E. coli* diversos sistemas enzimáticos reductores, como flavodoxinas y ferritinas codificados por genes ubicados en el cromosoma mayor y en el megaplásmido mostraron niveles mayores durante la exposición a paraquat.

**Conclusiones.** Este estudio permitió identificar genes y proteínas que podrían estar involucrados en la respuesta al estrés oxidativo generado durante el metabolismo de compuestos aromáticos. La construcción de cepas knockout permitirá estudiar el rol de proteínas específicas en esta respuesta a estrés oxidativo. Agradecimientos: becas docto-

rales conicyt y riabin, proyectos fondecyt (1110992,1070507) y usm (131342,131109).

### TLP-249. Identification and characterization of bacterial diversity present in the spring and outfall of the river mindú by constructing genomic libraries 16s rRNA

Carolinie Cruz\*, Fernanda Batalha\*, Paulo Nogueira\*,  
Meire Magalhães\*, Patrícia Orlandi\*

\*Institute Leônidas And Maria Deane - ILDM / FIORUZ Brasil.

**Introduction.** The stream of Mindu is the most significant watercourse Manaus water by cutting the city from east to west, making a total of about 21 km long in the urban area. The city of Manaus has no effective sanitation programs and thereby cut the rivers that are polluted by receiving very large load of solid waste, household and hospital waste.

**Materials and methods.** Samples of spring water from river mindú (library a) and from outfall river mindú (library b) were collected, these samples were used for construction of metagenomic clones. The metagenomic DNA was extracted and amplified by pcr using universal primers 530f - 1492r. The fragments were ligated to pgem-t, were selected 192 clones from each library which sequenced and after disposal of poor quality sequences, and chimeric sequences 126 and 167 for the water libraries a and b were obtained, respectively.

**Results.** The results showed predominantly with non-known microorganisms representing 58.3% and 19.7%, but libraries a and b, respectively. The predominant pHyllum actinobacteria was in the library, representing 25.3% of total sequences analyzed. The phyla are highlighted in acidobacteria (8.6%), followed by proteobacteria (4.3%), firmicutes (1.5%), gemmatimonadetes (1.2%), nitrospira (0.5%) and verrucomicrobia (0.3%). Furthermore, the library b has highlighted the pHyllum proteobacteria 31.4%, firmicutes (27.2%), actinobacteria (11.7%), acidobacteria (9.3%), nitrospira (0.5%) and verrucomicrobia (0.2%). The estimated wealth of otus directly corroborated by bootstrap values of diversity indices obtained by Simpson and Shannon.

**Conclusions.** With this work we can conclude that there are differences in the microbial communities present in the spring and outfall of the mindú, water contamination is a serious problem of extreme importance in Brazil, because studies have shown that these effluents have high levels of enteric bacteria, metals heavy, disinfectants and antibiotics, creating an environment with strong selective pressure.

### TLP-250. Presencia de indicadores de contaminación fecal y *Ps. aeruginosa* en aguas costeras de la ciudad de Fortaleza, Ceará, Brasil

Fatima Cristiane Teles De C. \*, Marina Teresa Torres R. \*,  
Daniel Rodrigues Dos S. \*, Ariadne Elisa Queiroz De O. \*,  
Oscarina Viana De S. \*, Regine Helena S. Dos Fernandes V. \*

\*Instituto de Ciências do Mar -(Labomar) Brasil.

**Introducción.** Las galerías pluviales constituyen un importante vehículo de contaminación de las playas impactando negativamente en la calidad microbiológica de las aguas costeras. Entre las bacterias vehiculadas, los coliformes termotolerantes y enterococos son considerados indicadores de contaminación fecal de aguas ambientales y recreacionales. *Pseudomonas aeruginosa*, es un patógeno oportunista que puede desempeñar un papel importante en varias enfermedades por contacto con el agua. Objetivo. Determinar la presencia de *E. coli*, *Enterococos* y *Ps. aeruginosa* en dos galerías pluviales y dos puntos de agua de mar adyacentes en la ciudad de Fortaleza.

**Materiales y métodos.** Fueron colectadas y analizadas cuatro muestras de agua semanales durante cinco semanas continuas: dos galerías pluviales y dos puntos de agua de mar adyacentes a cada galería. Los coliformes termotolerantes fueron cuantificados según la técnica de fermentación en tubos múltiples. *E. coli* fue identificada utilizando pruebas bioquímicas. Los enterococos fueron cuantificados utilizando el método de conteo patrón en placa mediante la técnica de membrana filtrante. La confirmación en género fue realizada mediante pruebas bioquímicas. *Pseudomonas aeruginosa* fue estimada por la técnica de tubos múltiples usando caldo asparagina (prueba presuntiva) y agar cetrimide (confirmación). Fueron utilizadas pruebas bioquímicas para su identificación.

**Resultados.** Las poblaciones de coliformes termotolerantes, *Enterococcus*, y *Pseudomonas aeruginosa* fueron más abundantes en las galerías que en las aguas de mar. Fueron aisladas cepas del género enterococcus en todas las colectas, mientras que la presencia de *Ps. aeruginosa* estuvo acompañada de la ausencia o bajo número de aislamientos de *E. coli*. **Conclusiones.** El grupo enterococo resultó el grupo bacteriano de mayor tiempo de sobrevivencia y resistencia a condiciones ambientales adversas. Fue confirmada la habilidad de *Ps. aeruginosa* de inhibir bacterias del grupo coliforme. Las galerías pluviales presentaron la mayor influencia sobre la calidad microbiológica del agua de mar adyacente a su desagüe.

### TLP-251. Determinação do teor de nitrogênio mineral sob sistemas de produção de soja

Ana Mirielle Dias Da S. \*, Flavia Carolina Rodrigues L. \*,  
Andréia Vieira De O. \*, Taylor Da Silva Aquino C. \*, Heiriane  
Martins De S. \*, Daniela Tiago Silva C. \*, Sebastião Carneiro G. \*

\*Universidade Federal do Mato Grosso Brasil.

**Introdução.** O nitrogênio mineral ( $\text{NH}_4^+$  e  $\text{NO}_3^-$ ), resultante da atividade metabólica da microbiota do solo, é o principal composto assimilável pelos vegetais, vez que estes não são capazes de absorver o nitrogênio na sua forma pura ( $\text{N}^2$ ). Teve-se como objetivo quantificar em cinco sistemas de produção de soja, o teor de nitrato e amônio do solo.

**Materiais e métodos.** O trabalho foi realizado com solo coletado nos estádios de florescimento e maturação fisiológica da cultura da soja, na profundidade de 0-10 cm da estação experimental da fundação mt, município de Itiquira-mt, clima tipo aw segundo köppen, em latossolo vermelho distrófico de textura argilosa. Foram avaliados os sistemas de sucessão soja/pousio; soja/milheto; soja/milho e dois sistemas de rotação de culturas: rot1 (soja/milheto, soja/crotalária e milho+brachiaria no primeiro, segundo e terceiro ano respectivamente), rot2 (soja/crotalária, soja/milho+brachiaria e brachiaria, no primeiro, segundo e terceiro ano respectivamente). O nitrogênio mineral (nm) do solo foi quantificado por extração em KCl 1m, seguida de filtragem do sobrenadante de acordo com Keeney/Nelson (1982). O delineamento experimental foi o de blocos casualizados, com quatro repetições. Os sistemas de produção constituíram as parcelas, e os estádios de desenvolvimento as subparcelas. Os dados foram submetidos à análise de variância e feitas comparações das médias pelo teste de Scott-Knott a 5%.

**Resultados.** Houve interação dos sistemas e épocas de amostragem no teor de nm no solo. Os sistemas soja/milho, rot1 e rot2 não diferiam nos teores de nm. Nos sistemas que diferiram quanto ao teor de nitrogênio, o sistema soja/milheto apresentou maior teor de nm do que o soja/pousio.

**Conclusões.** Este resultado pode ser explicado pela capacidade do milho em reciclar o nitrogênio, enquanto que o sistema soja/pousio apresenta baixa quantidade de resíduo devido à pouca deposição de folhas da cultura da soja em senescência, reduzindo a decomposição e liberação de nitrato pela microbiota do solo.

### TLP-252. Dinámica de la comunidad microbiana durante la puesta en marcha de un digestor anaerobio

Mellado Mallea\*, Estela Tapia\*, Gonzalo Ruiz\*, Rolando Chamy\*

\*Pontificia Universidad Católica de Valparaiso Chile, Macarena.

**Introducción.** La puesta en marcha de un digestor anaerobio es una etapa importante en el establecimiento de la estructura de la comunidad, que se caracteriza por la variación en la producción de metano. Siendo escasa la bibliografía que describa la microbiología del proceso. Objetivo. Determinar el dinamismo de la comunidad microbiana durante la puesta en marcha de un reactor metanogénico.

**Materiales y métodos.** Se estudió un digestor metanogénico mesofílico alimentado con lodo mixto, monitoreando la producción de biogás, porcentaje de metano del caudal y los sólidos suspendidos volátiles (biomasa), junto con otros parámetros fisicoquímicos. Se extrajo ADN a partir de muestras de lodo de los días de operación 0, 13, 25 y 50, a partir del cual se amplificó el gen 16s de microorganismos del dominio bacteria y archaea. Los productos de la amplificación fueron analizados mediante DGGE.

**Resultados.** Al día treinta de operación se logró el estado estacionario, observando un 50% de metano en el biogás, una productividad 140 mg

metano día<sup>-1</sup> y una biomasa que aumentó de 9 a 13 g/l. En el perfil electroforético del dominio bacteria, en el día cero de operación se observaron 7 haplotipos que se mantuvieron hasta el período donde se logró la estabilidad del proceso. Mientras que al día 50 aumentaron a 13, lo que indicaría la dinámica del proceso. En este momento se está analizando los microorganismos del dominio archaea. Donde dichos resultados se complementarán con la cuantificación de genes funcionales para determinar la variación de diferentes poblaciones microbianas a lo largo del proceso.

**Conclusiones.** El aumento en el número de haplotipos del dominio bacteria para lograr la estabilidad de un digestor metanogénico, indicaría que el proceso es dinámico, con microorganismos que se mantienen en el tiempo y otros que su presencia es variable.

### TLP-253. Uso de la espectroscopía fotoacústica para la diferenciación rápida de cepas de *Lactobacillus*

Juan Pablo Inostroza\*, Renato Saavedra\*,  
Apolinaria García\*, Jorge Yañez\*, Daniel Faúndez\*

\*Universidad de Concepción Chile.

**Introducción.** La diferenciación microbiana directa en la industria alimentaria es una herramienta esencial para la seguridad y calidad. Los métodos convencionales dependen de pruebas bioquímicas y serológicas específicas que toman varios días. En la última década la espectroscopía infrarroja con transformada de fourier (FTIR) de materiales biológicos, se ha convertido en una técnica rápida y precisa ampliamente utilizada que proporciona información característica de la composición química y su estructura molecular. El objetivo de este trabajo es explorar las ventajas de espectroscopía fotoacústica con FTIR (FTIR-PAS), combinado con análisis multivariado de componentes, para la caracterización y diferenciación de cultivos de bacterias ácido lácticas (bal).

**Materiales y métodos.** Se utilizaron cepas puras de *L. rhamnosus*, *L. salivarius*, *L. acidophilus*, *L. jhonnsoni*, *L. plantarum* y *L. casei* aislados de biopsias gástricas, y mantenidas en cepario. Cada cepa fue identificada mediante PCR. Cada cepa fue cultivada (medio mrs Difco™, 48 h, 37°C, 10% CO<sub>2</sub>, duplicado), liofilizada (liofilizador scientz 18n, -70ac, 13 pa, 48hr) y almacenada a -20°C hasta la lectura. Los espectrogramas fueron obtenidos con un equipo thermo-nicolet nexus 470 (rango 3500 y 700 cm<sup>-1</sup>, resolución 8 cm<sup>-1</sup>, 50 scans, triplicado) combinado con un detector fotoacústico mtec-300. La exploración de las diferencias espectrales entre especies se llevó a cabo mediante el preprocesamiento numérico y análisis de componentes principales (pca) en el entorno de análisis estadístico r.

**Resultados.** Cada espectrograma muestra diferentes bandas asociadas con grupos funcionales específicos de los diferentes componentes de los microorganismos. El pca permite la diferenciación de muestras ciegas de cada cepa ensayada. Los gráficos de loadings revelan las bandas espectrales que más contribuyen a la clasificación.

**Conclusiones.** La metodología aplicada establece ftir-pas como una alternativa, rápida, sencilla y no destructiva para la discriminación de cepas de bal en muestras liofilizadas.

### TLP-254. Detección molecular de comunidades bacterianas asociadas a la fermentación húmeda del café

Natalia Gil Jaramillo\*, Gloria Ester Cadavid R.\*,  
Magally Romero-Tabarez\*, Claudia Ximena Moreno H.\*

\*Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín, Colombia.

**Introducción.** La producción del café implica el procesamiento de los frutos mediante alguno de los métodos utilizados: procesado en seco, semi-seco y húmedo; este último es empleado en Colombia y consiste en la remoción mecánica de la pulpa y el mucílago para después fermentar los granos en tanques con grandes volúmenes de agua. Se ha reportado previamente que las comunidades bacterianas presentes en el proceso, afectan la calidad, el aroma y el sabor del café, pero poco se ha estudiado este suceso en Colombia. Objetivo: detectar molecularmente las comunidades bacterianas asociadas a la fermentación húmeda del café.

**Materiales y métodos.** Fueron estudiadas, mediante métodos cultivo dependientes, las comunidades bacterianas presentes en la fermentación húmeda de granos de café de tres fincas localizadas en el departamento de Antioquia (Fredonia, Venecia y Las Lomas), estableciendo su

evolución entre el inicio del proceso y 24 h después. Estos estudios fueron realizados a través de la comparación de perfiles de ITS y TTGE 16s ADNr.

**Resultados.** A partir de los patrones de ITS obtenidos, puede observarse que existen diferencias entre las poblaciones bacterianas de las tres localidades estudiadas; además puede verse una mayor diversidad poblacional en la región de las lomas, aunque no existen muchas diferencias entre las muestras tomadas en diferentes tiempos. En el análisis TTGE de los productos de pcr 16s-GC, se obtuvieron bandas diferenciadas para cada una de las muestras, las cuales fueron seleccionadas para ser escindidas, eluidas, purificadas y secuenciadas. La identificación molecular parcial revela la presencia de *Leuconostoc fallax*, *Paenibacillus* sp. y *Salmonella* sp.

**Conclusiones.** Estos resultados proporcionan mayor conocimiento de las comunidades bacterianas asociadas a la fermentación húmeda de café en Colombia, que puede ser utilizado para el mejoramiento de la calidad del café o la estandarización del proceso fermentativo para la obtención de productos con características específicas.

### TLP-255. Optimization of culture medium for biodiesel production by *Mortierella isabellina* using glycerin and corn steep liquor residues

Manuela Crisitina Mota L.\*, Adriana Ferreira De S.\*, Jaceline Maria De Negreiros L.\*, Grayce Kelli Barbosa Da S.\*, Roberta Sampaio P.\*, Wolfgang Harand\*, Paulo Henrique Da S.\*, Daniele Gilvanise\*, Daniele Gilvanise De S.\*, Norma Buarque de G.\*, Galba Maria Campos-Takaki\*

\*UFPE - Federal University of Pernambuco Brasil.

**Introduction.** Species of filamentous fungi of the mucorales order are known as oleaginous by naturally accumulate high concentrations of lipids poly-unsaturated ideal for biodiesel. Also, have a rapid growth and adaptation in many different substrates. This work aims to present new alternatives for optimizing the production of high levels of oil for generation of biodiesel from biomass of *M. isabellina* using waste glycerin and corn steep liquor.

**Materials and methods.** The efficiency of oil production was assessed by factorial design (22) using glycerol and corn steep liquor. After this were evaluated the biomass production, total lipids and fatty acids produced after transesterification of microbial oil.

**Results.** The fungal biomass showed a range of 2,3 g/l to 35,7 g/l, where the best result was for the use of 8% of each substrate (glycerin and corn steep liquor). As the production of total lipids, the highest yield was 75,24%, a ratio c/n = 8:2. Characterizing the produced lipid, there was the presence of organic compounds from 8 to 22 carbon atoms, among them the main ester methyl found were palmitic acid (C16:0), linoleic (C18:2), oleic (C18:1) considered as potential sources of biodiesel. The total saturated and unsaturated fame was 57,14% and 42,85%, respectively.

**Conclusions.** The biodiesel produced presented good quality, being balanced according to the fame composition. Also, the high proportion of oleic acid (20%) contained in the biodiesel makes it suitable for use in engines. Then, the specie of the fungus *M. isabellina* can be used commercially for the biodiesel production from of glycerin and corn steep liquor residues.

### TLP-256. Identificación de *Lactobacillus* suplementados con selenio mediante espectroscopía fotoacústica y análisis multivariado

Juan Pablo Inostroza\*, Renato Saavedra\*,  
Apolinaria García\*, Jorge Yañez\*, Pablo Henriquez\*

\*CEFOP - Universidad de Concepción Chile.

**Introducción.** Las bacterias ácido lácticas (bal) son ampliamente utilizadas en la industria alimentaria. La suplementación de bal con selenio (se) genera gran interés, considerando sus propiedades antioxidantes, anticancerígenas e inmunoestimulantes. La espectroscopía infrarroja con transformada de fourier (FTIR) ha sido reconocida como un método alternativo, rápido y de alta especificidad, para diferenciar/identificar bacterias a nivel de especie o subespecie. En el presente trabajo se utilizó la espectroscopía fotoacústica FTIR (FTIR-PAS) combinada con análisis multivariado para diferenciar bal suplementadas con diferentes concentraciones.

**Materiales y métodos.** Se estudiaron *Lactobacillus rhamnosus* cepa 25a y *Lactobacillus salivarius* cepa 979c, aislados de biopsias gástricas.

Cada cultivo (medio mrs difco™, 48 h, 37°C, 10%CO<sub>2</sub>, duplicado) fue suplementado con Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> (0, 1, 5 y 10 mg/l), para luego ser liofilizado (liofilizador scientz 18n, -70ac, 13pa, 48hr) y almacenado a -20°C hasta lectura. Los espectrogramas fueron obtenidos con un equipo thermo Nicolet nexus 470 (rango 3500 y 700cm<sup>-1</sup>, resolución 8cm<sup>-1</sup>, 100scans, triplicado) combinado con un detector fotoacústico mtec-300. La exploración de las diferencias espectrales, se realizó mediante el procesamiento numérico, análisis de componentes principales (pca) y mínimos cuadrados parciales (pls) usando el entorno de análisis estadístico r. Paralelamente, la concentración de se de cada cultivo se cuantificó con espectroscopía de absorción atómica.

**Resultados.** El pca permite la diferenciación de los cultivos con distintas concentraciones de se. Los gráficos de loadings indican los grupos funcionales que generan una mayor variación del espectro fotoacústico, permitiendo identificar las bandas que están relacionadas con la presencia de selenio orgánico e inorgánico. El análisis mediante pls, permite relacionar los valores obtenidos de los espectros y la concentración de se, para obtener un análisis cuantitativo mediante análisis espectroscópico.

**Conclusiones.** El reconocimiento de las bandas espectrales mediante FTIR-PAS permite diferenciar las distintas concentraciones de se presentes en los cultivos, permitiendo identificar las formas orgánicas e inorgánicas y las nanopartículas generadas por bal.

### TLP-257. Microbial lipids produced by *Serratia marcescens* UCP/WFCC 1549: a promising potential feedstock for biodiesel production

Dayana Montero R.\*<sup>1</sup>, Rosileide Fontenele Da S.\*<sup>2</sup>, Roberto Albuquerque L.\*<sup>3</sup>, Grayce Kelli Barbosa Da S.\*<sup>4</sup>, Daylin Rubio R.\*<sup>5</sup>, Paulo Henrique Da S.\*<sup>6</sup>, Hélivia Waleska Casullo De A.\*<sup>7</sup>, Galba Maria de Campos-Takaki\*

\*Universidade Federal de Pernambuco, Universidade Católica de Pernambuco, Universidade Estadual da Paraíba Brasil.

**Introduction.** Biodiesel has been becoming one of the most promising biofuels for global fuels market in recent years, due to the depletion of global petroleum and its increasing price. Researchers exploit oleaginous microorganisms as an alternative for biodiesel production. Currently, they are focused on reducing the production costs, and searching waste materials as substrates. The aim of this work was to investigate the potential of *Serratia marcescens* ucp/wfcc 1549 for lipids production using agro-industrial wastes as substrates.

**Materials and methods.** *S. marcescens* was cultured in two media composed by 6% of cassava wastewater and 7.5% of soybean or corn waste frying oils, incubated at 72 h, in orbital shaker at 150 rpm and 28°C. After, the biomass was obtained by filtration, frozen and lyophilized to constant weight. Then, it was subjected to extraction of total lipids with organic solvents and they were quantified by gravimetric method. The identification of the fatty acid methyl esters (fames) generated by the transesterification of total lipids was performed by gas chromatography (GC).

**Results.** In both media the strain exhibited ability to produce total lipids, around 41 to 53% from biomass cultured in medium containing corn waste oil (cwo) or soybean waste oil (swo), respectively. Analyses by GC revealed the presence of 79% and 65% of unsaturated organic compounds for each medium, respectively. The major fames found were esters of oleic acid (C18:1), palmitic acid (C16:0), and linoleic acid (C18:2), which is in according with the standards described to biodiesel.

**Conclusions.** The results obtained suggest *S. marcescens* ucp/wfcc 1549 as a potential feedstock for good quality biodiesel production. Also, they indicate that cassava wastewater and vegetable waste oils are suitable feedstock for microbial lipids production.

### TLP-258. Producción de polihidroxicanoatos (PHA) por *Halomonas* sp. Hg01 a partir diferentes fuentes de carbono y ácido propiónico

Diana Carolina Tusso P.\*

\*Universidade de Sao Paulo Brasil.

**Introducción.** Polihidroxicanoatos (PHA) son polímeros acumulados intercelularmente por una amplia variedad de bacterias como reserva de carbono y energía. El objetivo de este trabajo fue evaluar la producción de PHA a partir de diferentes fuentes de carbono y ácido propiónico utilizando una bacteria halófila *Halomonas* sp. Hg01.

**Materiales y métodos.** *Halomonas* sp. Hg01 fue cultivada en frascos agitados conteniendo medio mineral (100 g/l de NaCl) suministrado con 10 g/l de glucosa, sacarosa, fructosa, lactosa, xilosa o glicerol y 1 g/l de ácido propiónico e incubado a 30°C y 150 rpm.

**Resultados.** Cuando glucosa y sacarosa fueron utilizadas como únicas fuentes de carbono, valores similares fueron alcanzados en, peso seco celular (4,77 g/l y 4,75 g/l, respectivamente), concentración (4,08 g/l y 3,98 g/l, respectivamente) y contenido (86% y 84%, respectivamente) de PHA, después de 72 h de cultivo. Los valores decrecieron cuando fructosa fue utilizada como fuente de carbono, alcanzando valores en, peso seco celular, concentración y contenido de PHA de 3,31 g/l, 2,27 g/l y 69% respectivamente. El monómero detectado fue siempre 3-hidroxibutirato (3hb). Entretanto, cuando la bacteria fue cultivada con lactosa, xilosa o glicerol, el crecimiento bacteriano fue insignificante. *Halomonas* sp. Hg01 acumulo hasta un 69% de poli- $\alpha$ -hidrobutirato-co- $\alpha$ -hidroxivalerato p(hv-co-hv) conteniendo 1,27 moles % de hv, cuando la bacteria fue cultivada con glucosa y 1 g/l de ácido propiónico.

**Conclusiones.** Fuentes de carbono baratas pueden ser utilizadas para la producción de PHA por *Halomonas* sp. Hg01 con un alto contenido de polímero. La producción de PHA por *Halomonas* sp. Hg01 usando carbohidratos derivados de la caña de azúcar pueden reducir los costos de producción así como el alto contenido de sal evitaría la contaminación del cultivo llevando al uso de un simple diseño de biorreactor.

### TLP-259. Recombinant *Pichia pastoris* auxotrophic for leucine: a new host strain for expression vectors

Maritza Ocampo B.\*<sup>1</sup>, Viviane Castelo Branco R.\*<sup>2</sup>, Lidia Maria Pepe De M.\*<sup>3</sup>, Fernando Araripe Gonçalves T.\*<sup>4</sup>

\*Universidade de Brasília Brasil.

**Introduction.** Despite the wide use of *Pichia pastoris* as expression system there are few selectable markers available for its genetic manipulation. The limited number of markers restricts the construction of strains with more than one recombinant modification. The aim of this study was to interrupt the Leu2 gene in the *P. pastoris* genome to generate a strain auxotrophic for leucine which could be used as host for vectors carrying the Leu2 gene as selectable marker.

**Materials and methods.** The disruption was achieved transforming the yeast with an expression cassette that contained the kanr (kanamycin/g418 resistance) gene flanked by regions from the Leu2 gene to promote homologous recombination at that locus in the genome. To construct that deletion cassette the cloned Leu2 gene had an excised fragment of approximately 400 bp which was substituted by the expression cassette flanked by loxp sequences. After transformation and selection of auxotrophic mutants the dominant marker was removed transforming the yeast with a vector carrying the gene that codes for the cre protein that catalyzes the recombination between loxp sequences. To test the new strain, it was constructed a vector (PGFP-L2) containing EGFP as a reporter gene and the Leu2 gene as a selectable marker.

**Results.** A *P. pastoris* strain auxotrophic for leucine was obtained by the disruption of the Leu2 gene with a marker that confers resistance to g418. The dominant marker was successfully removed to obtain a strain with no resistance genes that could be used at the industrial level. This strain was successfully transformed with a vector containing the gene EGFP and the Leu2 marker retrieving the prototrophy and demonstrating the ability of the yeast to produce intracellular green fluorescent protein.

**Conclusions.** Transformation of *P. pastoris* Leu2 with PGFP-L2 vector confirmed the recovery of the prototrophy and the ability of the yeast to produce the intracellular heterologous protein.

### TLP-260. La enzima mercurio reductasa aislada de muestras ambientales exhibe actividad telurito reductasa *in vitro*

Waldo Andrés Díaz V.\*<sup>1</sup>, Pablo Roberto Muñoz D.\*<sup>2</sup>, Fernanda Jimena Rodríguez R.\*<sup>3</sup>, Felipe Alejandro Arenas S.\*<sup>4</sup>, Claudio Christian Vásquez G.\*<sup>5</sup>

Universidad de Santiago de Chile, Chile.

**Introducción.** RI Teo<sup>3+2</sup> y el Hg<sup>2+</sup> son muy tóxicos para las bacterias provocando depleción de tioles y generando especies reactivas de oxígeno, entre otros daños. Algunas enzimas, como algunas flavoproteínas, han mostrado la habilidad de reducir diversas sales de metal(oid)es como telurito,

selenio y de cobre a intermediarios menos tóxicos. Bacterias ambientales resistentes a hg poseen el operón *merTpgcabde*, donde la enzima mercurio reductasa (mera) reduce el  $Hg^{2+}$  a  $Hg^0$  utilizando NADPH como cofactor. Análisis in silico mostraron que mera presenta un dominio estructural común en su sitio activo con otras flavoproteínas donde se ha descrito actividad reductora de  $teo^{3-}$  como la glutatión reductasa y la piruvato deshidrogenasa, sugiriendo que mera podría ser una potencial enzima con actividad reductora de telurito. Los objetivos son determinar la actividad telurito reductasa de mera aislada de bacterias ambientales. Determinar la actividad de mera y la expresión relativa de mera en células expuestas a concentraciones subletales de  $Hg^{2+}$ ,  $Teo^{3-}$  y la mezcla de ambos tóxicos.

**Materiales y métodos.** Mera fue clonada a partir del plasmidio *ptp6* y de muestras ambientales provenientes de la Antártica (cepas ATH) en un vector de expresión. Mera fue purificada y su actividad mercurio reductasa y telurito reductasa fue evaluada *in vitro*. La actividad *in situ* de mera en células también fue determinada utilizando films de rayos x. Finalmente, la expresión relativa de mera en cepas ath fue determinada por QPCR en presencia de  $Hg^{2+}$ ,  $Teo^{3-}$  y la mezcla de los tóxicos.

**Resultados.** Mera presentó actividad reductora de telurito *in vitro* en presencia de NADPH y NADH; la actividad determinada *in situ* mostró que la cepa ath-43 posee la mayor actividad.

**Conclusiones.** Mera corresponde a una enzima con actividad reductora de telurito presente en aislados ambientales, cuya expresión varía frente a la exposición a  $Hg^{2+}$ ,  $Teo^{3-}$ . Financiamiento: fondecyt regular 1130362, fondecyt postdoctorado 3120049.

### TLP-261. Avaliação de diferentes fatores na produção de celulasas por fungos filamentosos da Antártica

Vitor Hugo Mallagutti\*, Lara Durães Sette\*

\*Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) - Rio Claro Brasil.

**Introdução.** O continente antártico vem demonstrando ser um ambiente promissor na busca de novos recursos genéticos microbianos capazes de produzir enzimas a baixas/médias temperaturas. Avaliar a influência de diferentes fatores na produção de celulasas por dois fungos filamentosos (isolados I1-1 e e5b) recuperados de amostras de líquen e estrela do mar da Antártica visando otimização e escalonamento do processo de produção.

**Materiais e métodos.** O fungos I1-1 e e5b previamente selecionados devido ao potencial celulolítico, foram submetidos a um primeiro delineamento experimental do tipo Plackett&Burman, contendo 8 variáveis e totalizando 16 ensaios, incluindo 4 pontos centrais. A quantificação da celulase foi realizada pelo método do ácido dinitrosalicílico (ADNs).

**Resultados.** Previamente à aplicação do planejamento experimental, a agitação e a temperatura foram estudadas e fixadas em 150 rpm e 20°C para os dois isolados. Inicialmente os fungos e5b e I1-1 apresentaram produção de celulasas de 0,233 u/mL e 0,342 u/mL, respectivamente (antes da aplicação do desenho experimental). Após a aplicação do primeiro pb, a produção de celulase teve um aumento de 4 (0,977 u/mL) e 2 (0,788 u/mL) vezes o valor inicial, para os fungos e5b e I1-1, respectivamente.

**Conclusões.** Os resultados do primeiro pb são promissores e a expectativa é que os valores continuem aumentando com o andamento do planejamento experimental. O melhor isolado será selecionado para os experimentos subsequentes de otimização e escalonamento da produção da celulase a baixas/médias temperaturas.

### TLP-262. Caracterização do biossurfactante produzido por *Candida glabrata* (ucp 1556): ácidos graxos da região hidrofóbica e carga iônica da região hidrofílica

Roberto Albuquerque L.\*, Rosileide Fontenele S. Andrade\*, Dayana Montero R.\*, Ednaldo Ramos S.\*, Dafne Luana Ramos R.\*, Galba Maria Campos-Takaki\*

\*Universidade Federal de Pernambuco Brasil.

**Introdução.** Biossurfactantes são um grupo de estruturas moleculares com diversas propriedades, capazes de reduzir a tensão superficial e interfacial entre líquidos, sólidos e gases, e possui habilidade para misturar e dispersar substratos insolúveis em soluções aquosas, são moléculas anfipáticas compostas de uma parte hidrofóbica e uma parte hidrofílica, têm frequentemente uma cadeia de hidrocarbonetos na porção apolar, enquanto a porção polar pode ser iônica, aniônica, catiônica e não iônica ou

anfotérica. Este trabalho teve como objetivo identificar os ácidos graxos e a carga iônica do biossurfactante produzido por *Candida glabrata* (ucp 1556) em meio a base de resíduos agroindustriais (soro do leite e milhoquina).

**Materiais e métodos.** O biossurfactante produzido por *C. glabrata* (ucp 1556) em meio constituído por 40% soro de leite e 20% milhoquina, após 72 h de cultivo, 150 rpm e 28°C foi isolado do líquido metabólico utilizando acetona na proporção de 1:1. A identificação dos ácidos graxos constituintes da região hidrofóbica do biossurfactante foi realizada por cromatografia gasosa (CG) após a conversão para ésteres metílicos e a determinação da carga iônica da região hidrofílica do biossurfactante foi realizada pelo potencial zeta.

**Resultados.** O biossurfactante produzido por *C. glabrata* (ucp 1556) em meio a base de resíduos agroindustriais (soro de leite e milhoquina), possui carga aniônica na região hidrofílica e constituição na região hidrofóbica em ácidos graxos de: c16:0 (33,6%) como o principal constituinte e C8:0 (4,1%), C18:0 (28,4%), C18:1 (22,6%) e C18:2 (5,7%) em menores quantidades.

**Conclusões.** *C. glabrata* (ucp 1556) apresentou habilidade em metabolizar os nutrientes dos resíduos agroindustriais (soro de leite e milhoquina) e produzir biotecnologicamente um biossurfactante aniônico com consideráveis quantidades de ácidos graxos, com destaque para o ácido palmítico.

### TLP-263. Evaluation of the profile of fatty acids produced by *Cunninghamella echinulata* cultivated on agro-industrial wastes, aiming to the production of biodiesel

Adriana Ferreira De S.\*, Manuela Cristina Mota L.\*, Marcos Antônio Cavalcante L.\*, Roberta Sampaio P.\*, Wolfgang Harand\*, Jaeline Maria Negreiros L.\*, Daniele Gilvanise De S.\*, Grayce Kelli Barros\*, Galba Maria Campos-Takaki\*

\*UFPE - Federal University of Pernambuco Brasil.

**Introduction.** Due to the gradual depletion of oil, an alternative fuel that has been studied is the biodiesel. Several researches are being directed to the exploitation microorganisms grown in waste substrates, aiming to be a low cost alternative for the production of biodiesel. Objective: to evaluate the potential of *Cunninghamella echinulata* isolated from soil of Caatinga, PE-Brazil, for the production of biodiesel production using agroindustrial wastes as substrates.

**Materials and methods.** The *Cunninghamella echinulata* was grown on residual glycerol from biodiesel, cotton oil and corn steep liquor at concentrations 2%, 4% and 8% respectively, during 96 h of culture at 150 rpm and 28°C, the biomass produced were lyophilized and subjected to total lipid extraction process through the use of organic solvents and quantified gravimetrically. The identification of the methyl generated by methylation of the total lipid and fatty acid esters was done by gas chromatography.

**Results.** The best condition for biomass production and total lipids was the condition of glycerin and corn steep liquor 8%, 12,48 g/l biomass and 69.1% of total lipids and 65.62% unsaturated fatty acids, being the main synthesized oleic acid (64.0%), 31.59% and 2.53% of saturated to polyunsaturates. The GC analysis showed that the culture medium with 2% glycerine and corn steep liquor, favored the production of polyunsaturated fatty acids (46.42%) and, as the culture medium composed of 4% of waste, 55.55% of polyunsaturates.

**Conclusions.** The result of the profile of fatty acids produced by *C. echinulata* in culture medium with glycerin and corn steep liquor concentration of 8% has the potential to produce biodiesel and provides stability to higher than soybean and sunflower oil oxidation. This is due to the presence in higher percentage of oleic acid.

### TLP-264. Biosurfactant production by filamentous fungi *Cunninghamella elegans* ucp 0596 in medium supplemented with agroindustrial wastes

Daniele Gilvanise De S.\*, Yuri Max Da França S.\*, Davi De Lima C.\*, Manuela Cristina Mota L.\*, Grayce Kelli Barbosa Da S.\*, Adriana Ferreira De Souza\*, Paulo Henrique Da Silva\*, Galba Maria Campos T.\*

\*Catholic University of Pernambuco - UNICAP / PE Brasil.

**Introduction.** Biosurfactants are metabolites of microbial origin that have surface-active properties and have high emulsifying capacity. Several investments are being made in the production of biosurfactants in media containing substrates from renewable sources with the aim of



reduce the production costs. Evaluate the potential of filamentous fungi *Cunninghamella elegans* biosurfactant-producing in low cost medium.

**Materials and methods.** The biosurfactant was produced by submerged fermentation using a inorganic salt media (ism), supplemented with renewable resources corn steep liquor (csl) and waste frying soybean oil (wso) as sources of carbon and nitrogen. The production was carried out using 200 mL of culture medium, pH 5.5 with 1% inoculum maintained at 150 rpm for 96 h at 28°C. A factorial design  $2^2$  was used with 12 assays to evaluate the optimal condition for the biosurfactant production.

**Results.** The biosurfactant produced by *C. elegans* ucp 596 was able to reduce the surface tension of water from 72 mn/m-1 to 29.9 mn/m-1 in condition (2.15% csl and 2.75% of wso), and high emulsification index of 90, 0% using motor oil burned in condition (2.15% csl and 2.75% of wso).

**Conclusions.** The biosurfactant produced in the conditions evaluated in this study showed applicability as a surface-active agent and it can act as an excellent emulsifier. Future studies should be considered.

### TLP-265. Extraction of natural colorants produced by submerged culture of filamentous fungi using peg6000/NAPA8000/MCLLVAIN buffer system

Valéria Carvalho Santos-Ebinuma\*, André Moreni L.\*,  
Maria Francisca Simas T.\*, Adalberto Pessoa J.\*

\*Department of Bioprocess and Biotechnology, School of Pharmaceutical Sciences, UNESP-Univ. Estadual Paulista Araraquara, Brasil.

**Introduction.** Safety concerns, related to the increasing application of synthetic coloring agents, have generated an increased demand for natural colorants. Fungi have been employed to produce novel and safer colorants. In order to obtain the colorants from fermented broth, suitable extraction systems must be developed. Aqueous two-phase polymer systems (ATPPS) can offer favorable chemical environment and provides a powerful alternative to extract and solubilize these molecules. The aim of this study was to investigate the partitioning of red colorant (RC) from fermented broth (FB) of *Penicillium purpurogenum* in atpps composed of poly(ethylene glycol) (peg) 6000 g/mol and sodium polyacrylate (NAPA) 8000 at different salts (NaCl and  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  at 0.1 and 0.5m).

**Materials and methods.** The ATPPS was formed by mixing both polymers, fb and salt solution. The following conditions was studied (w/w): 16% peg/6% NAPA, 14% peg/8% NAPA, 12% peg/10% NAPA, 10% peg/12% NAPA and 8% peg/14% NAPA with both salt and concentration. The presence of rc in each phase was evaluated through the measurement of the absorbance at 490 nm. The extraction parameters investigated was: partition coefficient (kc), yield in the peg phase (%atop) and mass balance (%mb).

**Results.** Red colorants partitioned preferentially to top, peg rich phase. The best results of colorants kc were obtained with peg 6,000 g/mol and NaCl 0.1 m, specifically 13,06, with 12% (w/w) of each polymer. The mb and atop were close to 100% and 90%, respectively. The results suggest that the red colorants partitioning can be dependent of salt type.

**Conclusions.** The results obtained in this work demonstrate the applicability of atpps as the first purification step in biotechnology processes to obtain natural colorants from fungi microorganisms.

### TLP-266. Evaluación de algunos parámetros zootécnicos en pollos de engorde de la línea Ross X Ross, suplementados con bacterias probióticas y levaduras

Luz Adriana Gutierrez R.\*, Oswaldo Bedoya\*,  
Sebastian Seguro\*, Juan Esteban Arenas\*

\*Corporación Universitaria Lasallista, Colombia.

**Introducción.** Las altas densidades de animales en los sistemas actuales de producción pecuaria, han mejorado la eficiencia productiva por unidad de área, pero han disminuido la eficiencia por animal, consecuencia de las condiciones de confinamiento que aumentan el estrés, suprimen el sistema inmune la aparición y favorecen la aparición de enfermedades, disminuyendo los parámetros productivos. Una solución a estos problemas es la suplementación con probióticos; los múltiples beneficios que estos generan, favorecen directamente la salud y el bienestar animal. En este trabajo se evaluó algunos parámetros zootécnicos como peso y ganancia de peso en pollos de la línea ross x ross, suplementados con *Lactococcus lactis*, *Bacillus clausii* y *Sacharomyces cerevisiae*.

**Materiales y métodos.** El ensayo se realizó en 114 pollos, distribuidos en dos tratamientos cada uno con 57 pollos, en el tratamiento 1 o t1, los pollos fueron alimentados con 50% de concentrado y 50% maíz extruido, sin probiótico, los pollos del tratamiento 2 o t2 fue alimentado con 50% de alimento comercial, 50% maíz extruido y microorganismos probióticos. Estos se suministraban en el agua de consumo los días 10, 20, 30 de a una concentración aproximada de  $1 \times 10^6$  De cada microorganismo, en una proporción de 2 mL/g de alimento, los pesajes de los animales se realizaban los días 9, 25 y 42. Los resultados se tabularon y se analizaron en el programa Statgraphics centurion xv, mediante un diseño unifactorial con un nivel de confianza del 95% y  $p < 0,05$ .

**Resultados.** Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos tratamientos, tanto los pesos como en la ganancia de peso. Los datos sugieren que los pollos suplementados con probióticos al día 42 del experimento mostraron pesos mayores al experimento control, además no presentaron susceptibilidad a infecciones, ni muertes.

**Conclusiones.** Los resultados indicaron que los consorcios microbianos promueven la salud intestinal del animal reflejándose en el mejoramiento de sus parámetros zootécnicos.

### TLP-267. Determinación de la presencia de bacterias ácido-lácticas en cervezas obtenidas en el mercado chileno

Carolina Herrera\*, Silvia Rojas\*, Mario Aranda\*, Apolinaria García\*

Universidad de Concepción Chile.

**Introducción.** La cerveza es un bebestible ampliamente consumido por la población mundial por lo que es necesario asegurar la ausencia de agentes que puedan afectar su calidad como las bacterias ácido-lácticas (bal), que pueden deteriorarla y producir sustancias tóxicas como aminas biógenas. Evaluar la presencia de bal en cervezas embotelladas y durante el proceso de producción de cerveza artesanal.

**Materiales y métodos.** A muestras de 20 cervezas del mercado chileno, 8 industriales y 12 artesanales, se les analizó la presencia de bal. La presencia de bal se realizó mediante cultivo en medios selectivos y PCR con primers específicos para este grupo bacteriano. Además, se estudió la presencia de bal en materia prima, macerado, cocción, fermentación, maduración y producto final de cervezas artesanales negra y rubia.

**Resultados.** Mediante cultivo se detectó la presencia de bal en una de las cervezas artesanales, mientras que por pcr se detectó en el 88% de las cervezas industriales y el 58% de las artesanales. En cerveza negra se encontró bal en materia prima, maceración, fermentación, maduración y producto final, pero no al final del proceso de cocción, mientras que en cerveza rubia se encontró bal en materia prima y en las etapas posteriores a la cocción.

**Conclusiones.** Se detectó la presencia de bal en mayor número de cervezas por método molecular, lo cual puede deberse a la pasteurización que experimentan muchas cervezas. Las bal presentes en la materia prima pierden viabilidad durante la cocción, pero son cultivables nuevamente desde la etapa de fermentación. Financiamiento: proyectos fondecyt id 1131080 e innova bio bio 13.3423.

### TLP-268. Genetic modifications in *Clostridium acetobutylicum* strain to increase the industrial production of alcohols

Myrna Gomes\*, Luiz André Schlittler\*, Fernando Araripe\*

\*Universidade de Brasília Brasil.

**Introduction.** In recent years, the genus *Clostridium* has risen to the forefront of industrial biotechnology owing to its potential in production of commodity chemicals and biofuels. These microorganisms are capable to produce acetone, butanol and ethanol. Since acetone cannot be used as a biofuel, its production needs to be suppressed. Thus, there have been attempts to disrupt or inactivate the acetone formation pathway, converting acetone to isopropanol by metabolic engineering. The metabolic engineering in *Clostridium acetobutylicum* is particularly difficult since their pathways have not been totally elucidated and their regulatory system is unknown. Also the existence of the restriction and modification (rm) systems do not allow the host to accept the unmethylated DNA efficiently. Different strategies are employed in the metabolic engineering of clostridia that aim to enhancing solvent production, improve selectivity for butanol production, and increase the

tolerance of clostridia to solvents. In this work, genetic modifications in *C. acetobutylicum* will be tested to improve the production of biofuel.

**Materials and methods.** For this propose an *Escherichia coli* k12 strain have been modified with integration of methylase gene using recombinering  $\alpha$ -red system. Methylated DNA was tested by digestion with *fnu4hi* (isoschizomer of *cac184*). For clostridia genetic engineering, targeton gene knockout system (sigma-aldrich) will be used to deletion of two genes responsible for the formation of acids in acidogenic pathway (acetic and butyric acid) and the integration of *sadh* gene will be performed by recombinering technics.

**Results.** The *E. coli* strains were tested for methylation in foreign DNA. A strain of *C. acetobutylicum* producing isopropanol, butanol and ethanol in a ratio greater than 30 mg/mL is an expect results.

**Conclusions.** This study will provide a combined strategy for enhancing biofuel production in *C. acetobutylicum*.

### TLP-269. Glucose- and xylose-stimulated $\alpha$ -glucosidase from *Humicola insolens* RP86: expression in *Pichia pastoris*, purification and biochemical characterization

Luana Parras M.\*, Luana Parras M.\*, Ana Lúcia Latorre Z.\*, Ana Lúcia Latorre Z.\*, Jorge Atílio J.\*, Jorge Atílio Jorge\*, Richard John Ward\*, Richard John Ward\*, Rosa Dos Prazeres M.\*

\*Universidade de São Paulo Brasil.

**Introduction.** Glucose-stimulated  $\alpha$ -glucosidases are highly interesting for bioethanol production processes. The *bgli* gene from *H. insolens* rp86, encoding a glucose- and xylose-stimulated  $\alpha$ -glucosidase with high catalytic efficiency for cellobiose hydrolysis, was subcloned and expressed in *P. pastoris* (BGLHIPP).

**Materials and methods.** The enzymatic activity was assayed in 50 mmol.l<sup>-1</sup> bis-tris buffer, pH 6.0, containing the substrate. BGLHI was subcloned in the PPIC9KF1CT vector; the best expression condition was liquid medium containing yeast nitrogen base (3.4 g.l<sup>-1</sup>), biotin (4.10-4 g.l<sup>-1</sup>) and peptone (20 g.l<sup>-1</sup>), in 100 mmol.l<sup>-1</sup> potassium phosphate buffer, pH 6.0. The expression was followed during 12 days with the addition of metanol (1%, v/v) every 24 h.

**Results.** BGLHIPP (60.1 kda in SDS-page) was soluble and showed broad substrate specificity. Optima of pH and temperature were 5.5–6.5 and 55ac respectively; the enzyme was stable for 1 h at 45ac and at pH 4.5-8.0 after 24 h at 4°C. The hydrolysis of p-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (PNP-GLC) by *bgli* was stimulated 1.9-fold by 50 mmol.l<sup>-1</sup> glucose or 80-150 mmol.l<sup>-1</sup> xylose. Moreover, the activity was above controls up to 300 mmol.l<sup>-1</sup> glucose or 750 mmol.l<sup>-1</sup> xylose. Cellobiose and PNP-GLC were hydrolyzed with *vmax* values of 98.4  $\pm$  3.9 u.mg<sup>-1</sup> and 38.9  $\pm$  1.9 u.mg<sup>-1</sup>, respectively, but a 1.9-fold lower *km* was estimated for PNP-GLC (0.17  $\pm$  0.01 mmol.l<sup>-1</sup>), compared to cellobiose.

**Conclusions.** The gene BGLHI was previously expressed in *Escherichia coli*, *Aspergillus oryzae* and *Saccharomyces cerevisiae* and important biochemical and kinetic differences were observed between the enzymes expressed in different hosts, which may be attributed to different patterns of glycosylation.

### TLP-270. Inhibition of *Staphylococcus aureus* in beef hamburger by chitosan

Michelle Galindo De O.\*, Carla Bismarck L.\*, Jamilly Muniz De O.\*, Roberta Albuquerque B.\*, Tânia Lúcia Montenegro S.\*, Thayza Christina Montenegro S.\*

\*University Federal of Pernambuco Brasil.

**Introduction.** The hamburger is a meat product widely consumed worldwide due, their sensory characteristics, low cost and practicality. However, the nutritional properties of meat are a contributing factor to the development of pathogenic microorganisms such as *Staphylococcus aureus*. In an attempt to reduce levels of chemical additives used in meat products, research into natural compounds is looking for an alternative employment and more suitable preservative. Chitosan is a natural food preservative, and studies have proven its bacteriostatic action in meat products. The present study evaluated the inhibition of *S. aureus* in beef hamburger by chitosan.

**Materials and methods.** The hamburgers were produced in the laboratory; the ingredients were grinded and homogenized until obtaining a smooth batter, in which was added chitosan in the proportion of 2.5

mg/mL and 5.0 mg/mL. The hamburgers (15g EACH), were wrapped in plastic film and stored at freezing at - 20°C. *Staphylococcus aureus* (5x10<sup>8</sup> CFU/mL), were used to infect the hamburger. Chitosan (Sigma) was solubilized in 1% acetic acid (20 mg/mL), with pH adjusted for 5.8. The antimicrobial assays were carried out by microdilution method in muller-hinton broth, and subsequent incubation in selective baird parker agar without substance test, for determine the minimum inhibitory concentration (MIC), and the minimum bactericidal concentration (MBC), respectively. In the hamburgers infected with *S. aureus*, the count of bacteria was performed in the intervals of 0, 1, 5, 10, 15 and 30 days.

**Results.** Chitosan solution demonstrated mic and mbc, respectively of 2.5 mg/mL and 5.0 mg/mL to *S. aureus*. In hamburgers, the presence of chitosan at 5 mg/mL reduced microbial growth (50%) in the samples compared to the hamburger samples without chitosan and with chitosan 2.5 mg/mL (25%).

**Conclusions.** This study demonstrates that chitosan can be a viable alternative for the preservation of hamburgers, and could be used by food industry.

### TLP-271. Caracterización operacional de la bacteria remediadora de mercurio *Cupriavidus metallidurans* MSR33

Guillermo Bravo C.\*, Luis Rojas Araya\*, Myriam Gonzalez\*, Juan Carlos Gentina M.\*, Michael Seeger\*

\*Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental/ Depto. de Química/ Univ. Técnica Federico Santa María, Valparaíso, Chile; Centro de Investigación Tecnológica para la Minería, CICITEM, Antofagasta, Chile.

**Introducción.** El mercurio es un elemento tóxico para los seres vivos. En Chile la minería libera entre 119 y 335 ton año<sup>-1</sup> a suelos. Las regiones de Coquimbo, Valparaíso, O'Higgins y Aysen presentan una elevada producción agrícola y podrían ser afectadas por la contaminación de mercurio. La biorremediación de mercurio se basa en la reducción del Hg<sup>2+</sup> a Hg<sup>0</sup> mediante bacterias resistentes al metal. *Cupriavidus metallidurans* cepa msr33 es una bacteria metabólicamente modificada resistente a metales pesados, que posee resistencia a mercurio y compuestos organomercuriales. La cepa MSR33 en el nivel de laboratorio ha mostrando una alta capacidad de remoción de mercurio desde soluciones y lodos contaminados. Con el objetivo de generar una nueva tecnología de biorremediación de suelos ex-situ, se procedió a caracterizar la cepa msr33 para su producción de biomasa en un biorreactor.

**Materiales y métodos.** Se formuló un nuevo medio de cultivo (medio GBC) limitando por la fuente de carbono y energía el crecimiento y se evaluó los parámetros: velocidad específica de crecimiento, tasa de consumo de oxígeno, rendimiento celular y productividad celular. Las experiencias fueron llevadas a cabo en un fermentador phestato de 2 L operado en modalidad de lote a pH 7.25 $\pm$ 0.25, 30°C de temperatura, agitación de 500 $\pm$ 10 rpm y aireación de 2 l/min.

**Resultados.** Se determinó que *Cupriavidus metallidurans* cepa msr33 en medio gbc posee una velocidad específica de crecimiento de 0,42hr<sup>-1</sup>, superior a la reportada en el medio Tris-HCl utilizado para el crecimiento de la cepa msr33, así como una tasa de consumo de oxígeno igual a 122 ppm O<sub>2</sub> h<sup>-1</sup>.

**Conclusiones.** Estos parámetros operacionales constituyen la primera etapa para el desarrollo de una nueva tecnología para la rehabilitación de suelos afectados por procesos industriales mediante biorremediación.

### TLP-272. Optimización de las condiciones de cultivo de una bacteria Antártica: *Shewanella* sp., con perspectivas a promover el desarrollo de nuevas fuentes de lípidos funcionales

Juliana Bruzzone\*, Laura Camesasca\*, Veronica Saravia\*, Guadalupe Martinez\*, Laura Olazabal\*, Lyliam Loperena\*

\*Facultad de Ingeniería (UDELAR) Depto. de Bioingeniería Uruguay.

**Introducción.** Son ya conocidos los beneficios proporcionados por los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), particularmente los del tipo omega 3 ( $\omega$ 3), como el ácido eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA), a la salud humana. Se incorporan principalmente a través del consumo de pescado y mariscos, los cuales son ricos en  $\omega$ 3. La pesca y acuicultura no satisfacen la creciente demanda en  $\omega$ 3, los peces al igual que los seres humanos, no los producen, los acumulan de su dieta al ingerir microorganismos marinos (productores primarios de epa

y DHA). En la actualidad, más de 10<sup>6</sup> toneladas de aceite de pescado son producidas anualmente, de las cuales, un 90% se utilizan para la acuicultura (Petrie y Singh 2011; Sijtsma *et al.* 2004; Wijesundera *et al.* 2011). Estudios desarrollados en bacterias psicrófilas de origen marino provenientes de la Antártida han demostrado que una alta proporción de sus ácidos grasos son AGPI y que algunas de estas bacterias poseen la propiedad de síntesis de EPA y/o DHA como estrategia de adaptación a las condiciones extremas de dicho ecosistema (Nichols *et al.* 1993; Nogi 2011; Russell & Nichols 1999). Optimizar la producción de epa de una cepa de *Shewanella* sp. aislada en la isla Rey Jorge, Antártida.

**Materiales y métodos.** Tomándose como referencia el medio marino modificado, se evaluaron un rango de temperaturas entre 10 y 30°C, pH entre 6 y 9 y diferentes fuentes de carbono y nitrógeno (bactopectona, glucosa, fructosa, maltosa, celobiosa, almidón, extracto de levadura y nitrógeno inorgánico).

**Resultados.** La máxima producción obtenida fue de 2.8 mg epa/g de biomasa seca, en las siguientes condiciones: 10°C, pH 6, y como fuente de carbono y nitrógeno, bactopectona y extracto de levadura.

**Conclusiones.** *Shewanella* sp. resultó una cepa promisoría para la producción de AGPI. Se continúan los ensayos a nivel de fermentador a modo de optimizar producción y rendimiento.

### TLP-273. Development of a low-cost culture medium for biomass, chitin and chitosan production by *Cunninghamella elegans*

Lucía Raquel Ramos B.\*, Luciana De Oliveira F.\*, Evandro Leite De S.\*, Thayza Christina Montenegro S.\*, Galba Maria De Campos-Takaki\*

\*Laboratory of Food Microbiology, Center of Health Sciences, Federal University of Paraíba, Brazil. Center of Biology Sciences, Federal Rural University Of Pernambuco, Brazil. Center of Health Sciences, Federal University of Pernambuco, Brasil.

**Introduction.** Chitin and chitosan are natural copolymers consisting of n-acetyl-d-glucosamine and d-glucosamine in varying proportions. These biopolymers show unique properties such biodegradability, biocompatibility and biological activities. The cell wall of the mucorales fungi is an alternative source for simultaneous extraction of chitin and chitosan. The biowaste or some industrial by-products can be used as very economic nutritional sources to grow fungi. This alternative favor the obtaining of these biopolymers with high value added and decrease the total production costs. This study aims to evaluate the production of biomass, chitin and chitosan by *Cunninghamella elegans* using the corn steep liquor (csl) and molasses (mol) as economic culture medium in a factorial design.

**Materials and methods.** *C. elegans* were inoculated in the alternative medium with varying levels of the agroindustrial wastes, csl (2, 5 and 8% v/v) and mol (1, 2.5 and 4% v/v), pH 5.6, 28°C, 96 h, under static conditions. These parameters were varied symmetrically around the central point according to the 22 factorial design. The biomass lyophilized was used to extract the polymers by alkali-acid treatment, and these biopolymers were characterized by infrared spectroscopy.

**Results.** The biomass production was directly proportional to the substrates concentrations since the higher csl and mol concentrations in the condition 4 (8% csl, 4% mol) resulted in the greater biomass production by *C. elegans*, 9.72 g/l. The best yields of chitin (111,12 mg/g) and chitosan (36,38 mg/g) were obtained in the experimental conditions 1 (2% csl, 1% mol) and 2 (2% csl, 4% mol), respectively. The deacetylation degree of chitin and chitosan were 23,46% and 76,79%, respectively.

**Conclusions.** The modification of csl and mol levels can provide optimization to the biomass, chitin and chitosan yields and economy during the fermentation process.

### TLP-274. Aislamiento, identificación, y determinación de capacidades enzimáticas de microorganismos obtenidos a partir de muestras de café en fermentación en el Departamento de Antioquia, Colombia

Lillibeth Chaverro\*, Margarita Agudelo\*, Gloria Ester Cadavid\*, Claudia Ximena Moreno\*, Magally Romero\*

\*Universidad Nacional de Colombia.

**Introducción.** El café se encuentra entre las bebidas más consumidas en el mundo y es uno de los principales productos agrícolas en Co-

lombia, que ha tenido buena aceptación mundial y se ha posicionado entre los mayores productores. Esto motiva al sector cafetero a implementar estrategias para mejorar la calidad de taza. Se hace necesario entonces, analizar rigurosamente todas las etapas del proceso, especialmente la etapa del beneficio donde ocurre la fermentación. Objetivos. Aislar y caracterizar la microbiota presente en granos de café en fermentación, y determinar las capacidades enzimáticas de los microorganismos aislados.

**Materiales y métodos.** Se tomaron muestras de granos de café en diferentes tiempos de fermentación de tres zonas distintas de Antioquia. Los microorganismos fueron aislados por siembra en superficie utilizando seis medios de cultivo distintos. La capacidad de ellos para degradar pectina, cafeína y celulosa, fue evaluada. Los microorganismos relevantes fueron caracterizados macroscópicamente y microscópicamente e identificados molecularmente.

**Resultados.** Se obtuvieron 374 aislados, 301 de ellos evidenciaron morfología compatible con bacterias o levaduras y 73 con hongos. Como resultado de la identificación molecular, se encontraron microorganismos de los géneros *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Candida*, *Pichia*, *Aspergillus* y *Penicillium*. Microorganismos aislados como propios de las zonas fueron *Acetobacter*, *Gluconoacetobacter*, *Gordonia* y *Dietzia*. En total 155 aislamientos exhibieron al menos una de las actividades enzimáticas pectinolítica, celulolítica y cafeinólítica, 58 mostraron las tres actividades, 47 presentaron dos actividades y 50 aislamientos, una de ellas.

**Conclusiones.** Los resultados obtenidos permiten inferir acerca de la presencia de diversos microorganismos no descritos anteriormente para cafés colombianos y que influirían en el proceso de fermentación y calidad de taza. Las actividades enzimáticas exhibidas por los microorganismos se relacionan con la degradación de los sustratos presentes durante la etapa de fermentación del café.

### TLP-275. Characterization and biological activity of a biosurfactant produced by *Aspergillus niger* isolated from the soil of Caatinga, PE, Brazil

Grayce Kelli Barbosa Da S.\*, Dayana Montero R.\*, Fabiolla Carolina Gomes A.\*, Thayse Alves Lima E.\*, Daniele Gilvanise De S.\*, Paulo Henrique Da S.\*, Galba Maria Campos T.\*

\*Universidade Federal de Pernambuco, Brasil.

**Introduction.** Biodegradable surfactants produced by a variety of microorganisms have been a subject of great interest in biotechnology, due to the need for environmental preservation and because they are less toxic and have attractive properties to the industrial market. Characterize the biosurfactant produced by *Aspergillus niger* sis 45-2, isolated from the soil of Caatinga (Pernambuco, Brazil) and study its toxicological effects.

**Materials and methods.** The studies of biosurfactant production were carried out using inorganic salt medium (ism), supplemented with waste frying soybean oil (wso), yeast extract (ye), sodium chloride (sc) and wheat bran (wb). After 96 h of culture, the metabolic liquid was subjected to the extraction process and the biosurfactant was isolated by precipitation method. Then, it was characterized in protein, carbohydrates and lipids contents. The ionic charge was determinate by zeta potential and the fatty acids were characterized by gas chromatography. The phytotoxicity was evaluated in static test involving the seed germination (*Brassica oleracea*) and the toxicity assay was performed with the isolated biosurfactant using the microcrustacean *artemia salina* as bioindicator.

**Results.** The biosurfactant was produced by *A. niger* in the stationary phase of growth, at 96h. The polymeric biosurfactant consisted of lipids (31.5% w/w), carbohydrates (10.8% w/w) and protein (14.8% w/w), anionic charge, cmc of 1.5 (% w/v). The fatty acids composition of the biosurfactant isolated and analyzed by gas chromatography revealed the presence of C16:0 (14.38%), C18:2 (41.51%) and C18:1 (30.54%). The solutions tested for phytotoxicity assays showed germination index greater than 80% and with the toxicity bioassay using *artemia salina*, the biosurfactant demonstrated Id 50 of 11.89 g/l<sup>-1</sup>.

**Conclusions.** The biosurfactant produced by *A. niger* demonstrated potential for use in cosmetics, food and pharmaceuticals industry.

### TLP-276. Processo fermentativo sinérgico para obtenção de proteases, celulases, amilases e xilanases por *Cladosporium cladosporioides* isolado na Antártica

Adalberto Pessoa J.\*, Keila Aparecida M.\*, Wellington Leal Dos S.\*, Edson Flavio Teixeira Da S.\*, Talita Camila Evaristo Da Silva N.\*, Cesar Andres Diaz A.\*, Daniel Francisco Weinacker P.\*

\*Universidade de Sao Paulo, Brasil.

**Introdução.** Extremoenzimas são enzimas produzidas por micro-organismos extremófilos que apresentam elevado potencial econômico em muitos processos industriais, principalmente na área têxtil, produção de alimento animal e detergentes. Produzir simultaneamente proteases, xilanases, celulases e amilases por cultivo submerso com o resíduo da agroindústria farelo de trigo, utilizando *Cladosporium cladosporioides* isolado na Antártida.

**Materiais e métodos.** O meio de cultivo bda foi utilizado para esporulação do fungo, durante 240 h a 10°C com fotoperíodo de 12 h em câmara b.o.d. o inóculo foi padronizado na concentração de 106 conídios por mL em solução de tween 80 (0,9% m/v) e cloreto de sódio (0,3% m/v). O meio de produção foi constituído de farelo de trigo 2% (m/v), extrato de levedura 0,5% (m/v), sulfato de magnésio 0,05% (m/v), cloreto de ferro 0,002% (m/v) e fosfato de potássio dibásico 0,08% (m/v) e o processo fermentativo sinérgico transcorreu durante 96 h a 14°C sob agitação orbital (120 rpm). O extrato enzimático foi obtido ao final do processo por centrifugação (10000 xg) e filtração em papel tipo watman nº1, seguidamente submetido às determinações analíticas. Para a cotação da atividade proteásica, celulásica, amilásica e xilanásica foram empregados os substratos azocaseína (0,5% p/v), papel filtro (50 mg), amido (1% m/v) e xilana (1% m/v), respectivamente. O ácido biconínico foi utilizado para determinação de proteínas totais.

**Resultados.** Dentro das condições avaliadas o fungo *C. cladosporioides* foi capaz de produzir satisfatoriamente protease (69,750 u mL<sup>-1</sup>) e xilana (62,039 u mL<sup>-1</sup>), com especificidade de 317,97 u mg<sup>-1</sup> e 282,82 u mg<sup>-1</sup> respectivamente. Concomitantemente com a atividade específica da celulase 4,37 u mg<sup>-1</sup> e da amilase 19,97 u mg<sup>-1</sup>.

**Conclusões.** Tais resultados indicam *C. cladosporioides* como um extremófilo que apresenta potencial biotecnológico na secreção simultânea de enzimas de interesse industrial.

### TLP-277. Synthesis of the biopolymer poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) by *Burkholderia sacchari* recombinant from fatty acids

Thatiane Teixeira M.\*, José Gregório Cabrera G.\*, Rafaela Rodrigues T.\*, Lucas Garbine C.\*, Eliane Carolina Ortega\*, Marilda Keico T.\*, Luiziana Ferreira Da S.\*

\*Universidade de São Paulo Brasil.

**Introdução.** Polyhydroxyalkanoates (PHA) are biopolymers produced by bacteria from renewable carbon sources. They have thermoplastic properties and biodegradability, being industrially interesting, because they can substitute petrochemical plastics. *Burkholderia sacchari* is a bacterial strain isolated from Brazilian soil, which accumulates high amounts of PHA. The poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) p(3hb-co-3hhx) is a PHA copolymer that displays improved mechanical properties with increasing amounts of 3hhx. *B. sacchari* accumulates p(3hb-co-2mol%3hhx) from glucose and hexanoic acid. The aim of this work was to obtain p(3hb-co-3hhx) with larger 3hhx amount by *B. sacchari*.

**Materials and methods.** *B. sacchari* harboring phapcj operon genes from *Aeromonas* spp. into a pbb1mcs-2 vector were constructed. Using these recombinant strains were performed accumulation experiments supplied with glucose (10 g.l<sup>-1</sup>) and fatty acids (1 g.l<sup>-1</sup>).

**Results.** When lauric acid was supplied the recombinants containing phapcjasp. And phacjah accumulated 4,82 e 1,88 mol% of 3hhx in the copolymer, respectively. It was observed production 3,11 e 1,31 mol% of 3hhx by the strains harboring phapcjasp. And phacjah, respectively, when was offered linoleic acid. However, supplying oleic acid to both strains tested were synthesized only 3hb monomers. The total amount of PHA produced in all experiments performed was up to 50% of the cell dry weight.

**Conclusions.** *B. sacchari* recombinants constructed were able to produce p(3hb-co-3hhx) from fatty acids. These results indicate that these are promising strains for the use of renewable carbon sources, such as vegetable oils to produce PHA.

### TLP-278. Halloysite nanoclay as a potential carrier for nisin

Stela Maris Meister M.\*, Arthur Izé J.\*, Adriano Brandelli\*

\*Universidade Federal do Rio Grande do Sul Brasil.

**Introduction.** Nisin is an antimicrobial peptide considered as a natural preservative and commonly incorporated in food by direct addition for controlling pathogenic bacteria. However, some loss of antimicrobial activity can occur due to proteolytic degradation or interaction with food components. In this sense, nanostructures may represent an alternative as antimicrobial carriers, improving stability and efficacy. The aim of this study was to evaluate the interaction of two different types of nanoclays – unmodified montmorillonite and halloysite – with nisin.

**Materials and methods.** Adsorption assays were carried out by adding 1 mL of a nisin solution (concentrations ranging from 0.1 to 2.5 mg/mL) to 10 mg of each nanoclay. These nisin-nanoclay systems were maintained during 1 h at 25°C and 80 rpm. After that, aliquots of supernatants were recovered by centrifugation and residual antimicrobial activity was determined. The antimicrobial activity was detected by agar diffusion assay using *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 as indicator strain. The pellets obtained after centrifugation (nanoclays adsorbed with nisin) were washed twice with 10 mm phosphate buffer solution pH 7.0, redispersed in the same buffer and also assessed for antimicrobial activity. Additionally, nisin solutions at different concentrations were evaluated for initial antimicrobial activity.

**Results.** Nisin was adsorbed onto the two nanoclays tested. However, the adsorption was higher onto montmorillonite because higher percentages of adsorbed nisin activity were obtained when it was exposed to increasing concentrations of antimicrobial solutions. Meanwhile, bigger inhibition zones were obtained for halloysite samples adsorbed with nisin, which is attributed to higher desorption of the antimicrobial when in contact with the microbial medium plates. Since more discrete inhibition zones were obtained for montmorillonite samples, this clay may have more tightly bound or inactivated nisin compared to halloysite.

**Conclusions.** Therefore, halloysite nanotubes demonstrated better results as support agent for nisin adsorption, constituting a promising strategy for antimicrobial delivery systems.

### TLP-279. Avaliação do potencial biotecnológico da levedura *Yarrowia lipolytica* para a produção de lipase em fermentação no estado sólido utilizando uma mistura de torta de cupuaçu com farelo de soja como meio fermentativo

Carlos Eduardo Conceição De S.A.\*, Bernardo Dias R., Maria Alice Zarur C.\*

\*Universidade Federal do Rio de Janeiro Brasil.

**Introdução.** Lipases (triacilglicerol esteracilhidrolases E.C.3.1.1.3) são enzimas que podem ser destinadas para uma ampla gama de aplicações industriais. No entanto, seu alto custo de produção pode representar um entrave para a ampliação da sua utilização neste setor. Uma alternativa para a redução dos custos de produção dessas enzimas pode ser encontrada na bioconversão de co-produtos ou resíduos agroindustriais por meio da fermentação no estado sólido (fes), gerando um produto de alto valor agregado (complexo lipase) a partir de matérias-primas menos custosas. O trabalho avaliou a produção de lipase por *Yarrowia lipolytica* em fes utilizando uma mistura de duas matérias-primas (farelo de soja e torta de cupuaçu) derivadas da agroindústria.

**Materiais e métodos.** A fes foi conduzida durante 36 h com coleta de amostras em períodos de tempo determinados, com o objetivo de realizar o acompanhamento da atividade lipásica, proteolítica e o pH do sistema. A atividade lipásica foi determinada pelo método titulométrico utilizando como substrato óleo de oliva, a atividade proteolítica foi mensurada utilizando a azocaseína como substrato.

**Resultados.** Máxima atividade lipolítica de 13,2 u/g foi alcançada após 36 h de fermentação, no entanto maior produtividade (0,9 u/g\*h) foi encontrada após 10 h do início do processo fermentativo. Para a atividade proteolítica foi observado um perfil crescente até 32 h de fermentação, atingindo máxima atividade de 34,8 u/g, em paralelo um aumento crescente do pH foi observado até o final do processo, indicando que a ação proteolítica pode ter contribuído para a alcalinização do meio devido a hidrólise de proteínas.

**Conclusões.** O crescimento da levedura *Yarrowia lipolytica* e a produção de lipase foram viabilizados ao se utilizar a mistura de torta de cupuaçu com farelo de soja sem nenhum tipo de suplementação, demonstrando, portanto, que esse sistema fermentativo ainda em estudo inicial possui potencial para a produção de lipases.

### TLP-280. Análise do potencial biotecnológico da levedura *Yarrowia lipolytica* para a produção de lipase em fermentação no estado sólido utilizando como matéria-prima a torta de andiroba adicionada de farelo de soja

Raissa De Carvalho P., Carlos Eduardo Conceição De S.\*,  
Bernardo Dias R.\*, Maria Alice Zarur C.\*

\*Universidade Federal do Rio de Janeiro Brasil.

**Introdução.** A andiroba é uma planta oleaginosa nativa da Amazônia de interesse econômico devido ao óleo extraído de suas sementes. Sua extração gera ao final do processo co-produtos e resíduos que ainda apresentam valor nutricional relevante. Devido a este fato, tais materiais podem ser utilizados como fonte de nutrientes para micro-organismos produzirem por fermentação no estado sólido (fes) produtos de interesse biotecnológico e de alto valor agregado, como as enzimas lipases (triacilglicerol esterase hidrolases E.C.3.1.1.3). Este estudo, portanto, teve como objetivo analisar o potencial da produção de lipase por *Yarrowia lipolytica* em fes, utilizando a torta de andiroba adicionada de farelo de soja como matéria-prima.

**Materiais e métodos.** A fes foi conduzida durante 36 h em biorreatores de polipropileno que continham o meio sólido de fermentação. Em períodos de tempo determinados foram retiradas amostras para a obtenção do extrato enzimático, que foi analisado quanto a sua atividade lipolítica, mensurada por meio do método titulométrico utilizando o óleo de oliva como substrato, assim como para a sua atividade proteolítica, que foi analisada por meio do método espectrofotométrico utilizando azocaseína como substrato.

**Resultados.** Por meio das análises realizadas, observou-se que houve produção de lipase pela levedura *Yarrowia lipolytica*, com aumento da atividade enzimática ao longo da fermentação, atingindo valores máximos de 23,7 u/g e 31,9 u/g após 36 h de fermentação para a atividade lipásica e proteolítica, respectivamente. Além disso, foi possível observar que a maior produtividade de lipase foi alcançada após 10h de fermentação, com valor de 1,1 u/g\*h.

**Conclusões.** Pode-se concluir que a torta de andiroba adicionada do farelo de soja propiciou condições nutricionais e ambientais relevantes para o desenvolvimento da levedura *Yarrowia lipolytica* e para a produção da lipase, não sendo necessário nenhum tipo de suplementação nutricional externa, favorecendo, portanto, a redução dos custos de produção dessa biomolécula.

### TLP-281. Laccases with potential application in the decolorization of industrial dyes: production optimization by *Pycnoporus sanguineus* under solid-state fermentation

Ana Lucia Ribeiro Latorre Z.\*, Luana Parras M.\*, Douglas Chodi M.\*,  
João Atilio Jorge\*, Rosa dos Prazeres Melo F.\*

\*Universidade de São Paulo Brasil.

**Introduction.** The extensive use of toxic synthetic dyes in various industries has raised a major concern on the effects of effluent discharge on the environment. Although physicochemical methods are available, enzymatic methods are considered economic and environmentally friendly alternatives to degrade hazardous dyes. Laccases, produced at high levels by white-rot fungi, may oxidize a variety of phenolic compounds and aromatic amines, and are increasingly being applied to remove environmental pollutants, especially synthetic dyes. Here we performed the optimization of culture conditions for the production of laccases by a strain of *Pycnoporus sanguineus* under solid state fermentation, and the biochemical characterization of the activity in the crude extract.

**Materials and methods.** Laccase activity was estimated continuously in McIlvaine buffer, pH 4,5, using 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) diammonium salt (abts) as substrate, by following the formation of the abts+ radical (420 nm = 34.650 mol<sup>-1</sup> l cm<sup>-1</sup>).

**Results.** The optimization of culture conditions using response surface methodology increased 4.7-fold the laccase production, which reached 138.6 ± 6.4 u g<sup>-1</sup>. Maximum production occurred in wheat bran supplemented with 15% (w/w) milled corncob, 0.8% (w/w) NH<sub>4</sub>Cl and 50 mmol l<sup>-1</sup> CuSO<sub>4</sub>, with 4.0 mL g<sup>-1</sup> initial moisture, after 8-day culture at 25°C. Optimum pH and temperature for laccase activity in the crude extract were 4.5 and 65°C, respectively. The activity was stable for 2 h at 55°C and in the range of pH 3 to 7.5.

**Conclusions.** *P. sanguineus* crude extracts revealed good potential for the degradation of synthetic industrial dyes such as remazol brilliant blue R, wasser blue, reactive orange, reactive blue and bromophenol blue.

### TLP-282. Detecção do gene sea em *Staphylococcus coagulase* positiva isolados de leite cru e produtos lácteos

Cynthia Bertolini\*, Eliandra Mirlei Rossi\*,  
Gustavo Borba De Miranda\*, Eduardo César Tondo\*

\*Universidade Do Oeste De Santa Catarina- Unoesc, Campus De São Miguel Do Oeste-Sc, Laboratório De Microbiologia De Alimentos-UFRGS Brasil.

**Introdução.** As doenças transmitidas por alimentos (DTA) são consideradas um problema de saúde pública mundial e o *Staphylococcus aureus* é o segundo microrganismo causador de surtos de DTA no Brasil. A incidência se deve à capacidade de produzir toxinas, as enterotoxinas (se), sendo sea a mais frequente. O objetivo deste trabalho foi detectar o gene sea em cepas de *S. aureus* isolados de leite cru e de produtos lácteos.

**Materiais e métodos.** A pesquisa de *Staphylococcus coagulase* positiva foi efetuada em 10 amostras de cada um dos seguintes alimentos: leite pasteurizado, leite cru oriundo de animais com mastite, queijo Minas Frescal, creme de leite e bebida láctea, conforme metodologia proposta pela instrução normativa N°62 de 26 de Agosto de 2003, do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. A detecção do gene sea nas amostras de *Staphylococcus coagulase* positiva isoladas dos alimentos foi realizada segundo o protocolo de extração de DNA bacteriano por fervura. A amplificação de DNA se deu a partir de iniciadores para o gene sea, com um fragmento de 120 pares de bases.

**Resultados.** Foram isoladas cepas *Staphylococcus coagulase* positiva em somente nas amostras de queijo Minas Frescal (uma cepa) e leite cru (10 cepas). Os resultados mostraram que 100% das amostras *S. coagulase* positiva isolada de leite cru e de queijo tipo Minas Frescal apresentaram o gene sea.

**Conclusões.** Os resultados permitem concluir que o gene sea possui uma alta frequência nas cepas de *Staphylococcus coagulase* positiva.

### TLP-283. Se-enriched mushrooms of *Pleurotus ostreatus* and *Lentinula edodes* increase the antioxidant activity

Laelia Soares de Assunção\*, Ana Vladia Bandeira M.\*,  
Maria Catarina Megumi K.\*

\*Universidade Federal de Viçosa, Brasil.

**Introduction.** Mushrooms enriched with essential minerals such as selenium (se) are food source supplying the nutrient deficiency in a diet. In addition they contain different compounds with effective antioxidant activity. Extracts of *P. ostreatus* and *L. Edodes* mushrooms enriched with inorganic se has shown to possess active compounds with antioxidant capacity, which can increase and strengthens the immune system. For providing a natural antioxidant to be incorporated in the diet, as a nutritional supplement or even exercise functions as pharmaceutical agent, the objective of this work was to investigate whether the addition of se in substrate of fungal development affects antioxidant properties, lipid peroxidation and total phenolic content of se-enriched *P. ostreatus* and *L. Edodes* mushrooms.

**Materials and methods.** The concentration of total phenolic compounds, the antioxidant activity, the lipidic peroxidation and total concentration of minerals (mn, fe, cu, zn, v, cr, co, ni, as, cd and pb), in se-enriched mushrooms of *P. Ostreatus* and *L. Edodes* were investigated.

**Results.** Both species of se-enriched mushrooms were effective in capturing the the 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (dpph) radical. *P. Ostreatus* has higher antioxidant activity than *L. Edodes* and se-enriched *P. Ostreatus* mushrooms also inhibited lipidic peroxidation, showing the effect of se protection also to the fungus. The concentration of total phenolics content (tpc), show that the methanolic extract of se-enriched *P. ostreatus* presents higher content, while in the extracts of se-enriched *L. Edodes* this content is lower. The se-enrichment mushrooms decreased minerals concentration of mn, fe and zn.

**Conclusions.** This study show that the enrichment of *P. Ostreatus* and *I. Edodes* mushrooms with se is an alternative to enhance the antioxidant potential and decrease oxidative damage to fungal membrane.

### TLP-285. Caracterización de la bio-síntesis de nanopartículas de selenio por *P. agglomerans*

Maria Angelica Mondaca\*, Saddys Rodríguez-Llamazares\*, Claudio Rojas\*, Marcelo Gonzalez\*, Luis Pereira\*, Victor Campos\*

\*Universidad de Concepción, Chile.

**Introducción.** La obtención de nanopartículas, derivadas de la síntesis biológica, es uno de los temas más relevantes en biotecnología, principalmente por su bajo costo e impacto sobre el ambiente. Uno de los desafíos es obtener nanopartículas estables con actividad biológica, de tamaño menor o igual a 100 nm por bio-reducción con *P. agglomerans*, bajo condiciones aeróbicas y evaluar su toxicidad.

**Materiales y métodos.** Nanopartículas de selenio amorfo se sintetizaron por bio-reducción de selenito utilizando *P. agglomerans*, bajo condiciones aeróbicas y a temperatura ambiente. La caracterización de las nanopartículas fue realizada mediante microscopía electrónica de transmisión y espectrofotometría UV-visible. Se evaluó la toxicidad mediante viabilidad celular en células HUVEC.

**Resultados.** Las imágenes de tem de los cortes longitudinales de las bacterias mostraron que las nanopartículas de selenio se encontraron intracelularmente, asociadas a la membrana, y en el exterior de la célula. La distribución de tamaño de las nanopartículas de selenio dependió del tiempo de incubación, a las 10 h de incubación las nanopartículas de selenio se acumularon intracelularmente y después de las 24 h extracelularmente. Las nanopartículas de selenio producidas antes de 20 h presentaron tamaños menores o iguales a 100 nm. El estudio de actividad biológica utilizando como modelo el cultivo de células viables de cordón umbilical humano (HUVEC) demostró que las nanopartículas estabilizadas con péptidos aumentaron la viabilidad de las células HUVEC, lo que indicó una disminución de la toxicidad en comparación con las nanopartículas de selenio sin estabilizar y con selenito.

**Conclusiones.** Las nanopartículas con tamaño promedio de 100 nm se localizan principalmente en la región intracelular después de 20 h de incubación. El estudio de actividad biológica utilizando como modelo el cultivo celular HUVEC demostró que las nanopartículas estabilizadas con l-cisteína aumentan la viabilidad celular, indicando una disminución de la toxicidad de las nanopartículas.

### TLP-286. Mejoramiento genético de levaduras vínicas para consumo de nitrógeno

Verónica García\*, Omayra Aguilera\*, María Angélica Ganga\*, Claudio Martínez\*

\*Universidad de Santiago de Chile, Chile.

**Introducción.** *Saccharomyces cerevisiae* es el principal microorganismo responsable de la fermentación alcohólica y su metabolismo incide directamente en la calidad del vino producido. El consumo de nitrógeno de la levadura (yan) es un proceso complejo y de gran importancia económica pues los altos requerimientos de este compuesto, producen enlentecimientos y paradas de la fermentación, además la preferencia de fuentes de este compuesto afectan directamente el perfil sensorial del vino. El objetivo de este trabajo es obtener cepas de *S. cerevisiae* mejoradas para el rasgo consumo de nitrógeno.

**Materiales y métodos.** Mediante micromanipulación se realizaron cruces intraespecíficos obteniendo 51 familias con 195 descendientes (f1) los cuales fueron identificados por "interdelta fingerprinting" y posteriormente se fermentaron en mosto sintético ms300 y se evaluó mediante hplc los consumos de nitrógeno y azúcar así como la producción de etanol. Una vez obtenidos los fenotipos se diseñó el cruce para una f2 con el fin de obtener cepas con buenos parámetros fermentativos y bajo consumo de nitrógeno. Posteriormente los descendientes fueron confirmados molecularmente y fenotipificados.

**Resultados.** En la f2 se identificaron individuos que terminan la fermentación alcohólica y que consumen una baja cantidad de nitrógeno. Así, el individuo 686 requiere una baja cantidad de amonio (12.756 mgN/l) respecto a sus parentales a3 (57.94 mgN/l) y a91 (32.9 mgN/l), además este individuo consume una mayor cantidad de fructosa que a91, disminuyendo la cantidad de azúcar residual. Además, la cepa 476 consume

una menor cantidad de amonio (34.2 mgN/l) respecto a sus parentales a17 (57, 0 mgN/l) y a4 (58.9 mgN/l).

**Conclusiones.** Estos resultados indican que posible obtener individuos con buenos parámetros fermentativos y bajos requerimientos de nitrógeno asimilable mediante una programa de mejoramiento genético. Financiado por fondecyt 11130148, dicyt 081471mf, proyecto de inserción 791220024.

### TLP-287. Optimización de parámetros para la activación de una película biodegradable (PHB/PCL) con nisina

Vanesa Magali Molina\*, Juan Pablo Correa A.\*, Patricia Eisenberg\*, Mariana Blanco M.\*

\*Instituto Nacional de Tecnología Industrial Argentina.

**Introducción.** En los últimos años se han desarrollado nuevas tecnologías para extender la vida útil y mejorar la calidad/higiénico sanitaria de los alimentos. La nisina es un péptido producido por *Lactococcus lactis* que puede utilizarse en la fabricación de envases poliméricos con actividad antimicrobiana. En este trabajo se determinaron los parámetros cinéticos y de equilibrio de adsorción para la activación de una película polimérica biodegradable de polihidroxibutirato/policaprolactona (PHB/PCL) con nisina, para su potencial aplicación en la industria de alimentos.

**Materiales y métodos.** La película polimérica se obtuvo mediante la mezcla de phb/pcl (50/50) en mezclador discontinuo y posterior termocompresión (170°C, 100 bar). Para estudiar la cinética y equilibrio de adsorción se pusieron en contacto con nisina a 30°C probetas de la película. Se evaluó la influencia del tiempo (1 a 120 min) y la concentración de nisina (200 a 8000 ui/mL) en la activación. Luego de los tratamientos se determinó la actividad antimicrobiana de las probetas frente a *L. plantarum* CRL691 y se expresó como área inhibición relativa. Una vez definidos los parámetros óptimos de adsorción de nisina en la película se evaluó su actividad antimicrobiana frente a *Listeria innocua* 7.

**Resultados.** Si bien se obtuvo una película activa a partir de 1 minuto de contacto con nisina, el equilibrio de adsorción se alcanzó a partir de 15 minutos. La nisina presentó una isoterma de adsorción tipo langmuir en la película de PHB/PCL, con un punto de saturación a partir de una solución de 4000 ui/mL. La película obtenida presentó actividad antimicrobiana frente a *L. plantarum* CRL691 y *L. innocua* 7.

**Conclusiones.** El desarrollo de este trabajo permitió optimizar los parámetros para obtener una película biodegradable de PHB/PCL activa frente a *L. plantarum* y *L. innocua*. Estos resultados constituyen el punto de partida para el escalado y producción continua de películas biodegradables con actividad antimicrobiana.

### TLP-288. Potencial antimicrobiano de bacterias ácido lácticas aisladas de presunto cozido em relação à *Listeria monocytogenes*

Juliana de Lima M.\*, Cláudio Eduardo dos Santos C.\*, Graciele Daiana F.\*, Guilherme da Silva D.\*, Ana Rita Carboni R.\*, Vera Maria Klajn\*, Wladimir Padilha da S.\*, Ângela Maria Fiorentini\*

\*Univ. Federal de Pelotas/UFPEL, Instituto Federal Farroupilha Brasil.

**Introdução.** Bactérias ácido lácticas (BAL) aumentam a conservação do alimento, degradando carboidratos presentes na matéria-prima, produzindo ácidos orgânicos, causando redução do pH, tornando o meio inviável para o desenvolvimento de grande parte dos micro-organismos deteriorantes e patogênicos. Além disso, algumas bal sintetizam compostos antimicrobianos de origem proteica, sendo uma alternativa na bioconservação de alimentos. Objetivo geral. Avaliar a atividade antagonista de bal isoladas de presunto cozido em relação à *Listeria monocytogenes* scott a.

**Materiais e métodos.** A atividade antagonista de 71 isolados foi realizada utilizando a técnica spot-on-the-lawn. Como controle positivo e negativo foram utilizados *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* dy 13 e água destilada estéril, respectivamente. Foram retiradas alíquotas de 2 µL do cultivo de cada isolado, numa concentração em torno de 109 UFC.mL<sup>-1</sup>, em caldo mrs e inoculadas em placas contendo ágar mrs, as quais foram incubadas em jarra de anaerobiose a 35 °C/24 h. Após esse período, em cada placa foi adicionada uma sobre camada de 8 mL de ágar BHI semi-sólido contendo cerca de 105 UFC.mL<sup>-1</sup> de *L. Monocytogenes* scott a e foram incubadas a 30°C/24 h. A atividade antagonista foi avaliada pela formação de halos inibitórios ao redor das colônias de bal. Os halos foram

medidos con un paquímetro, sendo a medida de inibição de crescimento a diferença entre os diâmetros de inibição menos o de crescimento.

**Resultados.** Dos 71 aislados, 68 (95,8%) apresentaram halos de inibição contra *I. Monocytogenes*. O diâmetro dos halos variou entre 2 e 29 mm, constatando que a maioria dos aislados apresenta atividade antimicrobiana contra o patógeno testado, o que pode ser devido à produção de ácidos orgânicos, peróxidos e/ou bacteriocinas.

**Conclusiones.** Constatou-se potencial antimicrobiano dos aislados, sendo necessários testes complementares a fim de identificar a natureza proteica desses compostos, os quais poderão ser usados como estratégias de bioconservação para produtos cárneos.

### TLP-289. Estabilidad de una formulación a base de un granulovirus colombiano de *Erinnyis Ello* (Lepidoptera: sphingidae)

Juliana Andrea Gómez-Valderrama\*, Paola Emilia Cuartas O.\*, Jenny Carolina Ruiz M.\*, Liz Alejandra Uribe G.\*, Adriana Marcela Santos D.\*, Guillermo León V.\*, Laura Fernanda Villamizar R.\*

\*Corporación Colombiana De Investigación Agropecuaria Corpoica Colombia.

**Introducción.** *Erinnyis ello* (Lepidoptera: sphingidae) es la principal plaga del cultivo de caucho en América, controlada principalmente mediante el uso de insecticidas químicos altamente tóxicos. Los virus entomopatógenos de la familia Baculoviridae son una alternativa ambientalmente sostenible para el control de este insecto y un aislamiento colombiano de granulovirus de *E. ello* (vg010) ha demostrado alto potencial para ser utilizado en el desarrollo de un bioinsecticida. Sin embargo, factores como la luz ultravioleta del sol, el contacto con sustancias químicas o las condiciones de almacenamiento del producto, pueden causar la inactivación del virus generando la pérdida de la actividad insecticida, efecto deletéreo que puede ser minimizado mediante una adecuada formulación. Objetivo: estabilizar el aislamiento de granulovirus de *E. ello* vg010 mediante el desarrollo de una formulación.

**Materiales y métodos.** Se elaboró un lote de polvo mojable (wp) a base del granulovirus vg010, el cual se caracterizó microbiológica y fisicoquímica. Se determinaron las concentraciones letales de la formulación mediante un bioensayo y se evaluó su estabilidad frente a la luz UV, el almacenamiento a tres temperaturas durante un año y la mezcla con agroquímicos.

**Resultados.** El contenido de contaminantes, el porcentaje de humedad y el pH del formulado se encontraron dentro de los rangos adecuados para este tipo de productos. Las concentraciones letales presentaron valores inferiores a los encontrados con otros granulovirus, indicando su alta patogenicidad. La formulación fotoestabilizó al virus frente a la radiación UVB durante 60 minutos de irradiación. El formulado permaneció estable durante un año de almacenamiento a 8°C, 18°C y 28°C y fue compatible con diez agroquímicos empleados en el cultivo del caucho.

**Conclusiones.** La formulación wp a base del granulovirus vg010 presentó características adecuadas y mostró un efecto estabilizador del virus frente a diferentes factores, constituyéndose en la base para el desarrollo de un bioplaguicida para el control de esta importante plaga.

### TLP-290. Obtención de polihidroxicanoatos (PHA's) vía fermentación discontinua de residuos agroindustriales con *Ralstonia eutropha*

Adriana Catalina Torres O.\*

\*Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, Colombia.

**Introducción.** Los polihidroxicanoatos (PHAs) son una alternativa para el reemplazo de los polímeros derivados del petróleo. Estos tienen características similares a los polímeros químicos y tienen la ventaja de ser biodegradables. Ver la posibilidad de cambio ha hecho que varias industrias se fijen en este eco-polímero. La producción de los PHAs ha sido estudiada por varios años pero aún es un tema nuevo para países como este donde la producción de este polímero no pasa de una producción a nivel de laboratorio. Para este estudio se trabajó con la cepa *Ralstonia eutropha* ATCC 17697 conocida como una cepa productora de PHAs. El objetivo principal es estudiar la capacidad que tienen los residuos agroindustriales (cáscara de yuca y de piña) de ser un sustrato efectivo para el crecimiento de *Ralstonia eutropha* y la producción de PHAs.

**Materiales y métodos.** Los ensayos se hicieron en matraz agitado con volumen efectivo de trabajo de 50 ml. Para el diseño experimental se

hizo un diseño de superficie de respuesta, donde se estudian 4 factores independientes (tiempo, relación c:n, relación c:p y pH) con dos variables de respuesta (biomasa y PHAs).

**Resultados.** El mejor rendimiento biomasa/ sustrato es  $yx/s=1$  (hidrolizado cáscara de yuca hora 48). La producción de PHAs es muy baja a comparación a la literatura alcanzando un 4% de acumulación de polímero (hidrolizado cáscara de piña hora 30, pH 7, c: n=6, c: p=4).

**Conclusiones.** Se concluyó que el sustrato presenta condiciones ideales para el crecimiento de *Ralstonia* usando como concentración inicial de azúcares reductores 5 g/l, sustrato que después de la fase estacionaria se agota y la bacteria asimila sustratos disponibles en el medio producto de la hidrólisis ácida de las cáscaras. Los factores tiempo, pH y relación c: n y sus interacciones tienen efectos significativos en la formación de biomasa y producción de PHAs.

### TLP-291. Influência da concentração de lactose na produção de bioetanol a partir do soro de leite por *Kluyveromyces marxianus*

Cleidiane Samara Murari\*, Débora Cristina Moraes Niz da S.\*, Bruna Lima da S.\*, Vanildo Luiz del Bianchi\*

\*Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto Brasil.

**Introdução.** O soro de queijo principal resíduo gerado pelos laticínios tem sido considerado um subproduto de alto valor comercial, seu principal componente a lactose pode ocasionar sérios danos ambientais. A lactose é considerada um substrato em potencial para bioprocessos, a partir do uso de micro-organismos que a utilizam como fonte de energia, levando à geração de bioprodutos de interesse como o bioetanol. O presente trabalho buscou estudar a produção de bioetanol a partir do soro de queijo, em diferentes concentrações de lactose pela levedura *Kluyveromyces marxianus* cct 229.

**Materiais e métodos.** Foram testados diferentes concentrações de lactose nos meios fermentativos (m1 57,6 g/l; m2 45,6 g/l, m3 32,5 g/l e m4 18,8 g/l), onde 20% de inóculo padrão da levedura foi inoculada em condições estéreis nos meios, que foram incubados a 35°C por 48 h em anaerobiose, sendo que alíquotas destes foram retiradas no decorrer da fermentação para análises de lactose realizada pela técnica adns, etanol por cromatografia gasosa e demanda química de oxigênio (DQO) pelo método colorimétrico por refluxo fechado.

**Resultados.** De acordo com os resultados obtidos, o meio cujo substrato inicial encontrava-se em maior concentração (m1) apresentou maior produção, produtividade etanólica e conversão substrato a etanol com 14,50 g/l; 0,80 g/l.h-1 e 0,29 g/g-1 respectivamente em 18 h de fermentação, com um consumo de lactose e uma velocidade de consumo de substrato de 72% e 0,69 g/l.h-1 respectivamente neste período. Porém em termos de rendimento etanólico em relação ao fator de conversão da lactose a etanol, o resultado mais satisfatório ocorreu com o meio m3 com rendimento de 62,00%. Já a redução de dco, esta foi maior no meio m4 com 81,76%.

**Conclusiones.** O processo apresentado é uma alternativa promissora e eficaz para obter uma fonte renovável de biocombustível.

### TLP-292. Detecção de fatores de virulência e sistema regulatório agr em *Staphylococcus sp.* aislados de laticínios brasileiros

Gabriela Oliveira ES\*, Nathalia Cristina Cirone S.\*, Marjory Xavier R.\*, Melina Luz Mary Cruzado B.\*, Julia Hellmeister T.\*, Ernani Porto\*

\*Escola superior de Agricultura Luiz de Queiroz - Univ. de São Paulo Brasil.

**Introdução.** Estudos dos fatores de virulência e sistemas regulatórios da expressão destes fatores de *Staphylococcus aureus* têm sido enfatizados. O accessory gene regulador (agr) controla a expressão da maioria dos genes de virulência, como biofilmes, que pode favorecer a transferência horizontal de genes, e hemolisinas, que auxiliam na invasão bacteriana e inibição da resposta imune do hospedeiro. Identificar *Estafilococos coagulase-positiva* potencialmente produtores de gama-hemolisinas e de biofilmes e detectar os grupos agr em *S. aureus*.

**Materiais e métodos.** Cinquenta e três cepas aisladas de três laticínios foram previamente identificadas como *Estafilococos coagulase-positiva*. Estas foram submetidas a multiplex pcr para identificação de *S. aureus*, *S. intermedius* e *S. hyicus*. O sequenciamento de DNA foi realizado para

a identificação de demais espécies. Fez-se duplex pcr para a detecção dos genes hlg e hlg-v e pcr para a detecção dos genes ICAA e ICAD. Todas as cepas foram caracterizadas fenotipicamente quanto à produção de biofilmes em agar vermelho congo (CRA). E realizou-se a amplificação dos genes correspondentes aos grupos agr.

**Resultados.** A maioria das cepas foram identificadas como *S. aureus* (49 cepas, 92.4%), as demais identificadas foram *S. hyicus* (1 cepa, 1.9%) e *S. epidermidis* (3 cepas, 5.7%). Detectou-se HLG (17.0% das cepas), hlg-v (1.9%), HLG+HLG-V (52.8%), ICAD (75.5%) e ICAA+ICAD (67.9%). Contudo, apenas 20,7% foram positivas em CRA. Quanto à tipagem, detectou-se 18.4%, 4.0%, 77.6% para três grupos alélicos AGR I, II e III. Sendo, portanto, o AGRIII o mais associado aos fatores de virulência pesquisados.

**Conclusões.** A presença de genes de hemolisina e de outros fatores de virulência em cepas isoladas de alimentos preocupa, inclusive a presença de genes como ICAA e ICAD reforça a ideia de que esses microorganismos podem formar biofilme na indústria, sendo, consequentemente, mais difíceis de serem eliminados da mesma.

### TLP-293. Produção de lipídeos por *Rhodotorula glutinis* UCP/WFCC 1555 cultivada em meio econômico

Rosileide FS. Andrade\*, Roberto A. Lima\*, Dayana Montero R.\*, Paulo H. Silva\*, Ednaldo R. Santos\*, Hélvia Araújo\*, Adalberto Pessoa\*, Galba Maria Campos-Takaki\*

\*Universidade Federal de Pernambuco, Universidade Católica de Pernambuco, Universidade Estadual da Paraíba, Universidade de São Paulo, Brasil.

**Introdução.** As leveduras têm sido estudadas como micro-organismos produtores de lipídeos devido à sua capacidade de acumular alta quantidade de lipídeos intracelulares. Dentre as diversas matérias-primas para a produção de biodiesel, a biomassa microbiana pode acumular lipídeos de composição química similar ao diesel, sendo uma alternativa ambientalmente sustentável. Neste trabalho foi investigado o potencial de acumulação de óleo pela levedura considerada oleaginosa *Rhodotorula glutinis* ucp 1555.

**Materiais e métodos.** A produção de biomassa foi realizada em frascos de erlenmeyers de 250 mL de capacidade, contendo 100 mL do meio gbm de composição glicerina bruta (6 %), milhocina (0,6%) e água destilada (100 mL), com pH ajustado para 5.5. O rendimento da biomassa foi calculado por gravimetria e os resultados expressos em g.l-1 de biomassa seca. A extração dos lipídeos totais foi realizada usando o sistema de solventes clorofórmio:metanol (2:1, 1:1, 1:2 v/v), com posterior determinação por gravimetria. Os ácidos graxos foram convertidos em metil éster, solubilizados com n-hexano e analisados por cromatografia gasosa (gc).

**Resultados.** O meio econômico gbm foi totalmente metabolizado e transformado em 4,2g.l-1 de biomassa seca de *R. glutinis* e em 31% de lipídeos totais. Os ácidos graxos analisados por cromatografia gasosa demonstrou baixos valores dos ácidos caprílico (c8:0), mirístico (c14:0), fisetérico (c14:3), pentadecílico (c15:0), margárico (c17:0),  $\gamma$ -linolênico (c18:3), esteárico (c18:0), gadolécico (c20:1), araquídico (c20:0), ácido cetolécico (c 22:1) e behênico (c22:0), e em valores mais elevados para os ácidos  $\gamma$ -linolênico (c18:3) e palmítico (c16:0).

**Conclusões.** *Rhodotorula glutinis* UCP/WFCC 1555 confirmou as características de levedura oleaginosa, com produção de ácidos graxos de composição similar ao biodiesel. O meio de acumulação de lipídeos gbm, demonstrou ser um meio econômico, de fácil preparação e adequado para reaproveitamento de resíduos industriais.

### TLP-294. Identificación y caracterización de enzimas proteolíticas con potencial uso industrial a partir de librerías metagenómicas de suelos agrícolas colombianos

Dayana Calderon M.\*, Martha Lucia Cepeda\*, Juan Manuel Anzola\*, Alvaro Mongui\*, Patricia Del Potillo\*

\*Corporación CorpoGen Colombia.

**Introducción.** El mundo microbiano ha mostrado ser una fuente importante de compuestos empleados en procesos industriales de alta aplicabilidad. Ejemplos importantes son la cantidad de enzimas y compuestos activos extraídos de microorganismos que hoy en día son utilizados en el sector agrícola, industrial y farmacéutico. Gracias al uso de diferentes técnicas moleculares como la metagenómica, el grupo de biotecnología molecular de la corporación CorpoGen ha venido adelantando estudios con el objetivo de identificar genes, rutas metabólicas y otros compuestos con aplicación industrial a partir

de librerías metagenómicas. El objetivo de este trabajo fue identificar y caracterizar genes relevantes que codifiquen para enzimas proteolíticas a partir de una librería metagenómica de suelos agrícolas colombianos.

**Materiales y métodos.** Las secuencias obtenidas de 11 cósmidos de la librería metagenómica fueron ensambladas. Se hizo predicción de genes y orfs que fueron comparados contra las base de datos Pfam y Merops. Luego de identificar varias enzimas, se diseñaron primers específicos para sub-clonar en el vector Pbad/GIII y expresar en células *E. coli* top10; una vez clonadas y expresadas se realizaron ensayos funcionales sobre varios sustratos para medir su actividad.

**Resultados.** A partir del análisis bioinformático se pudieron identificar 4 enzimas las cuales mostraron e-value significativos y mostraron ser pertenecientes a familias de proteasas como s1 (*serin-endopeptidasa*), s9 (*oligopeptidasa*), m20 (*aminopeptidasa*) y m29 (*aminopeptidasa*). Estas enzimas fueron, sub-clonadas expresadas y caracterizadas funcionalmente.

**Conclusiones.** Este trabajo permitió la identificación de genes con actividad proteolítica que no se han reportado en la literatura que contribuyen a profundizar en el conocimiento y su potencial uso a nivel industrial, mediante la realización de tamizados de librerías metagenómica y acercamientos bioinformáticos.

### TLP-295. Investigación de *Pseudomonas* sp. y recuentos de BMA, CT en agua purificada envasada de marcas registradas y de purificadoras de venta en dos ciudades del estado de Veracruz, México

Carlos Cabrera M.\*, Gloria León T.\*, Alma López G.\*, Alejandro Ruiz T.\*, Laura Eva Acosta M.\*, Marcos Flores E.\*

\*Facultad de Ciencias Químicas. Benemérita Universidad Autónoma De Puebla Mexico

**Introducción.** Hoy día, es usual y aceptable que el consumo de agua para bebida se adquiera en botellas de pet en diferentes presentaciones, de marcas registradas o de purificadoras (llenadoras). Tomando en cuenta que el agua debe ser inocua, previamente sometida a un proceso de potabilización para eliminar los microorganismos presentes en ella, además de cumplir con los estándares fisicoquímicos. En México, control microbiológico se realiza mediante la nom-201-ssa1-2002 (coliformes totales <1.1 nmp/100 mL). El objetivo del estudio fue investigar la presencia de *Pseudomonas* sp., además de realizar recuentos de ct y bma en agua purificada de marcas reconocidas en presentación de 600 mL y de agua purificada en garrafones de 20 L provenientes de dos ciudades (a y b) en el estado de Veracruz, México.

**Materiales y métodos.** De un total de 31 muestras, 17 fueron botellas de agua de 600 mL (11 procedentes de a y 6 de b) de marcas registradas adquiridas en supermercados, farmacias y tiendas de conveniencia. Y 14 muestras en presentación de 20 L provenientes de purificadoras (llenadoras) 8 de a y 6 de b. Los procedimientos utilizados fueron los descritos en las normas oficiales mexicanas.

**Resultados.** Todas las muestras del primer grupo cumplieron con la normatividad vigente, respecto contenido de CT; a pesar, de que en 4 de ellas los valores de BMA superaron el límite permisible marcado en el apéndice informativo B de la nom-093-SSA1-1994 y no hubo evidencia de *Pseudomonas* sp. En contraste, en el agua de las llenadoras, en ambas ciudades, el contenido de CT y BMA fue del 57.0%, superando el límite permisible en la nom y se recuperó *Pseudomonas aeruginosa* en dos muestras.

**Conclusiones.** Se recomienda investigar otros indicadores de calidad sanitaria como *Pseudomonas* sp. en las embotelladoras y purificadoras, en especial en los centros de llenado automático que existen en todo el país.

### TLP-296. Poli-3hidroxibutirato: identificação molecular de linhagens bacterianas positivas para síntese de bioplástico

Amanda Avila R.\*, Bruna Coi dos S.\*, Karine Laste M.\*, Mariane Igansi A.\*, Andrea Bittencourt M.\*, Angelita da Silveira M.\*, Claire Tondo V.\*

\*Universidade Federal de Pelotas Brasil.

**Introdução.** São conhecidos mais de 300 microorganismos produtores de polihidroxialcanoatos, família de poliésteres armazenados intracelularmente na forma de grânulos lipofílicos que servem como reserva energética. O poli(3-hidroxibutirato) é o mais estudado. Busca-se constantemente aumentar o rendimento e reduzir



os custos do processo de síntese desse bioplástico, através da identificação de microrganismos melhores produtores e da otimização das condições operacionais. Objetivou-se identificar linhagens bacterianas isoladas na região sul do Brasil produtoras de *poli(3-hidroxi-butirato)* ou *P(3HB)*.

**Materiais e métodos.** Cinco linhagens isoladas foram analisadas quanto à capacidade de síntese de *P(3HB)*. Alíquotas de 10 mg de massa celular seca de cultivos de 24h em frascos agitados com meio yeast malt das linhagens foram metanolizadas e adicionadas de clorofórmio; a fase orgânica foi analisada em cromatógrafo gasoso, com detector de ionização de chama, pelo método de padronização interna pelo ácido benzóico. A curva de calibração foi preparada com *p(3hb)* sigma aldrich®. As linhagens positivas para *P(3HB)* foram identificadas pelo método do 16s rRNA. O DNA genômico foi extraído com kit illustratm e as amostras amplificadas e purificadas foram sequenciadas em asi-prism 3100 genetic analyzer.

**Resultados.** Das 5 linhagens isoladas 3 foram *P(3HB)* positivas. As linhagens b52, rs e cn3 tiveram rendimento de *P(3HB)* de 2,6; 19,8 e 12,5%. Foram selecionadas para identificação molecular as de maior produção. As sequências obtidas foram alinhadas e as sequências consenso comparadas às depositadas no genbank. A linhagem rs foi identificada como *Ralstonia solanacearum*, com 99% de identidade, e a linhagem cn3 teve 100% de identidade com *Bacillus megaterium*.

**Conclusões.** Bactérias isoladas da região sul do Brasil são produtoras de *P(3HB)*. As linhagens com maior produção neste estudo foram de *Bacillus megaterium* e *Ralstonia solanacearum*. A ferramenta molecular de sequenciamento e identificação por rRNA 16s é uma técnica eficiente e rápida.

### TLP-297. Characterization of the bacterial diversity associated with a reverse osmosis membrane system by cultivation-independent methods

Daiane Rodrigues B.\*, Samantha Gonçalves da F.\*, Virginia Medeiros de S.\*, Roberto Sousa D.\*, Larissa Quartaroli\*, Rodrigo Suhett de S.\*, Ana Paula Rodrigues T.\*, Maíra Paula de Sou\*

\*UNICAMP/CPQBA Brasil.

**Introduction.** In order to reduce the amount of water taken from the environment and its pollution, wastewater treatment for reuse has been increasingly employed. Among the technologies used for this purpose, reverse osmosis systems stand out because of innumerable advantages, such as economy, high productivity and efficiency in the removal of salts. However, these systems are constantly subjected to contamination by microorganisms, leading to a decrease in efficiency and an increase in operational and maintenance costs. In this context, this work aims to characterize the bacterial diversity present in a reverse osmosis system from an oil refinery in order to determine which microorganisms are related to the biofilm formation.

**Materials and methods.** For this, cultivation-independent methods were employed, i.e., 16s rRNA gene libraries, genetic fingerprinting by DGGE and real time PCR. A sample of the feed water and ten different reverse osmosis membrane samples were analyzed. The 16s rRNA gene libraries were constructed from the feed water (209 clones) and from two membranes (96 clones each). The membranes were also analyzed by DGGE, and 13 bands from different membranes were selected for identification. Furthermore, real time PCR quantification of total bacteria was carried out.

**Results.** Combined results showed that the most representative genera found in the system were: *acidovorax*, *bosea*, *devosia*, *microbacterium*, *novosphingobium*, *rhizobium*, *shinella*, *sphingobium*, *sphingopyxis* and *methylibium*. In accordance with the literature, some of these genera are found continuously in aquatic systems and are important in the initial biofilm formation on reverse osmosis systems.

**Conclusions.** The knowledge of the diversity of microorganisms present in these systems may provide insights for understanding the ecology and dynamics of biofilm formation, allowing the development of more specific and efficient control strategies.

### TLP-298. Use of nanoencapsulated nisin in antimicrobial food packaging films

Juliana Ferreira Boelter\*, Adriano Btandelli\*

\*Universidade Federal do Rio Grande do Sul Brasil.

**Introduction.** Nisin is an antimicrobial peptide produced by *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*, approved for food use as biopreservative. The

direct application of these peptides in foods may cause an impairment of antimicrobial activity due to proteolytic degradation and undesirable interactions with other components of the food matrix. To prevent this, we can use liposomes, which are nanometric phospholipidic vesicles, utilized in the entrapment, delivery and release of different materials, such as proteins and antioxidants. Antimicrobial packaging are able to retard microbial growth on the surface, extending the shelf life and promoting food safety. The objective of this study was to use nanoencapsulated nisin in food packaging gelatin films to evaluate its antimicrobial activity against *Listeria monocytogenes*.

**Materials and methods.** Encapsulation of nisin in phospholipon® phosphatidylcholine was carried out by the thin-film hydration method. The nanoliposomes were characterized by dynamic light scattering (dls). Gelatin films containing 30% of glycerol, 4.5% liposomes (0.7 mg of pure nisin) and 0.05% halloysite nanoclay were prepared by solvent casting. The antimicrobial activity was detected by agar diffusion assay.

**Results.** Liposomes maintained antimicrobial activity during cold storage. Gelatin films containing nanoencapsulated nisin presented inhibition zone against *Listeria monocytogenes*.

**Conclusions.** The incorporation of antimicrobial peptides and nanocomposites in food packaging represent a potential technological innovation in the food preservation.

### TLP-299. Control de calidad en la cadena de procesamiento de queso artesanal

Paola Fernanda Arguello H.\*, Olga Lucero Redrovan\*, Glenda Paola Fernanda Arguello H.\*

\*Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Ecuador.

**Introducción.** La dirección nacional de vigilancia epidemiológica del ministerio de salud del Ecuador, presenta la tasa de enfermedades transmitidas por alimentos por cada 100 000 habitantes, en el año 2013 fue de 4.029. Esto se debe al manejo inadecuado de los alimentos a través de la cadena productiva. Varias investigaciones de la calidad microbiológica de alimentos preparados artesanalmente en América Latina, demuestran que constituyen un riesgo para la salud de los consumidores. Uno de los productos de mayor consumo y de valor nutritivo alto es el queso fresco, sin embargo presenta mayor potencial de transmisión de enfermedades cuando ha sido elaborado con falta de procedimientos de higiene, por esto se investigó la calidad microbiológica en quesos frescos elaborados artesanalmente y su relación con el cumplimiento de buenas prácticas de manufactura (BPM).

**Materiales y métodos.** Se tomó de base información de instituciones públicas pertinentes en Riobamba-Ecuador, se determinaron 31 queseras de tipo artesanal donde se evaluaron las BPM, se clasificaron en cuatro grupos según porcentaje de cumplimiento, se seleccionaron ocho queseras para muestreo de quesos y superficies. Se realizaron análisis microbiológicos de coliformes, enterobacterias por el método de siembra en placa y *Staphylococcus aureus* por petrifilm en el producto, a estos se suma *Listeria* por petrifilm en superficies.

**Resultados.** Los resultados presentaron bacterias indicadoras coliformes entre 3.64-6.05 log UFC/g y enterobacterias de 3.66-6.08 log UFC/g, la prevalencia de *Staphylococcus aureus* fue del 100% y en el 80% de las superficies existió presencia de *Listeria*.

**Conclusiones.** Ninguna de las queseras cumple con todos los requisitos básicos y prácticas generales de higiene (BPM), las ocho queseras sobrepasan los requisitos microbiológicos de la norma correspondiente, independientemente del % de cumplimiento de las BPM, siendo necesario el apoyo técnico y económico que la implementación de esta norma requiere, aportando a la prevención de enfermedades.

### TLP-300. Lignocellulolytic activity of Antarctic and marine derived fungi from semi-solid fermentation

Viviane Cristina Padilha L.\*, Mariana Blanco B.\*, Rafaella Costa Bonugli-Santos\*, André Rodrigues\*, Lara Durães Sette\*

\*Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" – UNESP Brasil.

**Introduction.** The use of enzymes in second generation ethanol production is one important example of the current technological application related to biodegradation of lignocellulosic materials. To evaluate the production of lignocellulolytic enzymes by *Cadophora luteo-olivacea* p1, *Cadophora malorum* m7 (antarctic) and *Marasmiellus* sp. 155

(marine) and its activity during the semi-solid fermentation using corn cob (cc), rice straw (rs) and sugarcane bagasse (sb) as substrates.

**Materials and methods.** Fungal strains were grown in malt agar (ma2%) at 15°C (p1 and m7) and 28°C (155) for 7 days. Cylinders of the mycelia (3) plus agar were added into flasks containing 10 mL of liquid malt (2%) and incubated in shaker (140 rpm) for 7 days at 15°C and 28°C. Substrates cc, rs and sb (2.5 g each one) were placed in flasks containing savitha mineral medium (20 mL), distilled water (20 mL) and the pre-inoculum (5 mL). The assay was kept under agitation at 15°C and 28°C according to each strain temperature. The enzymatic activities of lignin peroxidase (lip), manganese peroxidase (mnp) laccase (lac), xylanase and cellulase were determined by spectrophotometer using specific substrates.

**Results.** Marine derived fungus 155 showed the best activity of lac (91.8 u.l-1) and mnp (6.52 u.l-1). Antarctic fungi m7 and p1 expressed activity for xylanase (3.48 u.l-1; 1.9 mL-1 respectively) in sb. M7 also showed 2.41 u.l-1 in cc. Both fungi showed low levels of mnp, lac and cellulases in the studied substrates. In general, it can be inferred that sb and cc was the finest sources to provide conditions for the fungal growth and substrate degradation.

**Conclusions.** Results showed the potential of the microorganisms studied for being applied in biotechnological processes such as production of biofuels. Additional studies related to the enzymes optimization and characterization will be conducted.

### TLP-301. Secreción de altos niveles de glutamato por una bacteria Gram negativo aislada de la Antártica: caracterización y mejoramiento de la producción para aplicaciones industriales

Leonardo Álvarez\*, Francisco Romero\*, Felipe Sepúlveda\*, Nicolás Bruna\*, Daniel Almonacid\*, José Pérez-Donoso\*

\*Universidad Andrés Bello, Facultad de Ciencias Biológicas, Chile.

**Introducción.** El *L-glutamato* es uno de los aminoácidos más comercializado a nivel mundial con un mercado cercano a 3,000 millones de dólares por año. Es utilizado como un potenciador de sabores en la industria de los alimentos y es producido principalmente por cepas de la bacteria Gram positivo *Corynebacterium glutamicum*, las cuales han sido mejoradas y patentadas durante los últimos 50 años. Sin embargo, aún existen varios problemas que aumentan los costos de producción, como el requerimiento de detergentes, antibióticos y oxígeno objetivo general: en base a estos antecedentes, nuestro grupo decidió investigar la capacidad de producción de *L-glutamato* de bacterias provenientes de territorios con gran diversidad genética como la Antártica.

**Materiales y métodos.** A partir de muestras de suelo antártico, se aislaron más de 200 bacterias, en las cuales se determinó su capacidad de secretar *L-glutamato*. Luego, la producción de *L-glutamato* fue confirmada mediante TLC. La cepa con mayor producción fue evaluada en distintas condiciones de cultivo. El *L-glutamato* fue cuantificado mediante derivatización con *ninhidrina* post cromatografía de silica gel.

**Resultados.** Se aisló una bacteria Antártica capaz de secretar grandes concentraciones de *L-glutamato* superiores a los descritos para bacterias utilizadas industrialmente (*C. glutamicum*) en estado silvestre, la cual fue denominada Pcn1. Pcn1 es capaz de secretar *L-glutamato* de manera constitutiva. Se determinó que compuestos como *tween 20* y *40* aumentan la secreción de *L-glutamato*. Además, Pcn1 es capaz de secretar aminoácidos en condiciones de microaerofilia y anaerobiosis. Todos estos antecedentes hacen de Pcn1 una cepa única con grandes diferencias morfológicas y metabólicas que favorecen su aplicación industrial.

**Conclusiones.** Nuestros resultados indican que pcn1 tiene un gran potencial para el estudio de la producción de aminoácidos y una gran proyección industrial debido a que es capaz de secretar *L-glutamato* de manera constitutiva y en condiciones de microaerofilia y anaerobiosis.

### TLP-302. Aislamiento de bacterias productoras de polihidroxialcanoatos a partir de fuentes agrícolas

Jenifer Urán\*, Mariana Cardona\*, Alejandro A.\*, Andrés Felipe Villa R.\*

\*Grupo de Biotransformación. Escuela de Microbiología. Universidad de Antioquia. Colombia.

**Introducción.** Los *Polihidroxialcanoatos* (PHA) son biopolímeros intracelulares sintetizados por una amplia variedad de bacterias, son biode-

gradables y biocompatibles con propiedades termoplásticas similares a los plásticos convencionales, además existe gran variedad de biopolímeros con diversas aplicaciones en el campo biomédico, farmacéutico e industrial. Por esta razón, es necesario explorar diferentes ambientes agrícolas con el propósito de encontrar bacterias productoras y seleccionar las cepas con potencial industrial. Objetivo aislar bacterias productoras de pha a partir de suelos agrícolas y seleccionar los aislados con mayor potencial industrial mediante técnicas de tinción y microscopía.

**Materiales y métodos.** Se analizaron muestras de suelos de cultivo de tomate, caña de azúcar, banano y yuca. Mediante técnicas de cultivo, se logró aislar y caracterizar los morfotipos obtenidos. Una vez se obtuvo aislados puros, se estimuló la producción de PHA en medio mínimo de sales suplementado con *Glucosa* al 2% y rojo nilo (0,1%). La presencia de gránulos compatibles con pha se evaluó por medio de la tinción con sudan black y observados por microscopía óptica. Adicionalmente, se utilizó la tinción rojo nilo para evaluar su presencia mediante microscopía de fluorescencia.

**Resultados.** Se obtuvieron 55 aislados bacterianos con características morfológicas diferentes, 15 de estos presentaron gránulos de pha según las tinciones de rojo nilo y sudan black. Basados en las técnicas microscópicas, se observó que algunos aislados presentaron acumulaciones similares a las reportadas en la literatura por cepas productoras de PHAs.

**Conclusiones.** Se obtuvo aislados bacterianos que pueden acumular grandes cantidades del polímero, aunque la técnica de cultivo limita el potencial de muchas bacterias, ya que solo se implementó glucosa como única fuente de carbono. Se espera evaluar diferentes fuentes de carbono, identificar molecularmente los aislados mediante la secuenciación del Gen 16s Rnar y caracterizar la vía de producción de estos biopolímeros.

### TLP-303. Effect of selenium supplementat on in endophytic bacteria a potential inoculums for se biofortification

Paula Duran\*, J. Gianfreda\*, L. Azcón\*, R. Acuña\*, M.L. Mora\*

\*Universidad de la Frontera, Chile.

**Introduction.** In recent years we are working in *Selenium* biofortification using bacteria. Bacteria can be reduced inorganic to elemental se (nanose) by aerobic respiration and were able to enhance the se content in wheat inoculated plants. However, no studies related with the other possible se forms and the effects of se supplementation in bacteria were found.

**Materials and methods.** In this study, endophytic bacteria belonging to *Bacillus* sp. and *Acinetobacter* sp. Were tested according to: the capacity to produce organic se forms; antioxidant enzymes activity and nanose characterization at 6, 12, 24 and 36 h after se supplementation. In addition, we evaluated the bacteria capacity of tolerate hydric stress under *in vitro* conditions by *Polyethylene glycol* (PEG).

**Results.** Our results indicate that both *Acinetobacter* sp. and *Bacillus* sp. produce elevated organic se forms as a semet (10 and 4 mg kg-1) and semesecys (3.77 and 1.75 mg kg-1), respectively; however nanose was the main se form founded. Nanose were ranging from 192 to 312 in *Acinetobacter* sp and from 139 to 272 nm in *Bacillus* sp. and z potential were near to -40 mv which to confer high stability.

**Conclusions.** Se supplementation affects the sod and cat production only in *Acinetobacter* sp. However no toxic effect in bacteria growth was found. On the other hand, se supplementation no affects the tolerance to hydric stress in either strain. However *Bacillus* sp. Showed less growth at 40% peg, in contrast to *Acinetobacter* sp. Which no was affected. We thank to fondecyt postdoctoral project N° 3130542 from chilean government.

### TLP-304. Production of antimicrobial peptides (AMPS) derived from soybean meal

Cynthia Freitas\*, Patricia Ribeiro\*, Eduardo Mere del Aguila\*, Vânia Flosi Paschoalin\*

\*Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.

**Introduction.** Food borne illness is a general term often used to describe a disease or illness caused by eating contaminated foods. Currently, there

is great debate about the most appropriate methods for preserving food in order to avoid microbial contamination. Soybean meal is a rich source of peptides and proteins, several of them being antimicrobial peptides (amps), which are important components of the natural defenses of most living organisms against invading pathogens. Those molecules are characterized by the composition, charge and size of amino acids, which allow them to alter the membrane bilayers of the microorganisms, inhibiting or slowing their growth. The aim of this study was to obtain antimicrobial peptides from soybean meal, as an additive for food preservation.

**Materials and methods.** Soybean meal was exposed to hypotonic (water) and heat shock treatments (50°C-18 h and 90°C - 10 min). The crude extract was filtered through a 0.22 µm membrane and was tested against to different pathogenic microorganisms on food. The crude extract was fractionated on a column of ion exchange (deae-sepharose) using the sodium phosphate buffer pH 7.0 and the fractions were eluted with the same buffer plus 0,2 m NaCl showing two peaks with activity.

**Results.** The crude extract (3,0 mg) was used against to listeria innocua inhibiting 21% and against to *Escherichia coli*, *Staphylococcus coagulase negative*, *acinetobacter genomospecies 3*, *aeromonas hydrophila* and *pseudomonas fluorescens* had an inhibition of 100% using the concentrations of 0,7; 1,5; 0,3; 2,0 and 3,0 mg, respectively. The eluted fractions exhibited inhibitory antimicrobial activity of 18 and 57 % using a concentration of 0,2 mg against the model microorganism *Acinetobacter genomospecies 3*.

**Conclusions.** Based on its efficiency, simplicity and low cost, this method of extraction can be very useful in obtaining antimicrobial peptides for clinical or food supplementary purposes.

### TLP-305. Caracterización bioquímica de una proteasa extracelular producida por la levadura Antártica *Rhodotorula mucilaginosa*, para su aplicación industrial

Luciana Daniela Lario\*, Lara Durães Sette\*, Adalberto Pessoa Junior\*

\*Departamento De Tecnología Bioquímica Farmacéutica. Facultad De Farmacia (USP). Brasil. Departamento Of Bioquímica Y Microbiología. Instituto De Biociencias. (UNESP). Río Claro, Brasil.

**Introducción.** En las últimas décadas, una gran variedad de microorganismos adaptados al frío han sido seleccionados para la producción, purificación y caracterización de enzimas para su aplicación industrial. Por otra parte, entre los diversos grupos de proteínas, las proteasas son responsables de aproximadamente el 60% de las ventas mundiales de enzimas. Objetivo general: en este trabajo, se procedió a la purificación y caracterización bioquímica de la proteasa secretada por la levadura Antártica *Rhodotorula mucilaginosa* 17.

**Materiales y métodos.** En primer lugar, se procedió a la purificación, mediante cromatografía de intercambio iónico, de la proteasa secretada por *R. mucilaginosa*, a partir de cultivos de dicha levadura en medio *Saboraud-dextrosa*, crecidos a 25°C y 150 rpm durante 48 h. Posteriormente, se realizaron ensayos de actividad y estabilidad de la proteasa purificada, en función del Ph, la temperatura y la concentración de NaCl.

**Resultados.** El efecto de la temperatura y el pH sobre la actividad y la estabilidad de la enzima reveló que la misma presenta actividad óptima a pH 5,0 y 50°C, y una gran estabilidad en estas condiciones. Sin embargo, la enzima perdió casi por completo su actividad después de 30 min de incubación a 58°C. Por último, se observó que la proteasa es estable en presencia de altas concentraciones de NaCl (hasta 3,0 m).

**Conclusiones.** Los resultados de este trabajo revelan el potencial industrial de la proteasa en estudio, especialmente para procesos biotecnológicos en los que se requieran actividad y estabilidad enzimática bajo condiciones ácidas y/o en altas concentraciones de sal.

### TLP-306. Biotechnological potential of bacteria isolated from the tietê river in the biofuels production process

Lina Rocío Del Pilar Rada\*, Eliane\*, Felipe Rezende De Lima\*, Mabel Patricia Ortíz V.\*, Simone Ichiwaki\*, Lilandra Carolina Rios De C.\*, Gabriel Padilla M.\*, Wellington Luiz De Araújo\*

\*Universidade De São Paulo Otros Países.

**Introduction.** Growing concern about the environment has significantly increased biofuels production around the world. Bioetha-

nol and biodiesel are alternative fuels produced from vegetal sources. Some microorganism have desirable characteristics to make the production process more efficient. The ability to hydrolyze *Lignocellulose* and metabolize bioproducts, as xylose, would be useful in bioethanol production. The microbial assimilation of *Glycerol* generating high value-added molecules would be convenient in biodiesel production, since the large amounts of *Glycerol* produced are becoming a problem. Contaminated environments, as tietê river in Brazil, would be interesting places for bioprospecting because agro-industrial waste may confer advantages to the remaining microorganisms, such as xenobiotic biodegradation ability. The aim of this research is to evaluate the biotechnological potential of hydrolases-producing bacteria isolated from tietê river, which would be useful in biofuel production process.

**Materials and methods.** Bacterial isolates from 33 different locations along the river were evaluated for the presence of endoglucanase and the assimilation of xylose and glycerol. For endoglucanase production, the degradation of *Carboxymethylcellulose* (CMC) was tested on solid culture medium. For *Xylose* and *Glycerol* assimilation, growth on m9 minimal medium supplemented with 1% of carbon source (*Xylose* or *Glycerol*) was measured both on solid and liquid media.

**Results.** A total of 210 bacteria was evaluated for the different purposes. Sixteen percent of isolates exhibited ability to biodegrade CMC, evidenced by clear halos around the colonies. Results on carbon sources assimilation showed that 53% and 66% of the isolates grew on solid medium supplemented with *Xylose* and *Glycerol*, respectively. However only 28% grew in *Xylose-containing* liquid medium and 40% in medium with *Glycerol*.

**Conclusions.** Some isolates exhibited satisfactory results in all experiments becoming promissory for future research. Further investigation should be undertaken with those isolates to confirm their utility in biofuels production. Moreover, tietê river showed to be an interesting environment for biotechnological research.

### TLP-307. Production of a recombinant fructosyltransferase from *Aspergillus oryzae* n74 in *Pichia pastoris*

Lina Marcela Botero R.\*, Dennis Johanna Diaz R.\*, Laura Milena Beltran M.\*, Edwin Alexander Rodríguez L.\*, Oscar Sánchez\*, Carlos Javier Almeida D.\*

\*Pontificia Universidad Javeriana, Colombia.

**Introduction.** *Fructooligosaccharides* (FOS) are considering as components of functional foods, due to importance of these compounds as promoters of gastrointestinal health, prevention of chronic diseases, and enhancement of immune system. Fos are synthesized by *Fructosyltransferases* (FTASES), which are present in a wide range of organisms. In this work, it was performed the production of the recombinant ftase from *Aspergillus oryzae* n74, by using the *Methylotrophic* yeast *Pichia pastoris*.

**Materials and methods.** A *P. pastoris* codon-usage optimized ftase gene was sub-cloned in *pPIC9* vector; which was used to transform *P. pastoris* gs115. After yeast transformation, 15 clones were obtained, which were screened at 10 and 100 mL scales. Pfta5 clone showed the highest enzyme activity levels at these scales and was selected to be scaled up at 1,7l scale. Two different temperatures (28 and 20°C) during induction stage were evaluated at bioreactor scale.

**Results.** The results showed an increase of 93.5- and 74-fold in the enzyme activity at 28°C and 20°C, respectively, in comparison to the values reported with the use of native ftase gene. The qualitative assays of fos by thin layer chromatography suggested the ability of the recombinant ftase enzyme to synthesize gf2, gf3 and gf4. Finally, different reaction conditions of recombinant ftase enzyme were studied, showing that the highest enzyme activity values were obtained with sucrose 1.7 m (60%), 45°C, pH 4, and 4 h of reaction. This data is similar to that reported for the native enzyme.

**Conclusions.** In summary, these results present valuable information towards the development of process for the production of fos in our country by using recombinant ftases.

### TLP-308. Sobreexpresión de la enzima alcohol deshidrogenasa en *Saccharomyces cerevisiae* para la producción de bioetanol

Lina Maria Lopez De A.\*, Alejandro Acosta C.\*

\*Universidad de Antioquia Colombia.

**Introducción.** La alta capacidad fermentativa de *Saccharomyces cerevisiae* favorece considerablemente la producción de bioetanol a escala industrial. La enzima alcohol deshidrogenasa, encargada de la conversión del acetaldehído en etanol se convierte en pieza clave en las estrategias de optimización de la fermentación que permitan obtener cantidades de etanol cercanas a los rendimientos teóricos en mucho menos tiempo. Objetivo. Evaluar el efecto de la sobreexpresión de la enzima alcohol deshidrogenasa ii en *Saccharomyces cerevisiae* en la producción de bioetanol. **Materiales y métodos.** La levadura utilizada fue una cepa comercial de *S. cerevisiae*. Se utilizó el vector *pAUR101* para la integración genómica del gen *adhii*, y la selección de las cepas recombinantes se realizó con aureobasidina. Los ensayos fermentativos se realizaron a escala de 200 mL en matraz con una concentración inicial de Glucosa de 50 g/l y las variables cuantificadas fueron biomasa por peso seco y subproductos de la fermentación por HPLC (glucosa, etanol, glicerol).

**Resultados.** 27 clones recombinantes fueron sometidos a ensayos fermentativos durante 48 h. El clon I011 mostró una disminución considerable en la biomasa (clon L011 0,22 g/l vs. 1,98 g/l cepa comercial). La productividad máxima de la fermentación de los clones L014 y L021 fue mayor que la obtenida por la cepa comercial (0,71 y 0,64 vs. 0,56 g/l-h-1; respectivamente). El rendimiento de las cepas recombinantes fue similar a la cepa comercial (yp/s 0,22 g g-1), sin embargo las cepas recombinantes tuvieron mejores rendimientos producto/biomasa (6,75 vs 6,11 g g-1).

**Conclusiones.** Modificaciones puntuales no garantizan mejoras significativas en la productividad de levaduras comerciales; sin embargo, las cepas recombinantes I014 y I021 mostraron mayor productividad y mejores rendimientos producto/biomasa, sugiriendo que la sobreexpresión de la enzima alcohol deshidrogenasa podría estar dirigiendo el flujo de carbono a una mayor producción de etanol.

### TLP-309. Produção de composto com potencial citotóxico por *Streptomyces cebimarensis* em diferentes meios de cultura

Liliane Maciel De Oliveira\*, Sérgio Scherrer Thomasi\*, Álvaro Baptista-Neto\*, Tiago Venâncio\*, Alberto Colli Badino J.\*

\*UFSCAR - Universidade Federal de São Carlos Brasil.

**Introdução.** Estudos realizados com a bactéria *Streptomyces cebimarensis* mostraram que a fração butanólica do caldo de cultivo apresentou atividade citotóxica contra células cancerígenas do sistema nervoso central. Devido à semelhança estrutural com outras substâncias citotóxicas, supõe-se que um hexapeptídeo inédito seja o responsável pela atividade biológica e por isso objetivou-se aumentar a produção deste composto avaliando diferentes meios de cultura utilizados para cultivo de estreptomicetos.

**Materiais e métodos.** Avaliaram-se os meios gym, gym com sais simulando ambiente marinho, isp2, a1rdp1 e meio contendo Glicerol e proteína isolada de soja como fontes de Carbono e Nitrogênio. Realizou-se os cultivos em mesa incubadora rotativa, à 200 rpm e 28°C, e consistiram em três fases: reativação (24 h), crescimento de inóculo (24 h) e produção (72 h). Ao final, o caldo foi centrifugado à 11000xg, 4°C, e o sobrenadante passou por três extrações consecutivas com acetato de etila e depois com *N-butanol*. O extrato *Butanólico* foi seco, ressuspensionado em solução de metanol:água (50:50) e analisado em hplc (coluna c18, fase móvel metanol e água, ambos com 0,05% de tfa, gradiente de 5 a 100% Metanol em 60 min e  $\lambda=210$  nm), sendo o pico previamente identificado por rmn.

**Resultados.** O hexapeptídeo foi produzido apenas utilizando-se o meio gym. A adição de sais simulando ambiente marinho possivelmente inibiu ou reprimiu a produção. Como a diferença entre os meios gym e isp2 é apenas o carbonato de cálcio, que pode exercer um efeito tamponante, acredita-se que o pH tenha influenciado a produção. Os meios contendo como fonte de Carbono amido (a1rdp1) e Glicerol também não produziram o composto, mas pode ter havido também um efeito do pH na produção.

**Conclusões.** Os resultados preliminares mostraram que o pH e/ou a composição do meio de cultivo influenciaram na produção do Hexapeptídeo, que foi observada apenas utilizando o meio gym.

### TLP-310. Brazilian microbial diversity as a source of new strains for deconstruction of lignocellulosic biomass

Léia C. L. Fávaro\*, Itamar S. Melo\*, Betania F. Quirino\*, Ana C. B. Oliveira\*, Thais D. Mendes\*, Thais F. C. Salum\*, Dasciana S. Rodrigues\*, Gleiciane P. Souza\*, Paula F. Franco\*, Maria C. Quecine\*

\*Embrapa Agroenergia, Embrapa Meio Ambiente, Departamento De Genética, Escola Superior De Agricultura "Luiz De Queiroz", Universidade De São Paulo, Departamento De Microbiologia, Universidade De São Paulo. Brasil

**Introduction.** Despite the intense research efforts to increase the efficiency of Lignocellulosic biomass hydrolysis, there are only a limited number of microbial strains able to produce enzymes at industrial scale and with low cost. Therefore, the strain improvement coupled to strain/genes discovery is central to warranty the economic viability of lignocellulosic biofuel production. Objective. The goal of this screening was to identify novel lignocellulolytic strains among a large collection of microorganism sampled from distinct Brazilian biomes.

**Materials and methods.** We screened a microorganism collection containing 8452 bacterial strains and 265 fungal strains. These microorganisms were previously isolated from soil and plants. The secretion of cellulase, xylanase and pectinase was assayed using solid medium containing Carboxymethylcellulose (CMC) and avicel, xylan and pectin, respectively. The enzymatic index (ei) was estimated in triplicate. Selected strains were growth by submerse fermentation, using sugarcane bagasse as unique carbon source. Selected bacterial and fungal strains were identified using the 16s rRNA and its1-5.8s-its2 sequences, respectively.

**Results.** From 8452 bacterial strains, 17.8%, 2.7% and 0.5% were able to use CMC, xylan and pectin, respectively. Twenty-two strains presented a high ei (6.0 to 16.4) on CMC. These strains were identified as *Bacillus* sp. and *Falsibacillus* sp. Among the 265 fungi screened, 36.7%, 65.2%, 55% and 96.2% were able to use cmc, xylan, pectin and avicel, respectively. These fungi were identified as *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Microdochium* sp., *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma gansense*.

**Conclusions.** Overall, it was possible to identify distinct strains/species of bacteria and fungi able to deconstruct lignocellulosic biomass. Further studies are being conducted at embrapa agroenergia.

### TLP-311. Micromanipulador de *Enterococcus faecium* aislado de tracto gastrointestinal de tilapia para ser administrado en alimento para peces

Rocy Nayive Sandoval L.\*, Judith Figueroa R.\*, Andres Pulido\*, Divian Ivonne Hernandez M.\*

\*Universidad Nacional de Colombia.

**Introducción.** Los probióticos son microorganismos que colonizan el tracto gastrointestinal del animal, poseen efectos benéficos, mejorando su digestión, inmunidad y resistencia a patologías, brindan mayor seguridad al ser aislados directamente de TGI del hospedero. La escasa resistencia a diferentes condiciones como: almacenamiento, transporte y a condiciones propias del hospedero antes de llegar al intestino, conlleva a no obtener los resultados esperados, por lo que se propone el uso de la microencapsulación como método de protección. Objetivo general: microencapsular *Enterococcus faecium* aislado de tracto gastrointestinal de tilapia para ser administrado como probiótico.

**Materiales y métodos.** Se aislaron bacterias de tracto gastrointestinal de tilapias sanas con peso entre 200 y 350 g; los microorganismos obtenidos se valoraron en cuanto a características probióticas en pruebas *in vitro*: tolerancia a bilis, distintos rangos de pH, y con capacidad antagonista a patógenos de peces; cuatro de las cepas aisladas resultaron ser efectivas como microorganismos probióticos y fueron identificadas taxonómicamente por el sistema VITEK® como *Enterococcus faecium*. Las cepas fueron propagadas y ajustadas a concentración de 0,5 MacFarland medido con DensiCheck™, luego microencapsuladas por método de extrusión en alginato de sodio. Se evaluó la eficiencia de la microencapsulación teniendo en cuenta la concentración de cloruro de calcio y de alginato de sodio, densidad, tamaño, peso unitario, estabilidad a diferentes temperaturas, capacidad de carga del microencapsulado y viabilidad del microorganismo probiótico. Finalmente los

encapsulados con mejor calidad fueron sometidos a condiciones de digestibilidad simuladas.

**Resultados.** Se obtuvo un producto microencapsulado viable con características deseables y de factible aplicación *in vivo*.

**Conclusiones.** La generación productos probióticos con estas características son una posible alternativa de solución para manejo de enfermedades para el sector piscícola.

### TLP-312. Influence of pH and glycerol concentration in growth and production of recombinant *Plasmodium vivax* antigen in *Pichia pastoris*

Omar Santiago Pillaca P.\*, Valker Araujo F.\*,  
Juan Carlos Flores S., Mariana Vilela R.,  
Katia Sanches F.\*, Irene Silva S.\*, Adalberto Pessoa J.\*

\*Faculdade De Ciências Farmacêuticas,  
Universidade De São Paulo, São Paulo Brasil.

**Introduction.** The Methylophilic yeast *Pichia pastoris* is widely used as a eukaryote system to express recombinant proteins. The control of culture conditions (e.g. Ph, temperature, concentrations of inducer, Carbon and Nitrogen sources, etc.) Are important factors for both yeast growth and protein production. Therefore, the goal of this study was to evaluate the influence of pH (range 3.0 to 8.0) and Glycerol concentration (0 to 60 g l<sup>-1</sup>) on *P. pastoris* growth and *Plasmodium vivax* chimeric antigen (pvama166-msp119) production.

**Materials and methods.** Submerged cultures were performed in baffled erlenmeyer flasks in orbital shaker (250 rpm), at 30°C (for growth stage, 24 h) and 20°C (for induction stage, 48 h) employing buffered glycerol-complex medium (bmgy), with 1% (v/v) methanol addition every 24 h.

**Results.** The results showed the highest biomass concentration (~12 g l<sup>-1</sup>) at initial pH between 6.5 and 7.5, and lowest biomass concentration (~9 g l<sup>-1</sup>) in acidic medium, between 3.0 and 5.0. Cell growth and final pH decrease were directly proportional to the initial Glycerol concentration. However, we observed growth inhibition at 60 g l<sup>-1</sup> Glycerol. Higher biomass production (~29 g l<sup>-1</sup>) was obtained at 50 g l<sup>-1</sup> glycerol, and at this condition we obtained  $\mu_{\text{max}} = 0.7 \text{ g g}^{-1}$ . Additionally, experiments were carried out with combinations of initial pH (6.0, 7.0 and 8.0) and Glycerol concentration (10, 30 and 50 g l<sup>-1</sup>). The best condition for pvama166-msp119 production was observed at initial pH 7.0 and 30 g l<sup>-1</sup> Glycerol.

**Conclusions.** Acidification during cultivation may have been an inhibitory factor for cell growth and pvama166-msp119 production. In order to increase biomass and obtain a higher expression of recombinant protein cultivations will be performed in bench bioreactor with automated pH control.

### TLP-313. Imobilização e estabilização da lipase de *Thermomyces lanuginosa* em suportes iônicos

Janaína Pires B.\*, José Carlos Quilles J.\*, Rafaela Rodrigues De B.\*,  
Caio C. Aragon\*, Maurício Boscolo\*, Eleni Gomes\*, Roberto Da  
Silva\*, Daniela Alonso Bocchini M.\*, José Manuel Guisã\*

\*IQ/UNESP, Department of Biochemistry and Chemical Technology Brasil.

**Introdução.** A técnica de imobilização de enzimas apresenta vantagens tais como: reutilização do biocatalizador, fácil e eficiente separação destas moléculas do meio reacional, melhor estabilidade da enzima em presença de solventes, inibidores e outros agentes desnaturantes e também pode melhorar a estabilidade ao pH e temperatura. Iônicos. Objetivo: imobilização da Lipase de *Thermomyces lanuginosa* (TLL) em suportes iônicos.

**Materiais e métodos.** A lipase foi imobilizada por meio da sua dissolução em de tampão Fosfato 10 mm pH 7,0 juntamente com os respectivos suportes iônicos (deae, pei-agarose, q-sepharose, manae). A atividade hidrolítica foi analisada por meio da hidrólise do butirato de *p*-nitrofenila.

**Resultados.** A enzima TLL foi 100 % imobilizada em todos os suportes no período de 30 minutos, porém a atividade hidrolítica recuperada dos derivados foi baixa em relação à atividade da enzima livre, apresentando apenas 13, 15, 14 e 31% de atividade em relação à enzima livre para os derivados de deae, pei-agarose, q-sepharose e manae respectivamente. Após a imobilização os derivados foram submetidos a diferentes concentrações de NaCl para dessorver a enzima, sendo necessário as con-

centrações de 200, 250 e 300 mm de NaCl para dessorver a lipase dos derivados deae, q-sepharose e manae respectivamente. A lipase não se dessorveu do suporte pei-agarose, se mostrando mais fortemente ligada a este suporte. A enzima livre e as imobilizadas foram mantidos a 65°C para a verificação da estabilidade térmica. O derivado pei apresentou uma hiperativação durante os primeiros 20 minutos de encubação. Também foi realizada a estabilidade em solução de etanol 50%, onde o derivado pei apresentou maior estabilidade durante 6 h de incubação. **Conclusão.** O derivado de pei-agarose se mostrou mais estável, não sendo possível dessorver a enzima e manteve 65 % da atividade hidrolítica após 6 h em solução de etanol.

### TLP-314. Caracterización *in silico* del proceso de acoplamiento molecular entre una enzima lacasa diseñada y el Orto-dihidroxibenceno

Leidy Pico\*, Daniel Osorio\*, Jorge Hernández-Torres\*

\*Universidad Industrial de Santander Colombia.

**Introducción.** Las enzimas lacasas catalizan la oxidación de compuestos aromáticos reduciendo O<sub>2</sub> a H<sub>2</sub>O. Estructuralmente poseen tres dominios cupredoxina, pero existen reportes de lacasas de dos dominios y evolutivamente se cree que provienen de una oxidasa ancestral de dos dominios *Cupredoxina*. Se presume que estas enzimas pueden prescindir del dominio 2 para realizar sus funciones catalíticas. Objetivo: realizar el diseño *in silico* de una lacasa de dos dominios tomando como base la lacasa cueo de *Escherichia coli* y evaluar las energías de interacción con el Orto-dihidroxibenceno utilizando técnicas de acoplamiento-molecular.

**Materiales y métodos.** Se identificaron los dominios funcionales de cueo (búsqueda en CDD-NCBI) y se realizaron delecciones del segundo dominio y secuencias conectoras. Las estructuras tridimensionales de los mutantes se modelaron en swiss-model y fueron comparadas con respecto a la enzima lacasa de dos dominios de streptomyces coelicolor. En swiss-dock se realizaron simulaciones de acoplamiento molecular entre la lacasa de dos dominios y los mutantes utilizando Orto-dihidroxibenceno como ligando.

**Resultados.** Se generaron cuatro secuencias mutantes de cueo: I2 (del-asp179-pro321), I3 (del-asp164-pro321), I4 (del-asp179-his405) y I5 (del-asp165-his405). Por medio de comparaciones con respecto a la lacasa de dos dominios, se encontró que los porcentajes de identidad estuvieron representados por I5>I4>I3>I2, el RMSD I3.

**Conclusiones.** Los análisis desarrollados en este trabajo, permiten seleccionar como candidatos para el diseño de una lacasa de dos dominios y la realización de simulaciones de dinámica molecular a los mutantes I2 y I5 por sus particulares procesos de interacción con el ligando de interés.

### TLP-315. Culture-independent assessment of the microbial diversity in the sugarcane-ethanol production process

Ohana Yonara De Assis C.\*, Betúlia De Moraes S.\*, Daiva Dornech T.\*, Jessica Carvalho B.\*, Ricardo Henrique Kruger\*, Cynthia Maria Kyam\*, Cristine Chaves B.\*, Betania Ferraz Q.\*

\*Universidade Católica de Brasília, Brasil.

**Introduction.** Brazil is the major producer of sugarcane and the second largest producer of ethanol. Although the Ethanol production process is well established, since it does not occur in sterile conditions, microbial contamination can be a problem resulting in decreased ethanol productivity. The aim of this work was to study the microbial diversity of contaminants in six stages of the industrial ethanol production process using culture-independent techniques.

**Materials and methods.** Triplicate samples from different stages of the ethanol production process were collected and evaluated: sugarcane juice, mixed juice, clarified juice, evaporated juice, must and wine. DNA extraction of samples was performed, and used for pyrosequencing of bacteria and archaea 16s rRNA genes, and fungi ITS (internal transcribed spacer) region.

**Results.** Pyrosequencing of all samples resulted, in 356 groups at genus level for bacteria, 19 for archaea and 203 for the kingdom fungi. Analysis of bacterial sequences showed that community changes are related to the increase of temperature in certain stages of the ethanol production

process. After fermentation, *Lactobacillus* and unclassified *Lactobacillales* account for nearly 100% of the sequences. For fungi as well as archaea, sequence data were obtained only for sugarcane juice and mixed juice. The predominant fungi groups identified were unclassified fungi, meyerozima and candida. For archaea, the predominant group identified was an unclassified soil crenarchaeotic group. Rarefaction curves showed that the number of sequences analyzed was not sufficiently high to describe the existing diversity for all the steps of the ethanol production process. This result suggests that the microbial diversity of the samples is higher than was expected.

**Conclusions.** This is the first work characterizing the diversity of bacteria, archaea and fungi associated to the process of ethanol production from sugarcane in Brazil.

### TLP-316. Construction and characterization of nanosensor for evaluation of xylose influx in *Saccharomyces cerevisiae*

Christiane Janner\*, Fernando Araripe\*, Viviane Reis\*

\*Universidade de Brasília, Brasil.

**Introduction.** Xylose, a highly abundant pentose present in *Hemicellulose*, can be fermented along with *Glucose* to improve harnessing of biomass to produce lignocellulosic ethanol. The yeast *Saccharomyces cerevisiae* is widely used in fermentative processes but is unable to use pentoses. One bottleneck is the uptake of this sugar, since this is carried out by hexose transporters. Hence, studies on *Xylose* transport are of utmost interest. Fluorescent nanosensors that exhibit fret (fluorescence resonance energy transfer) properties can be useful in these studies. The aim of this project is construct and characterize a xylose nanosensor to evaluate the affinity and velocity of *Xylose* uptake by sugar transporters in *S. cerevisiae*.

**Materials and methods.** The encoding gene for the nanosensor was synthesized and cloned into pet21a for expression in *Escherichia coli* (rosetta strain). A selected clone was submitted to flask fermentation for six hours at 20°C with 0,5 mm IPTG. Gene expression was assessed by SDS-page electrophoresis. For protein purification, affinity chromatography was performed using ni sepharose 6 fast flow (ge) resin. Fluorimetric assays was accomplished in spectrofluorimeter jasco fp-6500.

**Results.** Cloning and gene expression were successfully achieved, as well as protein purification. Spectrofluorimetric assay showed that the nanosensor exhibits fret at the ratio of 0,16 with a kd of  $1,32 \pm 0,41 \mu\text{m}$ .

**Conclusions.** The present result shows that the nanosensor can be used as a tool to evaluate the influx of *Xylose* in *S. cerevisiae*. This study sheds lights into sugar transport in yeast and aids the development of recombinant strains for *Glucose* and *Xylose* cofermentation. As future perspectives, we will analyze the affinity of other sugars for this nanosensor. Also, the nanosensor will be expressed in *S. cerevisiae* for *in vivo* studies.

### TLP-317. Evaluation of pichia anomala in co-culture with *S. cerevisiae* for the fermentation of sugar cane juice to produce cachaça

Amorim Juliana Cunha\*, Schwan Rosane Freitas\*, Duarte Whasley Ferreira\*

\*Universidade Federal De Lavras Brasil.

**Introduction.** Cachaça is a unique sugar cane spirit produced exclusively in Brazil with an alcohol content of between 38 and 48 % v/v at 20°C. The microbiota of traditional fermentation processes is complex and consists of both yeasts and bacteria. The aim of this study was to evaluate the use of mixed *S. cerevisiae* and *pichia anomala* cultures in the fermentation of sugar cane juice.

**Materials and methods.** The non-*Saccharomyces* yeast was previously tested in pure culture for their ability to grow in 12% ethanol, their *B-glucosidase* activity, flocculation, glycerol, ethanol and acetic acid production, fermentation kinetics and their production of volatile compounds.

**Results.** Of the mixed inocula, in comparison with the pure inocula of *S. cerevisiae*, the mixture gave the highest ethanol concentration (60,48 g/L), the lowest levels of residual glucose (8,16 g/L) and fructose (41,35 g/L), and the highest volumetric productivity (qp) of *Ethanol*. Twenty-three minor volatile compounds were identified in the fermented sugar cane juice. The mixed culture of *P. anomala* and *S. cerevisiae* gave the

highest concentration of volatile compounds with good sensory descriptors; these compounds included ethyl esters (224,08 µg/L), acetates (603,23 µg/L) and monoterpenic alcohols (154,52 µg/L). However, this mixed culture gave the highest concentration of volatile acids (3486,81 µg/L) and aldehydes (223,31 µg/L). In principal component analysis, the mixed inoculum was positively characterized ethyl acetate, butyric acid, decanoic acid, propionic acid, acetoin, acetaldehyde, furfural and isoamyl acetate.

**Conclusions.** We found that improvements could be achieved in the fermentation process with mixed culture, rather than pure, *S. cerevisiae* culture. The use of the non-*Saccharomyces* strain *P. anomala* in co-culture with *S. cerevisiae* may therefore be an interesting means by which to improve the quality of cachaça.

### TLP-318. Influencia da manipueira e vinhaça na produção de biossurfactantes por *Serratia marcescens* UCP 1549

Aurélia Languinho F.\*, Thiago Dos Santos A.\*, Dayana Montero R.\*, Rosileide Fontenele Da Silva A.\*, Weruska Brasileiro F.\*, Marcelo Maia De A.\*, Paulo Henrique Da Silva\*, Galba Maria\*

\*Universidade Estadual Da Paraíba, Universidade Federal De Pernambuco, Universidade Católica De Pernambuco, Brasil.

**Introdução.** Os biossurfactantes são compostos tensoativos sintetizados por microorganismos, com propriedades de emulsificação, dispersão, solubilização e de baixar a tensão superficial. O grande problema é que o custo de produção dos biossurfactantes é cerca de 3 a 10 vezes maior que custo dos surfactantes sintéticos. Portanto, nos últimos anos, tem aumentado continuamente o número de experimentos com diferentes espécies de microorganismos, usando substratos alternativos e condições de cultivo variadas, visando à obtenção de biossurfactantes e emulsificantes cada vez mais eficientes e econômicos. Este trabalho teve como objetivo a produção de biossurfactante por *Serratia marcescens* ucp 1549 em meio de baixo custo constituído por rejeitos de vinhaça e manipueira.

**Materiais e métodos.** A bactéria *S. marcescens* ucp 1549 foi obtida do banco de culturas do núcleo de pesquisas em ciências ambientais da universidade católica de pernambuco, e mantida à 50c em meio ágar nutriente. Para a produção do biossurfactante foi realizado um planejamento fatorial completo 23 e os meios foram incubados à 28oc e 155 rpm durante 72 h. O líquido metabólico foi utilizado para determinar a tensão superficial e o índice de emulsificação utilizando substratos hidrófobos: óleo pós-fritura, de milho e de girassol.

**Resultados.** Após 72 h de cultivo, o melhor resultado obtido na tensão superficial foram observados na condição 4 (manipueira 25% e vinhaça 4%) com 27,49 mn/m. Para o índice de emulsificação o melhor resultado obtido foi 83,28% nas condições centrais utilizando como substrato hidrofóbico o óleo pós-fritura.

**Conclusões.** Os resultados obtidos demonstraram a capacidade da bactéria *Serratia marcescens* ucp 1549 de crescer em meio a base de substratos de baixo custo e produzir biossurfactante com propriedades emulsificantes, com potencial para serem usados em processos de biorremediação.

### TLP-319. Avaliação da especificidade por ésteres de P-nitrofenila de uma lipase produzida por um fungo filamentosso (ROG 2.1.9)

Rafaela Rodrigues De Brito\*, José Carlos Quilles Junior\*, Janaína Pires Borges\*, Maurício Boscolo\*, Roberto Da Silva\*, Eleni Gomes\*

\*IBLCE/UNESP, Department of Biology Brasil.

**Introdução.** As *Lipases* são enzimas que catalisam reações em uma interface água/óleo (hidrólise) e também em meios orgânicos (esterificação e transesterificação) e, além disso, possuem elevada especificidade por substratos (tamanho da cadeia dos ácidos graxos ou número e posições das insaturações). Essas características elevam a importância dessas enzimas no âmbito industrial, uma vez que possibilitam e direcionam a obtenção de produtos específicos, como determinados aromas e os ácidos graxos poliinsaturados. Objetivo: avaliar a especificidade da lipase em relação a ésteres de *P-nitrofenila* com diferentes comprimentos da cadeia de carbono.

**Materiais e métodos.** A especificidade da lipase foi determinada testando a atividade lipolítica contra ésteres de ácidos graxos de p-nitro-

fenila pelo método espectrofotométrico. Foram avaliados diferentes ésteres de *P-nitrofenila*: *Butirato* (4c), *Decanoato* (10c), *Laurato* (12c) e *Palmitato* (16c), a 40°C, e os resultados foram expressos em u/mL.

**Resultados.** A lipase apresentou maior especificidade pelo decanoato de *P-nitrofenila* (3 u/mL), seguido pelo *P-nitrofenil Palmitato* (2,9 u/mL) e *P-nitrofenil laurato* (2,7 u/mL). De acordo com a literatura a especificidade de substratos das lipases pode ser atribuída a alterações na geometria e nas dimensões de seus sítios ativos e por isso varia entre as *Lipases* de diferentes micro-organismos.

**Conclusão.** A *Lipase* foi específica para ésteres de cadeia média (10c e 12c) e longa (16c), apresentando maior atividade contra decanoato de *P-nitrofenila*.

### TLP-320. Crea is involved in growth, conidiation and glucose repression of the production of penicillin in *Penicillium chrysogenum*

Ramón Ovidio García-Rico\*, Angela Maritza Cajiao P.\*, Carlos García-E.\*, Francisco Fierro F.\*, Juan Francisco Martín M.\*

\*Universidad de Pamplona Colombia.

**Introduction.** The creation of protein mediates carbon catabolite repression in filamentous fungi. It's a wide domain regulator that binds to regulatory elements in the promoters of target genes to repress their transcription. Previous studies have reported phenotypic alterations caused by the loss of *crea* (smaller colonies and fewer aerial hyphae and spores) in some filamentous fungi. It is known that penicillin biosynthesis is subject to carbon repression; however, evidence of the participation of *crea* in this regulation is still lacking. In the present study, we evaluated the role of the carbon repressor *crea* in the phenotype and production of penicillin in *P. chrysogenum*.

**Materiales y métodos.** Considering that the gene disruption is lethal, an *rnai* strategy was used to attenuate expression of the *crea* gene. We amplified an exon fragment that was used to construct plasmid *pcra-rnai*. *Rt-pcr* was used to verify the attenuation. As control, we used the parental *wisconsin 54-1255* strain untransformed and transformed with the empty vector *pj143-RNAI*.

**Resultados.** Transformants showed a lower apical extension rate in *czapek*, *pda* and power mediums, with respect to the wild type, after 7 days of incubation. Likewise, all transformants presented a markedly reduced conidiation with respect to the wild type, in all media tested. When assessed the production of the antibiotic, we observed that the transformants expressing a *siRNA* for *crea* showed higher *Penicillin* production, and this increase was more evident when glucose was used as carbon source.

**Conclusiones.** These data indicate that *crea* is involved in the regulation of conidiation process in *P. chrysogenum* and also exerts a control on growth on solid media cultures. On the other hand, these results confirm that *crea* plays an important role in the regulation of *Penicillin* biosynthesis in *P. chrysogenum*, and opens the possibility of its utilization to improve the process of penicillin production in the biotechnology industry.

### TLP-321. Produção de l(+) ácido láctico pela nova estirpe termotolerante, *Bacillus* sp. ARR4

Luciana Fontes C.\*, Susan Michelz B.\*, Daiane Cristina Sass\*, Paulo Marcelo Avila N.\*, Jonas Contiero\*

\*Universidade Estadual Paulista Brasil.

**Introdução.** O l(+) *Ácido láctico* é um ácido orgânico usado na produção de cosméticos, solventes orgânicos, acidulantes e flavorizantes, assim como na indústria de biopolímeros. O objetivo é obter elevadas concentrações de l(+) ácido láctico pela otimização do meio de cultura, usando subprodutos da agroindústria, a partir do *Bacillus* sp. Arr4 termotolerante.

**Materiais e métodos.** O meio de fermentação foi composto por açúcar cristal (100 g/l), pelos sais do meio *gyp* e por oito fontes de nitrogênio: extrato de levedura, autolisado de levedura (al), água de maceração de milho, farinha da semente de algodão, farinha de amendoim, farinha de soja, meio *gyp* e ureia, na concentração de nitrogênio de 3,05 g/l. Para avaliar a influência do açúcar cristal, do al, do *k2hpo4* e da biotina, na produção de ácido láctico, foi realizado um planejamento fatorial composto central. Todas as fermentações foram conduzidas em erlenmeyer de 125 mL, contendo 20 mL do respectivo meio de cultura, a 50°C e 100 rpm.

**Resultados.** Quando se comparou as fontes de nitrogênio, a melhor produção de l(+) ácido láctico (85,00 g/l) foi obtida com o al. Com relação aos resultados do planejamento experimental, observou-se que a maior produção de l(+) ácido láctico, o maior rendimento, a maior produtividade, assim como o menor valor de açúcar residual, foi de 83,60 g/l, 0,87 g/g, 3,48 g/l e 3,53 g, respectivamente, a partir de 100 g/l de açúcar, 30 g/l de al, 0 g/l de *k2hpo4* e 1 g/l de biotina.

**Conclusões.** Conclui-se que esse micro-organismo produz alta concentração de l(+) ácido láctico a 50°C, a partir de subprodutos da agroindústria, com menor teor de açúcar residual, relevante para posterior purificação.

### TLP-322. Biofilm formation, exopolysaccharides and pel-like operon in sulphur-oxidizing *Acidithiobacilli* species

Mauricio Diaz\*, Matias Castro\*, Mario Vera\*, Nicolas Guiliani\*

\*Laboratory Of Bacterial Communication, Department Of Biology, Faculty Of Sciences, University Of Chile. Chile.

**Introduction.** *Acidithiobacillus thiooxidans* and *Acidithiobacillus caldus* are Acidiphile bacteria only capable to oxidize reduced-sulphur compounds. Natural leaching activities are useful by mining industries to produce metallic values such as copper and gold but it is also responsible of water pollution called acid rock drainage which is a serious environmental problem. Several reports indicate that biofilm formation on metal sulfides is considered to be a prerequisite for bioleaching since the attached microorganisms are the ones which start and enhance the leaching process. Then during the last decade our laboratory has been focused on the characterization of molecular mechanisms involved in biofilm formation and *Exopolysaccharide* (EPS) productions by *Acidithiobacillus* sp. in order to develop biological improvement for mining industries and to manage environmental damages of natural bioleaching activities. Molecular components for a quorum sensing (QS) system and the second messenger cyclic diguanylate (C-DI-GMP) pathway, the two main pathways related to biofilm formation and EPS synthesis, have been characterized in *at. Ferrooxidans*, an iron-sulphur oxidizing specie, while the genome analysis of *at. Caldus* and *at. Thiooxidans* only allowed the identification of genes involved in C-DI-GMP metabolism and signal transduction.

**Materials and methods.** Genetic, biochemical and chemical studies have revealed that C-DI-GMP pathway is functional in all these *acidithiobacillus* species and intracellular levels are highest in adhered cells compared to planktonic ones.

**Results.** Moreover mutagenesis experiments strongly indicated that this pathway is involved in motility and attachment phenotypes in *at. Caldus*. In the course for the characterization of C-DI-GMP pathway, several putative C-DI-GMP effector proteins have been also identified.

**Conclusions.** Interestingly *pel*-like EPS operons were present only in *at. Caldus* and *at. Thiooxidans* suggesting a specific role for the attachment to solid substrates by both sulphur-oxidizing species. Here several results related to composition and expression of both *pel*-like EPS operons will be presented and submitted for discussion.

### TLP-323. Production of Ethanol using coffee by-products obtained from semi-washed process

Bonilla Hermosa Verónica Alejandra\*, Schwan Rosane Freitas\*, Duarte Whasley Ferreira\*

\*Universidade Federal De Lavras Brasil.

**Introduction.** In semi-dry processing, fruit pulp is removed by a pulper and the mucilage is washed before sun drying. Coffee pulp is rich in sugars, proteins, minerals and compounds considered toxic in nature. The water used for depulping and demucilage of cherries is known as coffee wastewater. The aim of this study was to evaluate the production of ethanol utilizing coffee pulp and coffee wastewater as substrate for fermentation.

**Materials and methods.** Fermentation was performed using erlenmeyer flasks containing a mixture of 10 g of coffee pulp and 100 mL of wastewater, sterilized at 121°C for 15 min. And 0.3 g/l of cells (dry weight) of *S. cerevisiae* ca11. Samples were taken for determination sucrose, glucose and fructose and ethanol by HPLC. To evaluate the fermentation performance, the ethanol yield factor, ethanol volumetric productivity and the conversion efficiency of sugars to ethanol were calculated.

**Results.** The total initial sugar concentration was 35.23 g/l. The residual sucrose, glucose e fructose content were 0.04 g/l, 0.23 g/l and 0.24 g/l, respectively. As a consequence of sugar consumption, the yeast produced 13.47 g/l of ethanol. The ethanol yield, volumetric productivity and conversion efficiency were respectively 0.39 g/g, 0.56 g/l h and 76.09% indicating that yeast was able to convert sugars into ethanol. The ethanol yield obtained was greater than that reported in literature using different coffee residues. It was observed that our ethanol production was quite satisfactory in comparison to literature data, since all those studies used acid or enzymatic hydrolysis of raw materials.

**Conclusions.** Coffee residues have a large potential as raw material for bioethanol production under the conditions of our work. The used yeast demonstrated to be a quite promising for fermentation of coffee residues. However further research is necessary to elucidate and maximize its potential

### TLP-324. Otimização dos parâmetros de hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar por ação da xilanase do fungo termofílico *thermoascus aurantiacus* expressa em cepa de *Pichia pastoris*

Débora Maria Cupertino De Souza S.\*, Angelica Rodrigues De Souza S.\*, Fernando Nogueira Barbosa B.\*, Eleni Gomes G.\*, Roberto Da Silva S.\*

\*Universidade Estadual Paulista "Júlio De Mesquita Filho" Brasil.

**Introdução.** O contexto atual da problemática energética mundial mostra uma diminuição dos combustíveis fósseis, motivando a busca por fontes energéticas alternativas. Uma das alternativas é a conversão de biomassas lignocelulósicas, de origem renovável, via hidrólise enzimática. Neste trabalho, objetivou-se avaliar as condições da hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar, a partir da utilização de *Xilanase* do fungo termofílico *thermoascus aurantiacus*, produzida por meio de expressão heteróloga em cepa gs116 de *Pichia pastoris*, durante 96 h, por indução com metanol 1% e dialisada tangencialmente em tampão citrato.

**Materiais e métodos.** Anterior a etapa de hidrólise, com intuito de aumentar a liberação de açúcares fermentáveis, o bagaço foi pré-tratado hidrotérmicamente e utilizado como substrato nas reações de hidrólise enzimática. Amostras de bagaço pré-tratadas (0,1 g) foram transferidas para frascos de vidro contendo 20 mL de uma mistura de tampão citrato (pH 5,0, 0,1 m), através da metodologia de superfícies de resposta avaliou-se as variáveis tempo de hidrólise (24, 48, 72 e 96 h) e concentração da enzima (40, 63, 80, 100 u.mL<sup>-1</sup>). As misturas de reação foram incubadas a 55 °C, sob agitação de 150 rpm, filtrada e o material solúvel usado para a determinação de açúcares redutores totais (ATR) pelo método de DNS. As amostras hidrolisadas com os teores de art mais elevados foram encaminhadas para análise cromatográfica de troca aniônica de alta eficiência com detecção amperométrica pulsada.

**Resultados.** No momento, com relação a concentração de enzima, a melhor condição testada foi de 63 u.mL<sup>-1</sup>, em relação ao tempo de hidrólise, o teor de atr manteve-se praticamente inalterado entre os tempos de 48 e 72 h.

**Conclusões.** Novas análises em relação a porcentagem de matéria seca do bagaço pré-tratadas estão sendo realizadas, a fim de otimizar as condições da hidrólise enzimática, na tentativa de adequar o uso da enzima em processos industriais.

### TLP-325. Produção de d(-) ácido láctico pelo *Sporolactobacillus* sp. GS1RD a partir de açúcar cristal e água da maceração de milho

Luciana Fontes C.\*, Susan Michelz B.\*, Daiane Cristina Sass\*, Paulo Marcelo Avila N.\*, Jonas Contiero\*

\*Universidade Estadual Paulista Brasil.

**Introdução.** O ácido láctico é utilizado na produção de plásticos renováveis e biodegradáveis. O objetivo deste trabalho é obter elevadas concentrações de d(-) ácido láctico pela otimização do meio de cultura, usando subprodutos da agroindústria, a partir do *Sporolactobacillus* sp. Gs1rd.

**Materiais e métodos.** O meio de fermentação foi composto de 100 g/l de açúcar cristal, 10 g/l de acetato de sódio, os sais do meio gyp, 50 g/l de CaCO<sub>3</sub> e as sete diferentes fontes de nitrogênio a serem avaliadas, com concentração de nitrogênio de 3,05 g/l: autolisado de *Levedura*, extrato de *Levedura*, farinha de semente de algodão, água de maceração de milho (AMM), farinha de soja, farinha de amendoim e ureia. Para avaliar

a influência das variáveis, açúcar, amm, acetato e solução de sais do meio gyp, na produção de ácido láctico, foi realizado um planejamento fatorial composto central. As fermentações foram conduzidas em erlenmeyer de 125 mL, contendo 20 mL de meio de produção, a 35°C e 100 rpm.

**Resultados.** A maior produção de d(-) ácido láctico (84,86 g/l) foi obtida com a amm, sendo que o açúcar residual foi de 6,3 g/l. Com relação aos resultados do planejamento experimental, observou-se que o acetato, assim como os sais do meio gyp não foram significativos e a maior produção de d(-) ácido láctico (83,80 g/l) e menor açúcar residual (6,57 g/l) foi obtida a partir de 105 g/l de açúcar cristal e 57,5 mL/l de amm, após 48 h.

**Conclusões.** Conclui-se que esse micro-organismo foi capaz de produzir alta concentração de d(-) ácido láctico a partir de subprodutos da agroindústria economicamente viáveis.

### TLP-326. Caracterização molecular do *Colletotrichum gloeosporioides* e verificação da presença da rota biossintética de Paclitaxel (taxol) através de marcadores moleculares

Hortência Farias De Andrade\*, Priscilla Andrade De Moura\*, Amanda Virgínia Barbosa\*, Graciely Gomes C.\*, Mariana Gomes V.\*, Meiriana Xavier Vila N.\*, Márcia Vanusa Da Silva\*

\*Departamento de Antibióticos/Universidade Federal De Pernambuco. Cidade Universitária, Recife - PE. Departamento De Bioquímica/Universidade Federal De Pernambuco. Brasil.

**Introdução.** Atualmente as plantas possuem mecanismos promissores, evolutivamente, e que propiciam uma excelente integração no que diz respeito planta-microorganismo. Alguns estudos demonstram que os microorganismos possuem importantes funções para os seus hospedeiros, pois podem sobreviver em simbiose e mutuamente. Em 1993 foi registrado pela primeira vez, um fungo produtor de taxol, um diterpenóide e tem efeito contra o câncer de mama e o útero. O objetivo do presente trabalho foi caracterizar molecularmente o fungo endofítico *Colletotrichum gloeosporioides* e realizar um rastreamento primário, por meio de genes chaves da via biossintética, a possível produção do paclitaxel.

**Materiais e métodos.** Foi utilizada o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, depositado na micoteca - URM na UFPE em 2013, da folha da planta plantago major l. A extração do DNA foi realizada por meio da técnica ctab descrita por murray e thompson 1980, com algumas modificações. O DNA foi amplificado por pcr com primer universal its 1 e its 4. Logo após foi feita um rastreamento primário com três genes chaves na rota biossintética do paclitaxel por pcr. Os primer's utilizados foram: TS-F, TS-R, DBAT-F, DBAT-R, BAPT-F, BAPT-R.

**Resultados.** A caracterização molecular permitiu a comparação e confirmação do gênero e espécie, através do national center for biotechnology information (NCBI), usando o blast. A pcr com os genes específicos da biossíntese do paclitaxel permitiu a confirmação da presença desses genes, o que sugere a possível produção do paclitaxel pelo fungo *colletotrichum gloeosporioides*.

**Conclusões.** Dessa forma, verifica-se que o fungo endofítico *Colletotrichum gloeosporioides* possui a rota da biossíntese do paclitaxel e por isso pode ser um excelente produtor desse antitumoral. Faz-se necessário análises posteriores como: extrato em fase orgânica para qualificação da produção do paclitaxel, por meio do HPLC.

### TLP-327. Novas lipases para a síntese de biodiesel: microrganismos associados à palma de óleo (*Elaeis guineensis*) e seu potencial biotecnológico

Léia C. L. Fávoro Leia\*, Lucas S. Leite\*, Jheniffer R. Cunha\*, Larissa C. R. Magalhães\*, Carolina M. Poletto\*, Paula F. Franco\*, Jorge S. Antonini\*, Thais F. C. Salum\*

\*Embrapa Agroenergia Brasil.

**Introdução.** A produção de biodiesel por rota enzimática é uma alternativa ao processo de catálise alcalina, no entanto, a baixa eficiência e o alto custo das lipases impedem seu uso em escala industrial. O objetivo deste trabalho foi isolar bactérias e fungos associados aos frutos de dendê e caracterizá-los quanto à produção de lipases visando sua aplicação na síntese de biodiesel.

**Materiais e métodos.** Frutos de dendê cultivado no cerrado brasileiro foram processados para o isolamento de bactérias, fungos filamentosos



e leveduriformes em diferentes meios de cultura. A atividade lipolítica foi avaliada em trioleína, óleo de oliva e tween 20 e o índice enzimático foi calculado em triplicata. As bactérias foram identificadas por meio de análise da região 16s do DNAR e os fungos foram identificados por meio de análise da região its1-5.8s-its2.

**Resultados.** De 664 linhagens bacterianas, 9,1% apresentaram atividade lipolítica em pelo menos um dos substratos avaliados. Ao todo 22 linhagens que apresentaram índice enzimático elevado foram identificadas como *Burkholderia* sp., *Erwinia* sp., *Falsibacillus* sp., *Gibbsiella* sp., *Kluivera* sp., *Leclercia* sp., *Estenotrophomonas* sp. De 800 fungos (sendo 400 filamentosos e 400 leveduriformes), cerca de 10% foram capazes de degradar pelo menos um dos substratos avaliados, e a identificação das linhagens selecionadas será apresentada.

**Conclusões.** Este trabalho mostrou que bactérias e fungos associados à palma de óleo constituem uma fonte prolífica de linhagens com potencial biotecnológico. Os micro-organismos selecionados serão avaliados quanto à produção de lipases por testes quantitativos visando sua aplicação na síntese de biodiesel a partir de óleo de dendê.

### TLP-328. Growth of *scenedesmus obliquus* with ethanol under batch and fed-batch processes

Marcelo Matsudo\*, Thais Fukui De Sousa\*, Lina Susana Perez M.\*, Raquel Pedrosa B.\*, Sunao Sato\*, Joao Carlos Monteiro De C.\*

\*Universidade Federal De Itajubá, Brasil.

**Introduction.** *Scenedesmus obliquus* may be an important source of biomolecules, such as lipid, protein, and pigments. It is usually cultivated under photoautotrophic conditions, but mixotrophic cultivation could potentially yield a higher biomass concentration. Ethanol may be an attractive carbon source for this microalga, but high amount may be harmful for growth. This study evaluated the effect of adding ethanol for the cultivation of *scenedesmus obliquus* under batch and fed-batch processes.

**Materials and methods.** *S. obliquus* (utex b2630) was cultivated in erlenmeyer's flasks with 200 mL of bold's basal medium, kept on a rotary shaker at 100 min<sup>-1</sup>, under 25 oc and continuous light intensity of 60 ± 5 µmol.m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>. The initial biomass concentration was 60 ± 5 mg.l<sup>-1</sup>. Ethanol was added at different concentrations: 5.75 ~ 7,360.00 mg.L<sup>-1</sup> for batch cultures and 5.75 ~ 763.00 mg L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup> (throughout 10 days) for fed-batch cultures.

**Results.** Single addition of ethanol up 460.00 mg.l<sup>-1</sup> did not influence cell growth, but above this threshold, different concentrations of ethanol had positive effect on maximum cell concentration (XM). On the other hand, when ethanol is daily added, even the smallest ethanol concentration (5.75 mg.l<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>; total concentration = 57.5 mg.l<sup>-1</sup>) positively influenced xm. Daily addition of 368 mg.l<sup>-1</sup> (fed-batch culture) throughout 10 days (total ethanol concentration = 3,680 mg.l<sup>-1</sup>) allowed the best cell growth of this study, with xm = 1068.70 mg.l<sup>-1</sup>, a value 2.83 fold higher than in control culture, without ethanol addition (377.55 mg.l<sup>-1</sup>). Cell growth was inhibited by the single addition of 3,680 mg.l<sup>-1</sup> (batch culture) or daily addition of 736 mg.l<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup> (total concentration of 7,360 mg.l<sup>-1</sup>).

**Conclusions.** Microalgal growth was significantly improved in ethanol supplied cultures. Moreover, the addition of this organic carbon source by fed-batch process allowed the highest biomass production with an ethanol concentration that hindered cell growth by batch process.

### TLP-329. In vitro probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from minas artisanal cheese produced in campo das vertentes - Brazil

Felipe Machado De S.\*, Leonardo Borges A.\*, Luige Biciati Alvim\*, Renata Dias De C.\*, Leticia Goulart O.\*, Alvaro Cantini N.\*, Andréia Marçal Da S.\*, Jacques Robert N.\*

\*Marc. Escola De Veterinária Da Universidade Federal De Minas Gerais Brasil.

**Introduction.** Minas gerais state is known for its famous artisanal cheese, made from raw milk and inoculated with endogenous culture named "pingo". Due to its artisanal production, that cheese is rich in lactic acid bacteria (LAB), which may show probiotic potential. The aim of this study was to evaluate *in vitro* probiotic potential of lab isolated from minas artisanal cheese produced in campo das vertentes region.

**Materials and methods.** Lab were isolated and enumerated on m17 and mrs agars, submitted to screening tests such as gram and catalase,

followed by molecular identification by 16s-23s pcr and 16s DNA sequencing. The selected lab were submitted to biliar salts tolerance, acid resistance and "spot-on-the-lawn" antagonism against ATCC pathogens (*Escherichia coli* ATCC 25723; *Staphylococcus aureus* ATCC 29213; *Shigella flexneri* ATCC 25875; *Enterococcus faecalis* ATCC 19433; *Salmonella thyphimurium* ATCC 14028 and listeria monocytogenes ATCC 15313), two pathogens isolated from the cheese (*Staphylococcus aureus*; *Escherichia fergusonii*) and two lab isolated from the cheese to verify occurrence of self inhibitor (*Lactobacillus plantarum* 1 and *Lactobacillus plantarum* 2).

**Results.** From a total of 36 lab samples, 26 showed inhibition rate lower than 25% for biliar salts. For acid resistance in 1.5 ph, eight lab performed resistance over 40%. The *in vitro* antagonism for these eight selected lab, the results showed that *E. coli*; *S. flexneri* and *E. fergusonii* were significantly inhibited over the other revealing samples (p<0.05).

**Conclusions.** Therefore, it is observed that these lab may contribute to reduce important pathogens often present in minas artisanal cheese and improve its safety.

### TLP-330. Análise proteômica diferencial de *Saccharomyces cerevisiae*: fermentação em alta e baixa concentração de sacarose

Gabriela De Sá Azarias\*, Heloisy Suzes B.\*, José Roberto Erandes\*, João Atilio Jorge\*, Luis Henrique Souza G.\*

\*Departamento De Bioquímica E Tecnologia Química, Instituto De Química, Universidade Estadual Paulista "Julio De Mesquita Filho", Araraquara, Brasil. Departamento De Biologia, Faculdade De Filosofia, Ciências E Letras De Ribeirão Preto, Univers Brasil.

**Introdução.** O mercado mundial de bioetanol combustível vem crescendo a cada ano. Desta maneira, o conhecimento bioquímico e fisiológico dos microrganismos utilizados nos processos fermentativos, bem como conhecimento e otimização dos meios de cultivo e das condições fermentativas têm grande importância. Neste contexto, a análise proteômica é uma ferramenta importante na elucidação das alterações sofridas pelo microrganismo quando exposto a adversidades como, por exemplo, variações de teor de sacarose no mosto de acordo com cada safra, fator recorrente nos processos fermentativos industriais. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi analisar o proteoma de *Saccharomyces cerevisiae* linhagem cat-1, microrganismo extensivamente utilizado nas usinas brasileiras, cultivada em alta (30%) e baixa (14%) concentrações de sacarose.

**Materiais e métodos.** Após o cultivo com alta densidade celular em mosto industrial por 10 h, as células foram maceradas com nitrogênio líquido, sendo os extratos celulares submetidos à eletroforese bidimensional. Foram aplicadas 250 µg de proteínas na primeira dimensão (focalização isoeletrica; pH 3,0 a 10,0), seguindo para a segunda dimensão em sds-page (12%).

**Resultados.** Foram obtidas bandas protéicas, as quais foram analisadas através do software PDQuest® (biorad). Destas, 26 bandas protéicas estão presentes em ambas as amostras, ocorrendo diferentes níveis de expressão de acordo com a condição de cultivo utilizada. Adicionalmente, a atividade invertásica, bem como a biomassa, viabilidade celular e produção de etanol foram analisadas, sendo os melhores resultados obtidos quando a levedura foi cultivada em alta concentração de sacarose (30%).

**Conclusões.** Os cultivos realizados com 30% de sacarose apresentaram os melhores resultados frente a todos os parâmetros propostos por este trabalho, evidenciando um melhor desempenho da levedura cat-1 em cultivos com elevados teores de açúcares dissolvidos no meio, favorecendo altos rendimentos de produto. A análise dos diferentes níveis de expressão protéica para estas condições sugere alterações bioquímicas relevantes no microrganismo, evidenciando sua íntima interação com o meio fermentativo.

### TLP-331. Produção e purificação do fragmento de anticorpo anti LDL(-) por *Pichia pastoris* geneticamente modificada

Adalberto Pessoa J.\*, Talita Evaristo Da Silva N.\*, Juan Carlos Torres S.\*, Daniel Francisco Weinacker P.\*, Cesar Andres Diaz A.\*

\*Universidade de Sao Paulo Brasil.

**Introdução.** *Pichai pastoris* é uma levedura utilizada nos últimos anos como um dos principais sistemas de expressão de proteínas heterologas, tendo como vantagens a capacidade de fazer glicosilação por ser um sistema eucariótico, crescer em altas densidades celulares, não

apresentar grande atividade de proteases, e de direcionar as proteínas de interesse a o meio de cultivo. Objetivo. Produzir o fragmento de anticorpo SCFV anti LDL(-), esse fragmento de anticorpo têm demonstrado grande possibilidade de ser empregado como kit de diagnóstico em doenças como aterosclerose, o processo foi desenvolvido em biorreator de 10 L, utilizando o promotor de expressão aox.

**Materiais e métodos.** A produção do anticorpo foi realizada em fermentador de 10 L contendo meio de cultivo bmgj modificado, a fase de crescimento foi realizada em 30°C Por 28 h, posteriormente foi realizada a indução com metanol a cada 12 h de produção durante 96 h de cultivo total, segundo o depósito de patente No. Br 10 2014 004106-0. La purificación del anticuerpo se realizó por filtración tangencial na primeira etapa e seguidamente foi realizada cromatografía de afinidade com columna ni sepharose 6 fast flow.

**Resultados.** Foi realizado um gradiente de concentração na cromatografía de afinidade para determinar a concentração exata de imidazol para eluir a fração de anticorpo após disso foi realizada uma cromatografía em steps para visualizar e melhorar o processo de purificação, a produção final de anticorpo foi de 100 mg/L.

**Conclusões.** Tais resultados indicam que os processos de produção e purificação de proteínas heterólogas devem ser estudados para a obtenção e otimização das proteínas de interesse, por outro lado a eluição com imidazol é um interferente na quantificação e na pureza destas biomoléculas, porém os gradientes de concentração oferecem as melhores condições para trabalhar com as mínimas concentrações necessárias.

### TLP-332. Patogenicidad de *Bacillus thuringiensis* sobre estados inmaduros de *Aedes aegypti* (Diptera: culicidae)

Liseth García L.\*, Aldo Ibarra R.\*, Pedro Frago C.\*

\*Universidad Popular del Cesar, Colombia.

**Introducción.** *Bacillus thuringiensis* es la bacteria entomopatógena más utilizada entre los bioinsecticidas comerciales, para controlar el mosquito transmisor del virus dengue (*Aedes aegypti*. Linnaeus, 1762) debido fundamentalmente a su selectividad, efectividad y la baja residualidad que impide el fenómeno de la resistencia. Objetivo. Determinar la actividad insecticida de *Bacillus thuringiensis* aislados de lechos de secado de lagunas de oxidación, contra larvas de tercer y cuarto instar de *Aedes aegypti*.

**Materiales y métodos.** Se aislaron e identificaron *Bacillus thuringiensis* mediante pruebas microscópicas y bioquímicas. Se realizaron bioensayos con larvas de tercer y cuarto instar de *Aedes aegypti* variedad rockefeller, para determinar la patogenicidad de los aislados de *Bacillus thuringiensis*.

**Resultados.** Se obtuvieron 45 aislados de *Bacillus thuringiensis* en los 4 lechos de secado analizados. Se determinó el efecto tóxico de 5 de los aislados de *Bacillus thuringiensis*. Los porcentajes de mortalidad larvaria alcanzados fueron de un 30%.

**Conclusiones.** Se lograron obtener 5 aislados de *Bacillus thuringiensis* que mostraron un efecto positivo para el control de larvas *Aedes aegypti*; estos aislados pueden ingresar al banco de bacterias utilizadas en el biocontrol de insectos.

### TLP-333. Experiencia institucional como miembro de la sesión de colecciones de cultivos microbianos y otros materiales biológicos

Nancy Burquet L.\*, José Antonio Trimiño R.\*, María Antonia Otero C.\*

\*Laboratorios Liorad Cuba.

**Introducción.** En nuestro país existe un grupo de especialistas responsables del mantenimiento y conservación del acervo microbiano depositado en sus instituciones, muchos de los cuales son miembros de la sesión de colecciones de cultivos microbianos y otros materiales biológicos que tiene un alcance nacional. La UEB Laboratorios Liorad, es una institución perteneciente a la industria biofarmacéutica cubana, destinada a la producción de inyectables de pequeño volumen, dispone de una colección de cepas procedentes de subcultivos primarios de cepas de referencia que se emplean en esquemas de certificaciones de calidad de estricto cumplimiento en este tipo de industria. El presente

trabajo tiene como objetivo: mostrar la experiencia institucional de tras su incorporación desde hace nueve años a esta sesión.

**Materiales y métodos.** Se designaron dos representantes de la institución (como miembros), los cuales desde su incorporación han mantenido una labor activa en: 1- participación en las reuniones y balances anuales, 2- recepción de cursos y talleres como parte de la gestión del conocimiento, 3- participación en eventos nacionales e internacionales presentando trabajos relacionados con esta temática, 4- impartiendo conferencias y cursos, 5- logrando premios y 6- publicando en revistas de impacto científico. El laboratorio como miembro institucional (representado por la dirección del centro) fue sede del taller de las colecciones de cultivo microbianos, celebrado en el 2008.

**Resultados.** Se muestran las actividades realizadas de la sesión a través de la participación de Liorad. Se ha intercambiado experiencia con prestigiosos profesionales que laboran en esta temática

**Conclusiones.** Se ha ganado en experiencia institucional, al estar incorporado a la sesión ya que el personal ha crecido profesionalmente, lo que se demuestra con el desempeño laboral obtenido y el trabajo científico mostrado.

### TLP-334. Co-fermentação para produção de etanol em diferentes concentrações de hidrolisado ácido de casca de soja

Natália Righetti Rocha Trinca\*, Crispin Humberto Garcia-Cruz\*

\*Universidade Estadual Paulista "Júlio De Mesquita Filho" - São José Do Rio Preto/SP Brasil.

**Introdução.** A aplicação de dois ou mais micro-organismos para a produção de bioprodutos tem se mostrado eficaz. Como vantagens da co-fermentação podem-se citar menor tempo de fermentação, maior produção e diminuição do açúcar residual. O objetivo deste trabalho foi verificar a produção de etanol em meio de cultura contendo diferentes concentrações de hidrolisado ácido de casca de soja com desintoxicação, empregando-se co-fermentação.

**Materiais e métodos.** Os dois micro-organismos utilizados foram a bactéria *Zygomonas mobilis* e a levedura *Candida tropicalis*. A casca de soja foi triturada e realizou-se a hidrólise com ácido sulfúrico a 1,5 % (v/v) por 15 minutos em autoclave a 121°C. Após a hidrólise o conteúdo foi centrifugado a fim de se separar o caldo da casca de soja remanescente. A seguir o caldo (hidrolisado) foi desintoxicado com carvão ativado em pó na concentração de 2,5 % (m/m). Este meio foi chamado meio de cultura com hidrolisado desintoxicado. As condições para fermentação foram 50 e 100 g/l de concentração de substrato, 30 °C pH 6,5. Após as primeiras 8 h de fermentação, foram retiradas amostras a cada duas horas até completar 24 h. O etanol foi quantificado pelo método espectrofotométrico proposto por Kaye; HAAG (1954) utilizando-se dicromato de potássio e expresso em g/l.

**Resultados.** A maior produção de etanol obtida (47,7 g/l) foi na concentração de 100 g/l de hidrolisado desintoxicado em 8 h de fermentação. A menor produção foi de 10,3 g/l com 50 g/l de substrato em 24 h de fermentação. No mesmo tempo de fermentação utilizando-se 50 g/l de hidrolisado desintoxicado a produção de etanol foi de 21,2 g/l, quantidade próxima a metade da maior produção (47,7 g/l).

**Conclusões.** Apesar de a diferença ser pequena entre as produções esta diferença foi significativa, indicando que a fermentação com 100 g/l foi maior quando comparado com a concentração de 50 g/l.

### TLP-335. Production of *Pleurotus ostreatus* mushrooms in sisal residue

Caroline Moura\*, Laélia Soares De Assunção\*, José Maria Rodrigues Da Luz\*, Maria Catarina Megumi K.\*

\*Universidade Federal De Viçosa (UFV) Brasil.

**Introduction.** Mushrooms cultivation using agro-industrial waste is a viable alternative for reducing the environmental impact. Sisal is the main source of extraction of vegetable hard fibers, being cultivated on large scale in the northeastern of Brazil for being used by naval and automotive industries. However, more than half of the fiber is discarded. Considering the ability of *P. ostreatus* to grow on lignocellulosic substrates, the aim of this study was to evaluate the biological efficiency (BE) and the nutritional composition,  $\beta$ -glucan content and antioxidant activity of *P. ostreatus* mushrooms grown in sisal residues.

**Materials and methods.** The sisal residues, supplemented or not with wheat bran, were lime treated, centrifuged and inoculated by two isolates *P. ostreatus* (PLO02 or PLO11). The be was calculated as ((fresh mushrooms weight/substrate weight) x 100). The antioxidant activity was evaluated using DPPH and the chemical composition (proteins, fat, carbohydrates) were analysed using the aoac procedures. For  $\beta$ -glucan the methodology was based on the chemical and enzymatic hydrolysis.

**Results.** The be was not affected by the isolates. However, the addition of the bran reduced the eb. No difference was also observed among the isolates in relation to the content of protein, lipids and carbohydrates. Furthermore, mushrooms showed a high antioxidant activity, independently of the isolate and substrate used. However, B-glucan content was higher in the mushroom cultivated with wheat bran addition and in isolate plo11.

**Conclusions.** *P. ostreatus* mushrooms grown in sisal residues have high nutritional value, being rich in protein and  $\beta$ -glucan, and poor in fat, with antioxidant action. The pure sisal residue has a great potential for production of edible mushrooms *P. ostreatus*. However, the addition of wheat bran can increase the  $\beta$ -glucan content. Moreover, *P. ostreatus* cultivation is a source of food with functional properties and alternative income for small farmers in the Brazilian semi-arid.

### TLP-336. Microbiota nativa asociada a la vinculación de origen del queso costeño del departamento del Atlántico- Colombia

Clara Gilma Gutierrez C.\*, Mallorys Rosed Rodriguez M.\*,  
María Conchita Bacca C.\*, Ilba Ines Burbano C.\*

\*Universidad Libre Seccional Barranquilla, Colombia.

**Introducción.** La selección de cepas lácticas autóctonas para su incorporación en procesos de producción quesera, requiere de la identificación de aislados candidatos a la conformación de consorcios microbianos como línea base para el mejoramiento de la inocuidad e innovación biotecnológica del queso costeño, cuya importancia se manifiesta por una larga tradición gastronómica y cultural de la región caribe. La determinación de consorcios microbianos en este producto local, dará como resultado la validez científica de un producto típico que alberga historia, costumbres y tradiciones otorgándole ventajas competitivas para afrontar los retos de la globalización de la cadena láctea colombiana. Objetivo general: caracterizar microbiota benéfica involucrada en procesos de vinculación de origen del queso costeño artesanal del departamento del Atlántico.

**Materiales y métodos.** El aislamiento se realizó en medio MRS en anaerobiosis, purificándolos mediante técnicas de agotamiento y dilución. Su caracterización consideró criterios de morfología macroscópica, microscópica y bioquímicos. La identificación molecular se realizó por análisis de secuencias completas y parciales de los genes 16s rRNA y PHES.

**Resultados.** Se identificaron mediante análisis de secuencias del gen 16s rRNA, aislados pertenecientes a los géneros *Lactobacillus* y *Pediococcus*. En el primer caso las especies correspondieron a *L. fermentum*, *L. rhamnosus* y *L. paracasei*. La muestra agrupada en el género *Pediococcus* mostró congruencia molecular con la especie *P. pentosaceus*.

**Conclusiones.** Los árboles filogenéticos basados en el gen 16s rRNA clasificaron a los aislados como *L. fermentum*, *L. rhamnosus*, y *L. paracasei*; la filogenia basada en el gen PHES solo confirmó la asignación a especie de aislados de *L. fermentum* y *P. pentosaceus*.

### TLP-337. Isolamento de leveduras em indústria de refrigerante e avaliação da susceptibilidade a ação antimicrobiana dos agentes sanitizantes de uso industrial

Tatiane Camacho C.\*, Fernando Nogueira B.\*,  
Roberto Da Silva\*, Eleni Gomes\*

\*Universidade Estadual Paulista "Júlio De Mesquita Filho"  
Instituto De Biociências, Letras E Ciências Exatas,  
Campus De São José Do Rio Preto, São Paulo, Brasil.

**Introdução.** Refrigerantes são bebidas gaseificadas, adicionadas de açúcares, que oferecem condições favoráveis ao desenvolvimento de

fungos leveduriformes levando a biodeterioração deste produto. De acordo com o histórico de análises da indústria bebidas Poty Ltda, localizada na cidade de Potirendaba – SP, onde foram detectados alguns pontos de contaminação por leveduras dentro do fluxo de produção, as quais têm apresentado certa resistência aos sanitizantes regularmente utilizados. Objetivo do trabalho foi isolar leveduras de matérias primas e diversos equipamentos da produção e avaliar o perfil de resistência/sensibilidade dos isolados frente aos sanitizantes de uso industrial, buscando conhecer a eficácia.

**Materiais e métodos.** Os isolados foram testados quanto à capacidade de crescimento/inibição em meio líquido na presença do saneante ácido peracético de duas marcas diferentes: Johnson Diversey® nas concentrações 0,5%, 0,2% e 1,0%, onde a recomendada pelo fabricante é de 0,2% e o Ecolab Química Ltda.® nas concentrações 1%, 0,5% e 2%, sendo a concentração recomendada de 1%. O teste foi realizado em placas de elisa estéreis, contendo 120  $\mu$ l de meio com os sanitizantes e 0,60  $\mu$ l de inoculo, volume correspondente a 104 UFC/mL. Após período de incubação de 24 a 48 h, a 28°C, as absorvâncias das placas foram mensuradas em espectrofotômetro a 600 nm.

**Resultados.** Foram isoladas 26 linhagens, provenientes apenas em águas de enxágüe após a sanitização das linhas de produção. Das 26 cepas testadas no produto da marca comercial Johnson Diversey®, 05 cepas apresentou resistência na concentração de 0,2%, 01 cepa na concentração de 0,5% e as demais foram totalmente inibidas na concentração de 1%. Já no teste com o Ecolab Química Ltda® todas as concentrações testadas foram capazes de inibir 100% dos isolados.

**Conclusões.** Concluiu-se que o ácido peracético da marca Ecolab Química Ltda.® apresentou mais eficiente na inibição das leveduras quando comparado com o da marca Johnson Diversey®.

### TLP-338. Diversidade bacteriana em biofilmes que causam biocorrosão em torres de resfriamento de refinaria de petróleo

Patricia F. Lopes De Oliveira\*, Rubens Duarte\*, Isabel NS. Garcia\*,  
Ana Paula Torres\*, Maira P. Sousa\*, Valéria M. De Oliveira\*

\*UNICAMP - Universidade Estadual De Campinas Brasil.

**Introdução.** Estudos relacionados à diversidade microbiana em torres de resfriamento de refinarias de petróleo são de grande importância para a compreensão das interações que ocorrem entre estes micro-organismos e definição de estratégias de controle. O presente projeto tem como objetivos a caracterização de comunidades bacterianas formadoras de biofilmes em torres de resfriamento a fim de investigar a diversidade e composição da microbiota e identificar os micro-organismos responsáveis pela biocorrosão.

**Materiais e métodos.** Para isto foi investigada a comunidade bacteriana de biofilmes formados em cupons metálicos colocados nas torres de resfriamento da refinaria Regap (Gabriel passos, mg) utilizando a técnica sequenciamento em larga escala pela plataforma 454. O DNA foi extraído dos biofilmes formados nos cupons metálicos nos dias 1, 3, 7, 14 e 28 utilizando o kit powerbiofilm DNA isolation (mobio). Em paralelo, a formação de biofilme foi acompanhada *in vitro* utilizando placas ELISA com mini-cupons acoplados à parte inferior da tampa. A água da torre de resfriamento foi utilizada como inóculo com e sem meio de cultivo. Após 5 dias de incubação o DNA foi extraído dos biofilmes formados nos cupons e encaminhado para sequenciamento em larga escala.

**Resultados.** Os resultados mostraram que a amostra da água da torre foi a que apresentou maior diversidade com 77 diferentes espécies de bactérias, a água da torre com cupom metálico apresentou 53 espécies e a água da torre juntamente com meio de cultivo e o cupom revelou a presença de 14 diferentes espécies. Estes resultados demonstraram a seleção de determinadas populações em função do uso do meio de cultivo, reduzindo a diversidade bacteriana original presente na água da torre.

**Conclusões.** Este estudo nos permitiu obter conhecimento sobre os grupos de micro-organismos responsáveis pelo início da formação do biofilme, fornecendo subsídios para a formulação de estratégias anti-biofouling em sistemas de torres de resfriamento de refinarias de petróleo.

### TLP-339. Identification and tracking of *Metarhizium* spp. with the use of microsatellite markers SSR

Elaine Cristina Vicente B.\*, Eleni Gomes\*, Miklos Maximiliano Bajay\*, Francine Carla Morini R.\*, Eder Antonio Gigliotti\*

\*Programa De Pós-Graduação Em Microbiologia – Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho” Campus De São José Do Rio Preto, Laboratório De Bioquímica E Microbiologia Aplicada, IBILCE/UNESP- São José Do Rio Preto-Departamen Brasil.

**Introduction.** The fungus *Metarhizium* spp. is currently used as an effective bioinsecticide against different insects. To evaluate as a bioinsecticide, it is important to investigate genetic variations among isolates. The present work aimed to study variations, genetic diversity and to know the genetic relationship among the population of *Metarhizium* spp. Composed of 68 isolates from different Brazilian regions, hosts and research institutes.

**Materials and methods.** The isolates were grown in oatmeal liquid medium to obtain mycelium which was used for DNA extraction. The characterization of microsatellite loci was performed with eight polymorphic ssrmarkers and pcrreactions were performed for each locus. The product of these reactions was diluted and internal labeled with fluorescent marker (rox), and then analyzed by capillary electrophoresis with alleles detection by fluorescence, in automatic analyzer. The size estimation of alleles in base pairs, the peak filtering and interpretation of data, defining the genotype of each individual, were performed with the genescan software 3.0 and genotyper 2.0. The program structure 2.3 provided the genetic organization of isolates and allocated in similar genetic groups and arlequin3.1 was used for molecular variance analysis (amova) and fixation index (fst). The structuring of variability was visualized by dendrograms, constructed by genetic distance matrix, calculated using the similarity coefficient jaccard, and by the upmagrouping criteria in the pastprogram.

**Results.** The eight SSR Loci used allowed the detection of 40 haplotypes in the *Metarhizium* spp. population, indicating high genetic diversity. Five main groups were identified. The amova, indicated that 63.02% of the total genetic variability was explained by the variation between groups, while the variance within groups accounted for only 36.98%. The fst was 0.63, indicating that there was high genetic variability among *Metarhizium* spp. isolates, especially among 5 groups formed.

**Conclusions.** The results indicate the high capacity of ssrmarkers for identification and traceability of isolates in bio-insecticide.

### TLP-340. Toxicidade do precursor ácido butírico no cultivo de *Bacillus megaterium* para produção de P(3HB)

Mariane Igansi A.\*, Amanda Ávila R.\*, Karine Laste M.\*, Angelita Da Silveira M.\*, Claire Tondo V.\*

\*Univerisade Federal De Pelotas Brasil.

**Introdução.** Poli(3-hidroxibutirato) (P(3HB)) é um biopolímero intracelular bacterianobiocompatível, biodegradável, que utiliza fonte de carbono renovável na sua síntese por fermentação. Por possuir propriedades mecânicas similares ao polipropileno, o P(3HB) possui grande interesse científico e comercial. Ainda apresenta valor comercial bastante elevado. Aumentar o acúmulo celular e o rendimento dos processos são estratégias para redução do custo. O uso de precursores de síntese pode aumentar o acúmulo celular de P(3HB). Avaliar a toxicidade do precursor ácido butírico frente ao microrganismo produtor do P(3HB) *Bacillus megaterium*.

**Materiais e métodos.** *Bacillus megaterium* sp., da bacterioteca do laboratório de biopolímeros da universidade federal de pelotas, multiplicado em meio agar nutritivo por 72 h à 28°C, foi utilizado para produção do inoculo em meio yeast malt, a 28°C e 150 rpm, por 24 h em shaker. Para a fase de produção de polímero usou-se 20% de inoculo e os meios ym e meio mineral f4, com glicose como fonte de carbono., as condições foram 72 h a 28°C e 200 rpm, adicionou-se ácido butírico em concentrações de 0 mm, 1 mm, 3 mm e 5 mm. Avaliou-se o rendimento de massa celular seca em 72 h.

**Resultados.** A adição do precursor até as concentrações máximas de 2 mm e 1 mm, para ym e f4, respectivamente, aumentou o rendimento da biomassa; concentrações superiores causaram redução proporcional ao aumento da concentração utilizada. Isto indica toxicidade sobre a bactéria, nas condições testadas. A maior concentração de biomassa foi atingida no meio ym com a adição de 1 mm.

**Conclusões.** A melhor concentração de ácido butírico para fase de produção de p(3hb) por *Bacillus megaterium*, quanto ao rendimento de mcs, foi de 1 mm para ambos os meios estudados, já as concentração de 3 e 5 mm apresentaram elevada toxicidade frente a esse microrganismo.

### TLP-341. Estudo do potencial de degradação do 2-metil-3-isotiazolinona (MIT) por fungos isolados de tintas imobiliárias à base de água e seus componentes

Fernando Nogueira B.\*, Tássia Chiachio E.\*, Tássio Brito O.\*, André Rodrigues\*, Roberto Da Silva\*, Eleni Gomes\*

\*Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho” Instituto De Biociências, Letras E Ciências Exatas, Campus De São José Do Rio Preto, São Paulo, Brasil.

**Introdução.** As tintas imobiliárias à base de água são amplamente utilizadas com finalidade de proteção e decoração de superfícies, sendo constituídas por uma mistura de materiais orgânicos e inorgânicos. Devido à variedade de compostos utilizados na sua fabricação, as tintas quando expostas aos microrganismos, são susceptíveis à contaminação, tanto na fase de produção, armazenamento, ou após sua aplicação. O crescimento microbiano na tinta pode refletir em perda de viscosidade, gaseificação, mau cheiro, descoloração e deformação de embalagens, tornando o produto impróprio para o comércio. Como medida preventiva, o biocida 2-metil-3-isotiazolinona (mit) é adicionado nas formulações das tintas para prevenir o crescimento de fungos e bactérias neste produto. O presente trabalho teve como objetivo isolar, selecionar e identificar espécimes de fungos mesofílicos tolerantes e capazes de degradar o biocida.

**Materiais e métodos.** Os isolados foram submetidos a teste de tolerância/crescimento em meio sólido acrescido de mit em quatro concentrações (0,1%, 0,2%, 0,4% e 0,8%). Os fungos que apresentaram maior tolerância e maior velocidade de crescimento foram selecionados para ensaios de degradação do mit por fermentação submersa, analisados e quantificados por HPLC.

**Resultados.** Foram isolados 32 fungos pertencentes a 10 gêneros distintos, dentre esses, as cepas *Trichoderma longibrachiatum* (fb01), *Fusarium solani* (fb07) e *Aspergillus sect. Nigri* (fb14) as quais foram às únicas cepas que apresentaram tolerância ao mit nas quatro concentrações testadas, selecionando-as para etapa de teste de degradação. As análises cromatográficas mostraram que todos os três fungos foram capazes de degradar esse composto em 24 h de fermentação e utilizá-lo como fonte de carbono, pois foi observado um aumentando considerável na biomassa.

**Conclusões.** Foi observado o aparecimento de alguns picos nos cromatogramas que podem ser metabólitos derivados da degradação do mit que estão sendo analisados em GC-MS e HPLC-MS/MS para tentar identificar e traçar uma possível rota metabólica de degradação para esse composto.

### TLP-342. Efecto de la interacción de condiciones abióticas de estrés sobre el desempeño ecofisiológico de *Nomuraea rileyi* NM006

Adriana Marcela Santos D.\*, Pedro Filipe De B.\*, Laura Fernanda Villamizar\*

\*Corporación Colombiana De Investigación Agropecuaria - Corpoica; Universidad Nacional De Colombia.

**Introducción.** El hongo *Entomopatígeno nomuraea rileyi* (nm006) ha demostrado un alto potencial para ser utilizado en el control biológico del gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda*. Con este aislamiento se desarrolló un bioplaguicida (ce), el cual presentó una vida útil inferior a 2 meses cuando fue almacenado a 8°C. Como estrategia para incrementar la tolerancia a condiciones de estrés como el almacenamiento se planteó la manipulación fisiológica del microorganismo durante el proceso de fermentación. Objetivo: el objetivo del presente trabajo fue desarrollar una estrategia combinada utilizando factores abióticos de estrés (temperatura de 5°C y luz UVB de 302 nm) durante la fermentación y establecer el efecto sobre la estabilidad del microorganismo bajo condiciones de almacenamiento a 8, 18 y 28°C.

**Materiales y métodos.** Por medio de un diseño factorial multinivel (32) se determinó la interacción entre las variables (tiempo de irradiación y

duración del choque térmico) y su efecto en las características microbiológicas, enzimáticas y biológicas de *N. rileyi*. La biomasa obtenida fue formulada y sometida a un estudio de estabilidad.

**Resultados.** Se seleccionó la implementación combinada de un choque térmico a 5°C durante 3,45 h y un choque con luz UVB durante 5 minutos, los cuales mejoraron el rendimiento, la germinación y la eficacia. El bioplaguicida a base de los conidios provenientes de las fermentaciones en donde se implementó la combinación de choques de estrés fue estable microbiológica y biológicamente durante tres meses almacenado a 8°C y 18°C, mientras que el bioplaguicida convencional fue estable solo a 8°C.

**Conclusiones.** Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, la implementación de choques de estrés (térmico y de luz UVB) durante el proceso de fermentación potenció ecofisiológicamente los conidios de nm006 ya que permitió obtener un microorganismo más estable y virulento, el cual puede ser utilizado como principio activo del bioplaguicida.

#### TLP-343. Evaluation of total lipid production by *Rhizopus microsporus* using agroindustrial residues

Jaceline Lima\*, Cristiane Cordeiro\*, Manuela Lins\*,  
Nairane Rosa\*, Adriana Souza\*, Paulo Silva\*,  
Clarissa Albuquerque\*, Kaoru Okada\*, Galba Takaki\*

\*Universidade Federal De Pernambuco, Brasil.

**Introduction and objectives.** The oils from microorganisms constitute a promising alternative for the production of biodiesel and drugs because depending on the microbial strain, high lipid levels can be achieved. Moreover, the production of these microorganisms do not necessarily compete with food production since waste biomass can be used as carbon sources. To evaluate the potential of *Rhizopus microsporus* isolated from soil of Caatinga, PE-Brazil, for lipid production using agroindustrial residues as substrates.

**Materials and methods.** *Rhizopus microsporus* was cultured in a medium containing corn steep liquor, wheat bran and cassava according full factorial design 23. After 96 h culture at 200 rpm and 28°C, the biomass was filtered, lyophilized and stored in a desiccator to constant weight, were subjected to total lipid extraction process using organic solvents and were quantified gravimetrically.

**Results.** The optimum conditions for the production of total lipids was observed in the test with 25% corn steep liquor, 2% of cassava and in the absence of wheat bran, 62% lipids were obtained from 12,31g/l of dry biomass produced by *Rhizopus microsporus*.

**Conclusions.** The fungus *Rhizopus microsporus* can be considered an oleaginous microorganism and the lipids produced can be a potential source for biofuels and pharmaceuticals.

#### TLP-344. Modificação química de xantana pruni por reticulação parcial mediada por glutaraldeído

Paula Michele Abentroth K.\*, Ligia Furlan\*,  
Claire Tondo Vendruscolo\*, Angelita Da Silveira M.\*

\*Univ. Federal De Pelotas Brasil.

**Introdução.** Modificações químicas realizadas em polissacarídeos são alternativas para conferir ou modificar suas propriedades controladamente. Neste estudo objetivou-se avaliar a influência do teor de acetilação da xantana e dos parâmetros do processo na reticulação mediada por glutaraldeído e sua influência nas propriedades reológicas e térmicas da Xantana Pruni.

**Materiais e métodos.** Produziu-se xantanas em pH 7 e 9 pela cepa 101 de *Xanthomonas arboricola* pv pruni. Avaliou-se a influência da concentração do reticulante (0,05; 0,1; 0,5 e 1%) e tempo de reação (0,5; 1 e 2 h), à temperatura de 25°C, na viscosidade e resistência térmica da xantana 101pH9 (autodesacetilada). Submeteu-se a xantana pruni 101pH7 natural e desacetilada pós-fermentativamente à condição selecionada (2 h e 0,05 e 1% de glutaraldeído) e, através dos resultados, selecionou-se a concentração de 1% de reticulante para estudo da influência da temperatura (45 a 100°C) no processo.

**Resultados.** Todos tratamentos proporcionaram alterações na viscosidade dos polímeros, sugerindo reticulação parcial. Os melhores resultados foram alcançados com 2 h de reação. Para xantana 101 pH9, a menor concentração de reticulante em estudo (0,05%) gerou as maiores viscosidades, e a maior concentração (1%) proporcionou maior resistên-

cia térmica. Já para xantana pruni 101 pH7 natural e desacetilada, observou-se incremento na viscosidade apenas com 1% de glutaraldeído, selecionando-se essa concentração para avaliar o parâmetro temperatura. O tratamento a 45°C resultou no maior incremento da viscosidade para todas as Xantanas, exceto para xp101 pH7 desacetilada, à qual apresentou os maiores valores de viscosidade em 85°C. A reticulação foi mais efetiva para a xantana desacetilada pós-fermentativamente, resultando em polímeros com viscosidades elevadas (679 mPas e 781 mPas em 60s-1), para as temperaturas de 45 e 85°C, respectivamente.

**Conclusões.** A reticulação parcial da Xantana pruni 101 com glutaraldeído altera positivamente a viscosidade e resistência térmica. A eficácia da reticulação foi confirmada pelas análises reológicas e térmicas

#### TLP-345. Avaliação do efeito do congelamento na sobrevivência de *Lactobacillus acidophilus* imobilizado em alginato de cálcio

Samarina Gabrielle De Fátima P.\*, Tânia Regina De Assis\*,  
Richtier Gonçalves Da Cruz R.\*, Milene Therezinha Das Dores\*

\*Universidade Federal De Viçosa, Universidade De São Paulo Brasil.

**Introdução.** Os probióticos são microorganismos vivos que administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro. A indústria que produz alimentos que contêm estes microorganismos aumentou de forma significativa nos últimos anos, no entanto trata-se de um desafio aumentar a resistência destes as operações unitárias como o congelamento que podem causar a morte celular diminuindo a viabilidade dos probióticos no produto e consequentemente reduzindo também seu valor funcional. A imobilização em alginato de cálcio apresenta baixo custo e não causa danos aos microorganismos. Este trabalho teve como objetivo avaliar a sobrevivência de *Lactobacillus acidophilus* imobilizado em alginato de cálcio submetido a temperaturas de congelamento.

**Materiais e métodos.** *Lactobacillus acidophilus* na forma livre e imobilizada foram submetidos a 20°C (congelamento) por 3 meses. Neste período, a contagem bacteriana foi determinada antes do congelamento, logo após o congelamento, e a cada 30 dias durante os 90 dias de estocagem. A partir deste ponto, foram realizadas diluições seriadas em solução salina para a contagem de sobreviventes em ágar mrs sob condições anaeróbicas a 37°C/48 h.

**Resultados.** A contagem das bactérias livres variou de 9,04 para 7,50 log UFC.mL<sup>-1</sup> (diferença de 1,54 log UFC.mL<sup>-1</sup>) ao fim dos 90 dias. Já para as bactérias imobilizadas a diferença foi de 0,60 log UFC.mL<sup>-1</sup>, reduzindo de 8,53 para 7,93 log ufc.mL<sup>-1</sup>. A contagem das células na forma imobilizada foi maior que a forma livre quando exposto a temperatura de congelamento durante o tempo analisado, o que sugere uma maior proteção dos microorganismos imobilizados em alginato de cálcio a essas condições.

**Conclusões.** A imobilização em alginato de cálcio do *Lactobacillus acidophilus* proporcionou uma maior resistência às temperaturas de congelamento, o que o sugere como uma alternativa a alimentos que contenham probióticos e apresentem as mesmas condições de estocagem como sorvetes e picolés.

#### TLP-346. Mezcla de bioproductos promotores de crecimiento a base de *Trichoderma koningiopsis* (TH003) y *Pseudomonas fluorescens* (PS006) para el cultivo de arroz oryza sativa en los Llanos Orientales

Víctor Julio García R.\*, Luisa Fernanda Izquierdo G.\*, Diana Marcela León M.\*, Martha Isabel Gómez Á.\*, Alba Marina Cotes P.\*

\*Corpoica, Colombia.

**Introducción.** El uso de agroquímicos para el tratamiento de semilla es un procedimiento rutinario. Sin embargo, estos productos son un riesgo tanto para la salud de los agricultores como para el medio ambiente. *Trichoderma* sp. Es ampliamente conocido como agente de control biológico de enfermedades y ha sido usado en trabajos previos como protector de semilla, *P. fluorescens* actúa principalmente como solubilizadora de fósforo y promotora de crecimiento vegetal. Se evaluó la aplicación en mezcla de los bioproductos como alternativa al tratamiento actual de semilla empleado por los agricultores y su aplicación en campo.

**Materiales y métodos.** Se aplicó en mezcla *T. koningiopsis* th003 y *P. fluorescens* ps006 sobre semilla comercial de arroz sin tratamiento químico.

mico y se sembró en condiciones de campo, se realizó una segunda aplicación a los 20 días después de siembra, comparado con un cultivo convencional. Las variables evaluadas durante la fase de crecimiento vegetativo fueron: emergencia, altura de la planta, peso fresco y peso seco, porcentaje de materia seca, volumen de raíz, número de macollas y número de hojas. Se realizaron monitoreos fitosanitarios y se registraron los costos de las labores y los productos aplicados en cada uno de los tratamientos.

**Resultados.** La aplicación de bioproductos mostró un incremento hasta de 25% para altura y 43.9% para acumulación de materia seca aérea, no se presentaron diferencias con respecto al testigo agricultor para incidencia y severidad de fitopatógenos asociados a este cultivo, mostrando valores muy bajos, además se redujo la aplicación de 3 plaguicidas en la semilla, lo cual reduce los costos del cultivo, favorece al medio ambiente y la salud de los agricultores que manipulan la semilla.

**Conclusiones.** El uso de bioproductos es una alternativa viable para ser empleada en este cultivo de alto valor económico en Colombia, mostrando resultados comparables con los agroquímicos.

### TLP-347. Influencia de la fuente de carbono sobre la producción de celulosa por *Gluconacetobacter xylinus* IFO 13693

Rubén Darío Jaramillo L.\*, Olga Perna Manrique\*,  
Claudia Lorena Vargas M.\*

\*Universidad De Sucre, Colombia.

**Introducción.** La producción de celulosa microbiana por *Gluconacetobacter xylinus* depende de diversos factores como la composición del medio de cultivo, pH y tensión de oxígeno. Se ha reportado el efecto de diferentes fuentes de carbono y nitrógeno como glucosa, fructosa, sacarosa, manosa, glicerol, melaza, lactato, citrato, etanol, licor de maíz (CSL), soya, extracto de levadura, peptona, hidrolizado de caseína, amonio, agua de coco en un rango de pH 4.5 hasta 6.0, sobre la síntesis del biopolímero. Se pretende comparar el efecto de fuentes de carbono alternativas sobre la síntesis de celulosa por *Gluconacetobacter xylinus* ifo 13693.

**Materiales y métodos.** La síntesis del biopolímero se llevó a cabo en un cultivo estático discontinuo, a una temperatura de 30°C, en presencia de jugo de tomate, mango, papaya, melaza de caña en dilución, melaza de caña tratada y fructosa, como fuentes de carbono principales. Se analizaron cantidades remanentes de azúcares cada 7 días, se hallaron coeficientes de rendimiento del producto y para la cinética de formación del biopolímero se utilizó el software microcal origin 6.0®, se midieron también las UFC, y así poder realizar la curva de crecimiento bacteriano.

**Resultados.** Se obtuvieron biopelículas de celulosa de diferentes grosores y pesos, permitiendo comparar la influencia de la fuente de carbono sobre la producción del biopolímero ajustándose al modelo de marxfigini y pion, encontrando que la mayor producción se da en los medios mango y melaza tratada.

**Conclusiones.** El consumo de glucosa y fructosa se reflejan en la síntesis de celulosa, donde el mayor rendimiento producto/sustrato lo presentaron los medios ricos en glucosa indicando que el microorganismo presenta mayor afinidad por ésta utilizando una ruta metabólica más eficiente.

### TLP-348. Crecimiento y la actividad enzimática de hongos fibrolíticos por efecto de la variedad de rastrojo de maíz

Deli Nazmin Tirado G.\*, Luis Alberto Mirnada R.\*,  
Juan Jauregui R.\*, Fidel Fidel G.\*, Gustavo Tirado E.\*

\*Universidad Autónoma Chapingo Mexico.

**Introducción.** La producción de aditivos alimenticios enzimáticos para mejorar la digestibilidad de la dieta en rumiantes requiere de conocer la actividad enzimática preponderante en función de sustrato y la especie de hongo. Objetivo general: determinar el efecto de la variedad de rastrojo de maíz (RM) en la velocidad de crecimiento radial (VCR) y la actividad enzimática (AE) de *Bjerkandera adusta*, *Pleurotus ostreatus*, y *Trametes trogii*.

**Materiales y métodos.** La VCR (CM D-1) se midió en cajas petri con agar-extracto de RM, de las variedades AS951, AS948, AS822, G766, H324 o río grande. La AE ( $\mu\text{mol}$  glucosa  $\text{mL}^{-1} \text{min}^{-1}$ ): endoglucanasa, exoglucanasa,  $\beta$ -glucosidasa y xilanasas, se evaluó por 23 días de incubación en medio líquido con RM-AS951 o RM-H324. En cada experimento el diseño fue completamente al azar con tres repeticiones y arreglo de tratamientos factorial.

**Resultados.** La VCR no fue afectada ( $p>0.05$ ) por la variedad de RM, y *P. ostreatus* tuvo mayor VCR ( $p<0.05$ ) que *T. trogii*. La AE endoglucanasa, xilanasas y  $\beta$ -glucosidasa mayores ( $p<0.05$ ) las mostraron *T. trogii* y *B. adusta*, pero la mayor ( $p<0.05$ ) ae exoglucanasa la presentó *P. ostreatus*. El RM-H324 indujo mayor ae *Exoglucanasa* y el RM-AS951 de *B-glucosidasas*. La mayor ae *B-glucosidasa* y *Exoglucanasa* se alcanzó a los 7 días, endoglucanasa a 5 y 19 días, y de xilanasas a los 5 y 15 días ( $p<0.05$ ) de incubación.

**Conclusiones.** La AE no tiene relación con la VCR pero sí con la variedad de RM. Aunque *P. ostreatus* tiene mayor VCR su ae endoglucanasa, xilanasas y  $\beta$ -glucosidasa es menor que la de *T. trogii* y *B. adusta*; además, la AE *Exoglucanasa* en *P. ostreatus* es estimulada fuertemente por el RM de la variedad H324, respecto a la variedad AS951.

### TLP-349. Bactérias ácido lácticas com potencial tecnológico para aplicação em produtos cárneos

Juliana De Lima M.\*, Graciele Daiana Funck\*, Guilherme Da Silva D.\*,  
Cláudio Eduardo Dos Santos\*, Ana Rita Carboni R.\*, Wladimir  
Padilha Da Silva\*, Ângela Maria Fiorentini\*

\*Universidade Federal De Pelotas - UFPEL, Brasil.

**Introdução.** As bactérias ácido lácticas (BAL) fazem parte da microbiota natural, além de apresentarem potencial para aplicações biotecnológicas. Objetivo geral. Identificar bal com potencial tecnológico isoladas de presuntos.

**Materiais e métodos.** Para isso, 181 isolados foram submetidos a testes de crescimento em diferentes temperaturas (10°C e 45°C), concentrações de NaCl (4,5% e 6%), concentrações de pH (4,0 e 9,0) e foram incubados por 7 dias a 37°C, exceto os que foram submetidos ao teste em diferentes temperaturas. A habilidade de fermentar glicose com produção de gás foi verificada em caldo MRS acrescido de 3% de glicose, com incubação a 37°C por 48 h. Foi considerado como resultado positivo, os tubos que apresentaram turvação do meio e não produziram gás (metabolismo homofermentativo).

**Resultados.** Dos 181 isolados, 71 foram capazes de se desenvolver nas diferentes condições propostas. A habilidade dos isolados em crescer em pH 4,0 é importante, visto que uma das funções das bal em um produto maturado é a redução do pH devido à produção de ácido láctico. A tolerância a diferentes concentrações de NaCl é outra relevância na definição de uma cultura iniciadora para produtos cárneos, já que cepas sensíveis ao NaCl podem ter seu crescimento inibido à medida que a concentração de NaCl aumenta, em consequência da redução da atividade de água do produto. O crescimento em diferentes temperaturas possibilita verificar a capacidade dos isolados de adaptação a diferentes processos fermentativos. Os micro-organismos homofermentativos são vantajosos para aplicação em produtos cárneos pelo fato de não produzirem gás, propiciando maior uniformidade aos produtos.

**Conclusiones.** Portanto, pode-se constatar que os isolados testados são promissores para possível utilização como cultura iniciadora, uma vez que micro-organismos isolados de produtos locais estão mais bem adaptados às características do alimento e as condições ambientais, contribuindo para manutenção das características sensoriais e melhor qualidade do produto.

### TLP-350. Produção de D(-) ácido láctico por *sporolactobacillus* sp. VINI6 utilizando farinha de amendoim e açúcar cristal

Susan Michelz Beitel\*, Luciana Fontes Coelho\*,  
Daiane Cristina Sass\*, Jonas Contiero\*

\*UNESP – Universidade Estadual Paulista, Brasil.

**Introdução.** O ácido láctico é utilizado nas indústrias alimentícias, farmacêuticas, médicas e químicas. Sua utilização é destacada na produção de plásticos biodegradáveis a partir do ácido polilático. O objetivo do estudo foi elevar os níveis de produção de d(-) ácido láctico pelo micro-organismo *Sporolactobacillus* sp. Vini6 variando os componentes do meio de cultivo assim como as concentrações destes, utilizando planejamentos experimentais.

**Materiais e métodos.** Aplicandose planejamento do tipo packet burman e fracionado foram avaliados os fatores significativos do meio para a produção de ácido láctico. Posteriormente verificaram-se as concentrações apropriadas destes componentes utilizando planejamento do tipo composto central rotacional (DCCR). As fermentações foram realizadas em erlenmeyer de 125 mL com volume de trabalho de 20 mL, sendo 10% de inoculo, à 35°C, agitação de 100 rpms e 50 g/l de  $\text{CaCO}_3$  para controle de pH.

**Resultados.** A partir do packet burman foi possível verificar produção

de 55,9 g/l en 48 h, a farinha de amendoim e tween 80 tiveram efeito estatisticamente significativos aumentando a produção. No planejamento fracionado verifica-se produção de 51,92 g/l, após 48 h, a farinha de amendoim, utilizada como fonte de nitrogênio foi estatisticamente significativa positivamente. Após 72 h de fermentação (planejamento DCCR) observa-se produção de d(-) ácido láctico de 99,99 g/l, açúcar residual de 10,24 g/l, produtividade de 1,39 g/l/h. Neste ensaio utilizou-se 110 g/l de açúcar cristal, 150,40 g/l de farinha de amendoim e 1 mL/l de tween 80. O estudo revela uma produção eficiente de d(-) ácido láctico pelo *Sporolactobacillus* sp. Vini6 utilizando componentes de baixo custo no meio de fermentação.

**Conclusiones.** Os resultados indicam que *Sporolactobacillus* sp. vini6 é uma nova cepa promissora para produção de d (-) ácido láctico.

### TLP-351. Encapsulación de probióticos mediante liofilización y secado por aspersión en presencia de prebióticos

Luz Mary Montes R.\*, Sneyder Rodríguez B.\*,  
Gloria Ines Giraldo G.\*

\*Instituto De Biotecnología Y Agroindustria, Universidad Nacional De Colombia Sede Manizales, Colombia.

**Introducción.** Tecnologías de encapsulación de microorganismos probióticos han permitido desarrollar nuevos alimentos funcionales al mejorar su estabilidad durante el procesamiento, almacenamiento y supervivencia gastrointestinal. El objetivo de este estudio fue evaluar la viabilidad y caracterizar las propiedades físicas de encapsulados probióticos obtenidos mediante liofilización y secado por aspersión con agentes prebióticos.

**Materiales y métodos.** Microorganismos: *Lactobacillus casei* ATCC 393 y *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 9469. Agentes prebióticos (Inulina y Fructo-oligosacárido-fos) (25% p/v) con Maltodextrina como material pared y almacenados a 20°C±2. Se consideraron humedad, actividad de agua y los recuentos no menores a 106 UFC/g como criterios de estabilidad.

**Resultados.** Mediante el proceso de liofilización se determinó que la inulina como material encapsulante generó un alto porcentaje de supervivencia (>73.58% a los 98 días) en el *L. rhamnosus* a las condiciones evaluadas, con diferencias significativas entre los microorganismos estudiados. El comportamiento de las propiedades físicas la humedad y la actividad de agua se incrementaron por encima del 50% durante el almacenamiento sin afectar significativamente la estabilidad de estos polvos encapsulados. Con el secado por aspersión el *L. rhamnosus* luego de 3 semanas de almacenamiento a temperatura ambiente se obtuvo un 60% de viabilidad, en las muestras encapsuladas con inulina con recuentos de viables superiores a 106 UFC/g mientras que con fos esta viabilidad se mantuvo por 2 semanas.

**Conclusiones.** Este estudio ha pretendido aportar a las tecnologías aplicadas en busca de mejorar la estabilidad de probióticos para ser aplicados en matrices alimenticias, pues con la obtención de microcápsulas para *L. rhamnosus* y *L. casei* co-encapsuladas con agentes prebióticos FOS e Inulina mediante el proceso de liofilización y secado por aspersión, se ha logrado la estabilización de la biomasa encapsulada en tiempos superiores a doce semanas para las muestras liofilizadas y tres semanas para la muestras secadas por aspersión en condiciones de almacenamiento a temperatura ambiente.

### TLP-352. Comparación funcional de las rutas oxidativa e isomerasa para el catabolismo de D-galacturonato en la fermentación alcohólica de residuos con alto contenido de pectina

Simón Mejía\*, Mauricio Corredor\*

\*Grupo Genética y Bioquímica De Microorganismos (Gebiom), Instituto De Biología, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Antioquia Colombia.

**Introducción.** El D-galacturonato (D-gal) es el principal monómero constituyente de la pectina. Algunos microorganismos pueden degradarlo y metabolizarlo, pudiendo ser aprovechado en la fermentación alcohólica. Dado que *Saccharomyces cerevisiae* carece de los genes para fermentar el D-gal, se requiere de biología computacional como un primer paso hacia la expresión de vías heterólogas para esta especie, por ello el análisis bioinformático permitirá seleccionar los genes candidatos, tanto de

procariotas como de eucariotas a implementar en la levadura. Objetivo: comparar funcionalmente las vías metabólicas oxidativa e isomerasa en procariotas mediante el uso de herramientas bioinformáticas.

**Materiales y métodos.** Se analizaron los genes, UXAC, UXAB, UXAA, KDGK y KDGA, de las rutas oxidativa e isomerasa y fueron comparados filogenética y funcionalmente en sus dominios, empleando *E. coli*, *Clostridium acetobutylicum*, *Lactococcus lactis*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas aurigenosa* entre otras. La búsqueda de genes y proteínas se hizo en NCBI, uniprot y patric utilizando blast y clustalw para su alineamiento. Se analizaron los dominios de cada proteína con la herramienta smart. Los árboles filogenéticos se diseñaron con los datos de alineamiento de 40 especies bacterianas aproximadamente. Y finalmente se analizaron los dominios funcionales con hammer y logomat.

**Resultados.** Para UXAC uronato isomerasa, se encontró 5,614 organismos en los tres dominios, mientras que UXAA D-altronato deshidratasa y UXAB D-taguronato reductasa con 1,374 y 2,182 organismos respectivamente, solo en bacteria. Para KDGK 2-ceto-3-deoxigluconato quinasa, se encontraron 957 organismos para bacteria, en KDGA 2-ceto-3-deoxi-6-fosfogluconato aldolasa, se encontraron 19 organismos para arquea y 191 pertenecientes al dominio bacteria.

**Conclusiones.** Las rutas oxidativa e isomerasa, para el catabolismo de D-galacturonato, se encontraron presentes en bacterias pero generalmente ausentes en arqueas. Los datos muestran la existencia de una importante diversidad genética de estas enzimas, no obstante, su función se mantiene.

### TLP-353. Potencial do glicerol como fonte de carbono para produção de biossurfactante

Jaqueline Matos Cruz\*, Renato Nallin Montagnoli\*,  
Paulo Renato Matos L.\*, Ederio Dino Bidoia\*

\*Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" - UNESP Brasil.

**Introdução.** A linhagem de *Bacillus subtilis* tem a capacidade de utilizar diversas fontes de carbono para crescer e produzir biossurfactante durante o crescimento. Este biossurfactante é capaz de reduzir a tensão superficial e promover a emulsificação entre dois líquidos. No entanto, o alto custo de produção, purificação e o baixo rendimento limita o uso do biossurfactante em escala industrial. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi utilizar o glicerol, co-produto da produção do biodiesel, e sulfato de manganês para produção de biossurfactante.

**Materiais e métodos.** O meio de produção do biossurfactante foi composto por caldo bushnell-HAAS e as concentrações de glicerol 5%, 7% e 9% v/v. As concentrações de sulfato de manganês (MNSO4) foram 0,05 mm-1 e 0,01 mm-1. O meio foi mantido a 35°C em agitação constante à 180 rpm. O crescimento microbiano foi medido por absorbância a 600 nm em 48 h. As amostras foram centrifugadas a 2.800 x g para remover as células do meio de produção. O pH do meio livre de células foi medido e acidificado com HCL para extração do biossurfactante bruto.

**Resultados.** Os resultados mostraram que a concentração de 5% v/v de glicerol proporcionou o melhor crescimento em relação as concentrações de 7% e 9% v/v. Em todos os ensaios as pequenas concentrações de sulfato de manganês aumentou o crescimento microbiano. Na concentração de 9% v/v não foi possível a extração do biossurfactante bruto do meio, pois o crescimento celular foi muito pequeno e consequentemente não produziu biossurfactante. A extração do biossurfactante bruto no meio com 5% de glicerol e 0,05 mm de MNSO4 foi de aproximadamente 30 mg para 50 mL de meio.

**Conclusões.** A partir dos resultados foi possível concluir que o meio com 5% de glicerol e 0,05 mm de MNSO4 apresenta potencial para produção de biossurfactante.

### TLP-354. Usage of the gene *amds* (acetamidase) as a dominant recyclable selection marker in *Pichia pastoris*

Luiza Cesca P.\*, Viviane Castelo Branco R.\*,  
Fernando Araripe Gonçalves T.\*

\*Universidade De Brasília Brasil.

**Introduction.** The YEAST *Pichia pastoris* is widely used in heterologous protein production, yet its genetic manipulation relies on selection markers that can present a problem when several modifications take place. The *amds* gene from *Aspergillus nidulans* works as a selection marker

allowing selection on minimal medium with acetamide as sole nitrogen source. It can also be recycled for multiple usages, due to its counter selection property on medium containing fluoroacetamide. The objective of this study is to use the AMDS gene in *Pichia pastoris* as a dominant recyclable selection marker.

**Materials and methods.** The marker cassette was constructed using the AMDS gene, the TEF1P and the CYC1TER, flanked by 2 loxp sequences that allow marker excision using the CRE-LOXP system. The marker cassette and the EGFP reporter gene were inserted into the commercial plasmid PPIC9, creating the plasmid pams. Two strains of *Pichia pastoris* were transformed with pams: x33 (invitrogen) and la1 (constructed by deletion of a gene with similarity to amidase enzymes). Integration of the plasmid was done either in the his4 gene or in the aox1 3' fragment. Clones were analyzed by fluorescence scanning and pcr.

**Results.** 50 clones were isolated from each transformation. Fluorescence scanning showed that clones expressed the EGFP gene in different intensities, which may indicate a variation on its copy number. Strain x33 presented false positive clones that were eliminated with the use of the la1 strain. Overall, la1 and the his4 integration yielded more positive clones than x33 and the aox1 integration.

**Conclusions.** The amds marker successfully selected clones containing the DNA sequences of interest. Strain la1 yielded more positive clones and proved to be a suitable strain for utilization of the amds marker. The next step is to evaluate the copy number of the integrations and recycle the marker for further use on gene deletions and insertions.

### TLP-355. Otimização de proporção de solvente e estado da célula na metodologia de extração química de poli(3-hidroxibutirato)

Karine Laste M.\*, Amanda Ávila R.\*, Mariane Igansi A.\*, Lígia Furlan\*, Angelita Da Silveira M.\*, Claire Tondo V.\*

\*Universidade Federal De Pelotas, Brasil.

**Introdução.** O poli(3-hidroxibutirato) (p(3HB)), poliéster bacteriano intracelular, é substituto do plástico convencional. A extração desse polímero é a etapa mais onerosa do bioprocesso e influi no rendimento e qualidade do polímero. *Ralstonia solanacearum* é uma espécie produtora. O objetivo foi otimizar a metodologia de extração de P(3HB).

**Materiais e métodos.** Produziu-se biopolímero em frascos de 500 mL em meio mineral f4 com 20% de inóculo, incubados a 28°C, 200 rpm por 72 h. Centrifugou-se o caldo a 10.000 xg por 15 min. Secou-se a massa celular a 56°C. Realizou-se a extração, em células frescas ou secas, utilizando clorofórmio em diferentes proporções às células: 10/1, 20/1 e 40/1(v/m), agitação a 58°C durante 30 min. Separou-se os restos celulares/solvente em funil de decantação com água destilada. Transferiu-se a fase orgânica para placas de petri. Realizou-se uma segunda extração, nas mesmas proporções, para verificar se ainda restava polímero a ser extraído. Analisou-se rendimento por gravimetria e identidade e qualidade por espectroscopia no infravermelho e termogravimetria dos filmes.

**Resultados.** Os rendimentos usando células secas foram mais de 80% superiores, sendo: 21,4; 29,6 e 50,13% e 11,13; 4,53 e 3,2%, para as proporções de solvente 10:1, 20:1 e 40:1(v/m), primeira e segunda extrações, respectivamente. Para células frescas, o rendimento foi inversamente proporcional ao volume de solvente usado. O melhor rendimento foi 9%. As primeiras extrações foram insuficientes para total remoção do polímero. A identidade do p(3hb) foi confirmada pelas bandas características no iv. Os filmes extraídos de células secas obtiveram temperaturas de início (TI) 219-223°C e máxima degradação (TPICO) 270-292°C e os extraídos de células frescas, 208-212°C para ti e 241-269°C para tpico.

**Conclusões.** Células secas proporcionam maior rendimento e maior resistência a altas temperaturas. Conclui-se que o uso de células secas e clorofórmio 40/1(v/m) é a melhor combinação testada, para a metodologia utilizada.

### TLP-356. Avaliação do efeito antimicrobiano da amêndoa de frutos de manga (mangifera indica L.) No queijo minas frescal

Sabrina Dos Santos\*, Monica Hitomi Okura\*

\*Universidade Federal Do Triângulo Mineiro, Brasil.

**Introdução.** O queijo minas frescal é um queijo popular e um dos mais produzidos no Brasil, mas apresenta um tempo de vida útil pequeno,

no máximo 20 dias. As bactérias do grupo *Coliforme*, principalmente *Escherichia coli* são consideradas os principais agentes contaminantes associados à deterioração deste queijo, causando fermentações anormais e estufamento precoce. Para aumentar o tempo de vida útil dos alimentos, especiarias e os óleos essenciais são utilizados como agentes de conservação, uma vez que possuem ação antimicrobiana, reduzindo ou eliminando as bactérias patogênicas. A amêndoa extraída de mangas var. "Tommy Atkins" é um resíduo da indústria que possui compostos fenólicos como as catequinas que demonstram atividade antimicrobiana. Objetivo: testar a utilização do extrato de amêndoa de manga como antimicrobiano sobre cepas padrão de *Escherichia coli* inoculadas no queijo minas frescal.

**Materiais e métodos.** A extração dos compostos fenólicos da amêndoa foi realizada com etanol (80%) e a quantificação foi realizada pelo reagente de folin-ciocalteu. Foram realizadas três tratamentos: queijo controle; queijo adicionado do extrato da amêndoa da manga e queijo controle com embalagem contendo o extrato. Nos três tratamentos foram inoculados a cepa padrão de *E. coli*. a contagem de coliformes foi realizada de acordo com a metodologia oficial por diluição seriada.

**Resultados.** A quantidade de compostos fenólicos totais no extrato da amêndoa de manga foi de 6281,82 mg EAG/100 g. Os queijos com o extrato adicionado no leite e na embalagem apresentaram redução significativa da carga microbiana quando comparados ao queijo controle, a um nível de 5% de significância. Com a utilização do extrato na fabricação, observou-se que mesmo com uma matéria-prima contaminada, os compostos fenólicos presentes conseguiram diminuir a carga microbiana.

**Conclusões.** O resíduo agroindustrial da manga pode ser amplamente utilizado como fonte alternativa de compostos fenólicos pela indústria alimentícia na formulação de novos produtos.

### TLP-357. Obtenção de polissacarídeo através da fermentação de *Lactobacillus fermentum* utilizando o meio melaço-sacarose

Mariana Gomes Vidal S.\*, Graciely Gomes C\*., Priscilla Andrade De Moura\*, Hortência Farias De Andrade\*, Márcia Vanusa Da Silva\*, Glícia Maria Torres C.\*

\*Departamento De Antibióticos/Universidade Federal De Pernambuco. Brasil.

**Introdução.** Os polissacarídeos naturais vêm sendo intensamente investigados devido às suas propriedades físico-químicas e possíveis aplicações industriais. O estudo visa determinar a melhor condição de obtenção do polímero produzido a partir da fermentação de *Lactobacillus fermentum* em condições definidas de meio de cultivo, inóculo, tempo de processo, temperatura e pH inicial.

**Materiais e métodos.** A bactéria *Lactobacillus fermentum* foi isolada como contaminante de mosto de fermentação alcoólica de uma indústria sucroalcooleira do estado de Pernambuco/Brasil. Para a fermentação foi utilizado o meio líquido a base de melaço-sacarose, as fermentações foram realizadas durante 72 h sob condições agitadas (210 rpm) e estática, a 35°C e pH inicial 6,5. Para a extração do polímero foi retirado um volume do sobrenadante do mosto da fermentação, filtrado em membranas de celulose, congelado e guardado. Com o intuito de causar a precipitação do polímero, ao filtrado foi acrescentado etanol p.a gelado (proporção 3:1), a mistura foi então centrifugada e a concentração de polímero precipitável foi determinada através do peso-seco.

**Resultados.** O processo estático se apresenta como condição mais favorável para a produção do polissacarídeo, pois em 72 h houve a produção de 44,5 g l-1, enquanto na fermentação agitada a concentração obtida foi de 8,0 g l-1. Durante um processo fermentativo para a obtenção de exopolissacarídeos (EPS), as quantidades de biomassa e eps são dependentes dos fatores utilizados no cultivo, tais como: fontes de carbono e de nitrogênio, pH, temperatura, agitação, aeração, idade da célula, cepa utilizada, entre outros.

**Conclusões.** Confirmou-se que a condição estática é a mais adequada para que se obtenha um bom rendimento em polímero, pois comprovou-se que a aeração ocasiona prejuízos no rendimento do processo e redução na concentração de polímero.



### TLP-358. Potencial de valorización do soro de queijo para produção de biomassa por *Kluyveromyces marxianus* em aerobiose e anaerobiose

Cleidiane Samara Murari\*, Bruna Lima Da Silva\*, Débora Cristina Moraes Niz Da Silva\*, Vanildo Luiz Del Bianchi\*

\*Universidade Estadual Paulista Júlio De Mesquita Filho, Instituto De Biociências Letras E Ciências Exatas De São José Do Rio Preto Brasil.

**Introdução.** A utilização de substratos alternativos e de baixo custo como resíduos industriais têm recebido diversos estudos em bioprocessos, como uma alternativa promissora para a geração de bioprodutos de interesse comercial, aplicados em diversos setores da indústria, representando uma maneira eficaz de reduzir o potencial poluidor destes. Um exemplo é a utilização do soro de queijo, um subproduto dos laticínios utilizado como substrato para o crescimento de leveduras. O presente trabalho avaliou a produção de biomassa e redução da carga orgânica do soro de queijo pela levedura *Kluyveromyces marxianus* cct 229, em aerobiose e anaerobiose.

**Materiais e métodos.** Foram inoculados 20% de inóculo padrão da levedura em meios compostos por soro de queijo esterilizado, que foram incubados em aerobiose a 35°C por 48 h sob uma agitação de 120 rpm, e em anaerobiose a 35°C por 48 h, sendo que alíquotas destes foram retiradas para análises de *Lactose* (adns), proteínas (*Folin-ciocalteu*), biomassa celular (densidade-ótica) e demanda química de oxigênio (DQO) (método colorimétrico).

**Resultados.** Em relação à biomassa, em aerobiose a maior produção ocorreu em 15 h de fermentação com 6 g/l, uma produtividade de 0,40 g/l.h-1 e uma conversão de substrato a biomassa de 0,11 g/g-1. Já em anaerobiose estes valores foram respectivamente 5,20 g/l; 0,28 g/l.h-1 e 0,12 g/g-1, porém neste caso o pico máximo de produção ocorreu em 18 h. Após 48 h de fermentação o consumo de lactose e proteínas pela levedura em aerobiose foi 99,48% e 90,40% respectivamente, e em anaerobiose de 95,72% e 88,00% respectivamente. Já quanto a dco do soro, esta foi reduzida após 48 h de fermentação para 74,95% e 66,54% em aerobiose e anaerobiose respectivamente.

**Conclusões.** Os resultados mostraram que o aproveitamento do soro de queijo por leveduras é notavelmente promissor na área de bioprocessos.

### TLP-359. Extracellular hydrolytic enzymes produced by *Lecythophora* spp. in media supplemented with both rice and coffee husk

Daiane Raquel Polezel\*, Maria Carolina Canali\*, Weilan Gomes Da Paixão Melo\*, Fernando Carlos Pagnocca\*

\*Centro de Estudos De Insetos Sociais, UNESP – Univ. Estadual Paulista, Campus Rio Claro, Rio Claro, SP, Brazil.

**Introduction.** Lignocellulosic fibers may be a potential source for the production of bioethanol, but the complexity of these structures is one of the bottlenecks of this process, as hydrolytic enzymes are necessary to undergo the task of accessing and releasing the fermentable sugars. By the nature of the substrate rich in lignocellulosic material in which they are found, microorganisms living in the fungus garden of leaf cutting ants are a still unexplored group with the potential for the degradation of this material. In this study we evaluate the ability of *Lecythophora* strains to hydrolyse the lignocellulosic biomass from the sugar cane industry.

**Materials and methods.** Eleven *Lecythophora* strains previously isolated from the nests of leaf-cutting ants and deposited in the microbial resources center, (CRM-UNESP - Rio Claro, SP) were cultivated into flasks containing 25 mL of minimal mineral medium and 2.5 g of coffee or rice husk and incubated at 25°C / 4 days. The production of enzymes (endoamylase, exoamylase, xylanase, cellulase and pectinase) was evaluated using the 3,5-dinitrosalicylic acid method.

**Results.** The values in units of enzyme.mL-1 (u.mL-1) in media containing coffee or rice husks were, respectively: exoamylase = 1.485 and 0.164; endoamylase = 0,369 and 0.135; pectinase = 0.974 and 1.550; cellulase = 0.810 and 0.129; carboxymethylcellulase = 0.193 and 0.061 and xylanase = 0.207 and 0.0188. In general the amount of enzymes was higher in medium containing coffee husk, and some strains produced high levels of pectinases and amylases

**Conclusions.** The optimization of the whole process may lead to a cheaper and more massive production of these enzymes, which would be useful for bioethanol production from these lignocellulosic materials.

### TLP-360. Producción de biobutanol combustible a partir de materiales azucarados naturales: selección de cepa y estudio del agregado de nutrientes

María Eloísa Rochón M.\*, Claudia Lareo Varela\*, Mario Daniel Ferrari V.\*

\*Departamento De Bioingeniería, Facultad De Ingeniería, Universidad De La República, Uruguay.

**Introducción.** El butanol es un biocombustible atractivo como alternativa al etanol debido a su mejor desempeño en motores, puede ser producido por fermentación en la misma planta industrial, usando materias primas y equipos comunes. El biobutanol se puede producir por fermentación, denominada ABE, en la cual se coproduce una mezcla acetona-butanol-etanol (típicamente 3:6:1). Los microorganismos más utilizados son del género *Clostridium*. Objetivos. Seleccionar una cepa promisoría para la producción de butanol y evaluar su producción en un mosto de jugo azucarado (75% caña de azúcar y 25% sorgo dulce) estudiando el agregado de diferentes nutrientes.

**Materiales y métodos.** Se ensayaron *Clostridium beijerinckii* DSM1739 y *Clostridium acetobutylicum* DSM792 en un medio en base de glucosa (25 g/l). En los ensayos con medio natural (65 g/l de azúcares) se evaluó el agregado de extracto de levadura y solución p2 (vitaminas y sales) mediante un diseño factorial. Se trabajó en botellas de 250 mL pH 6, 37°C, 150 rpm e inóculo 10% (v/v). Se realizaron medidas de azúcares (HPLC), solventes y ácidos (GC) y biomasa (DO600).

**Resultados.** *C. beijerinckii* no produjo butanol, aunque presentó fase acidogénica con formación de ácidos acético y butírico (2,7 y 1,7 g/l respectivamente). *C. acetobutylicum* produjo 5 g/l de butanol luego de 48 h, conversión de glucosa (XS) 97%, productividad volumétrica (QBUT) 0,10 g/lh y rendimiento de butanol basado en el consumo de glucosa (YBUT/s) 0,20 g/g. Con los jugos naturales se encontró que el agregado de p2 aumentó significativamente la formación de butanol de *C. acetobutylicum*, mientras que el extracto de levadura no (alfa=0,05). Se alcanzó una concentración de butanol 7,2 g/l luego de 79 h, xs 56%, QBUT 0,092 g/lh y YBUT/s 0,195 g/g.

**Conclusiones.** *Clostridium acetobutylicum* DSM792 es una cepa promisoría para la producción de biobutanol de jugos azucarados naturales. La suplementación es un aspecto a optimizar para mejorar su desempeño.

### TLP-361. Determinación de actividad enzimática extracelular e identificación de genes de $\beta$ -glucosidasa de *Moniliophthora roreri*

Andrés Concepción Brindis\*, Consuelo Bautista Muñoz\*, Carlos Fredy Ortíz G.\*, Daniel Claudio Martínez C.\*, Xavier Miguel Boldo L.\*, Rosa Margarita Hernández V.\*

\*Área De Ciencia Alimentos E Ingeniería. Colegio De Postgraduados Campus Tabasco. Tabasco, México. Área De Biotecnología. Colegio De Postgraduados Campus Puebla. Puebla, México. Laboratorio De Genómica, División Académica De Ciencias De La Sa Mexico.

**Introducción.** El genoma de *M. perniciosa*, especie hermana de *M. roreri*, contiene un arsenal de enzimas que digieren paredes celulares de plantas como: enzimas lignolíticas, degradadoras de pectina, hemicelulosa y celulosa similar a las encontradas en los hongos hemibiotróficos *Fusarium graminearum* y *Magnaporthe grisea*. El sistema enzimático para la conversión de celulosa a glucosa involucra 3 tipos de celulasas: endo-1,4- $\beta$ -glucanasa, exo- $\beta$ -1,4- $\beta$ -glucanasa y  $\beta$ -glucosidasa; esta última es crucial para completar la hidrólisis de celulosa a glucosa, y se emplea para la producción de etanol a partir de biomasa celulósica. La síntesis de  $\beta$ -glucosidasa es preferible en hongos a fuentes bacterianas por su facilidad de recuperación, alta actividad térmica y estabilidad del pH. La demanda industrial de estas enzimas ha incrementado, conduciendo al estudio de celulasas y otras enzimas relacionadas. Objetivo: identificar genes codificantes de  $\beta$ -glucosidasa, a partir del hongo *M. roreri* cultivado bajo el sistema de fermentación en estado sólido (FES) usando bagazo de caña de azúcar (BCA) como sustrato inductor.

**Materiales y métodos.** La actividad de  $\beta$ -glucosidasa se determinó durante 40 días por medición de la hidrólisis de P-nitrofenil B-D-glucopiranosido (PNPG), proteína total (LOWRY), pH y biomasa. Los ensayos se realizaron por triplicado y fueron analizados por comparación de medias (tukey pH 0.05) empleando el programa SAS. Los genes codificantes de  $\beta$ -glucosidasa de *M. roreri* se amplificaron por PRC empleando iniciadores diseñados a partir de secuencias  $\beta$ -glucosidasa descritas en *M. pernicioso*.

**Resultados.** La enzima fue detectada durante toda la cinética de producción, alcanzando valores de hasta 332.69 u/mg de proteína total y pH de 6.73. Se amplificaron 9 fragmentos cuyo análisis bioinformático de las secuencias, indica homología con genes codificantes de  $\beta$ -glucosidasa.

**Conclusiones.** El genoma de *M. roreri* contiene genes homólogos a  $\beta$ -glucosidasa y produce enzimas celulasas extracelulares con actividad  $\beta$ -glucosidasa cultivada bajo el sistema FES empleando BCA como sustrato inductor.

### TLP-362. Utilization of semi closed system for alcoholic fermentation of sugar cane (*Saccharum sp. L*)

Cosme Barbosa\*, Letícia Mendonça A.\*,  
Elaine Cristina Costa\*, Inayara Cristina Alves L.\*,  
Evelyn De Sousa Oliveira L.\*

\*Universidade Federal De Minas Gerais, Brasil.

**Introduction.** The sugar cane is one of the biggest crop in Brazil. This study aimed to evaluate the kinetic parameters of alcoholic fermentation of sugar cane must in laboratory scale by using a semi closed system.

**Materiales y métodos.** The must was obtained from pasteurized sugar cane juice, diluted to 18 °brix and after addition of 200 mg of sodium metabisulfite per liter. Wet commercial baker's yeast cells of *Saccharomyces cerevisiae* were used as inoculum at a concentration of 20 g l<sup>-1</sup>. The fermentation was carried out with 3 l of wine in a plastic container with capacity of 5 l, sealed and connected by a latex hose to a container filled with distilled water for 24 h. The contents of total soluble solids (TSS), total reducing sugars (TRS), total titratable acidity (TTA), pH and ethanol were determined and used to calculate the kinetic parameters of fermentation.

**Resultados.** The fermented must showed the following mean values: TSS (4.0° brix); TRS (0.50 g l<sup>-1</sup>); TTA (0.4022 g of acid acetic/100 mL); pH (3.80) and ethanol (8.5 % v/v). The values for the kinetic parameters were: ethanol yield (90.35%), efficiency (90.38%) and productivity (4.1057 g. L<sup>-1</sup>.h). The factor of conversion of substrate to ethanol (y p / s) was 0.4618 g ethanol / g TRS.

**Conclusiones.** The semi closed system contributed to the maintenance of the anaerobic environment, which allowed the achievement of higher kinetic parameter values, while minimizing the infestation of flies from the genus drosophila, therefore reducing contamination.

### TLP-363. Dynamics of polysaccharide-degrading enzymes during composting of sugarcane filter cake

Tássio Brito De Oliveira\*, Fernando Nogueira Barbos\*,  
Eleni Gomes\*, Andre Rodrigues\*

\*Univ Estadual Paulista "Júlio De Mesquita Filho" Brasil.

**Introduction.** Composting heaps provide an ideal environment for the development of heat-tolerant fungi and prone for bioprospecting strains which produce heat-resistant enzymes. We aimed to evaluate the dynamics of enzymatic activities *in situ* in different stages of the composting process and to correlate such enzymatic profile with the heat-tolerant fungi present in the substrate.

**Materials and methods.** From three composting piles, we sampled 5 g of substrate during the mesophilic I, thermophilic and mesophilic II stages. The samples were added into polypropylene bags with 50 mL of distilled water. The suspension was filtered and centrifuged at 10000 g during 15 min at 5°C. The supernatant was collected and used as crude extracts for the assays on enzymatic activity. In order to isolate heat-tolerant fungi, 10 g of substrate were ten-fold diluted and inoculated in yeast glucose agar, yeast starch agar and malt agar 2% supplemented with antibiotic and incubated at 45°C for 5 days. The isolated fungi were screened for the production of *Xylanase*, *Cellulases*, *Polygalacturonase* at 45°C.

**Results.** Cellulolytic enzymes were produced *in situ* over the entire composting process, although in small levels (up of 2.6 u g<sup>-1</sup> of exo-

glucanase). *Exopolygalacturonases* were predominant in the whole process; however, high levels were observed in the thermophilic phase (up to 59 u g<sup>-1</sup>). Endoxylanases were produced in small levels (up to 1.44 u g<sup>-1</sup>) and only detected in one phase of each heap. Although all enzymes related to lignocellulosic biomass conversion were not produced in all stages of the composting process, heat-tolerant fungi capable to produce such enzymes were found throughout the process. This result demonstrates that heat-tolerant fungi may differently express their enzymes in the different stages of composting process.

**Conclusions.** The substrate studied is propitious for obtaining fungi capable to producing heat-resistant enzymes with application in biomass conversion.

### TLP-364. Development of an industrial strain of *Saccharomyces cerevisiae* for starch fermentation

Daniel Pereira De Paiva\*, Viviane Castelo Branco Reis\*,  
Lidia Maria Pepe De Moraes\*

\*Universidade De Brasília Brasil.

**Introduction.** Brazil was pioneer in the use of renewable fuels with the creation of proálcool as a response to the first oil crisis, choosing sugar cane as feedstock, but also considering raw materials rich in starch. *Saccharomyces cerevisiae*, traditionally used for ethanol production, is incapable of metabolizing starch, requiring the addition of enzymes, which increases production costs. In this work, we aim the development of a recombinant yeast capable of hydrolyzing starch and using the sugar obtained from it for ethanol production. Furthermore, in order to attend cntbio regulations for future commercialization, it is necessary to make genetic modifications to prevent this yeast from sharing genetic material with wild microorganisms.

**Materials and methods.** Deletion cassettes were constructed for *ste5* and *ime1* genes which prevents the yeast's mating and sporulation, respectively. After each gene deletion, selection marks will be removed and phenotypic assays will be made to ensure that there were no essential morphological changes to the cell. In parallel, we are performing assays to choose the most appropriate promoter to use in cassettes with  $\alpha$ -amylase and glucoamylase, enzymes necessary for starch hydrolysis.

**Results.** We have successfully deleted the *ste5* gene. The removal of the selection marker is being done prior to phenotypic assays and *ime1* gene deletion. We have also assayed the strength of eight promoters from industrial (jpu) and laboratory (s288c) strains in both type of strains. Preliminary results showed that *pgi1*, *adh1* and *tdh1* have significant strength difference in jpu strain, depending on promoter origin. Further studies are being done for choosing the appropriate promoter combination to be used with the starch degradation enzymes.

**Conclusions.** With this strategy, we expect to build an industrial yeast, in accordance to cntbio regulations, capable of hydrolyzing starch and to convert it to ethanol with high yields.

### TLP-365. Isolamento e seleção de micro-organismos potencialmente biotransformadores de limoneno

Juliano Lemos Bicas\*, Lorena De Oliveira Felipe\*, Bruna Pereira N.\*

\*Universidade Federal De São João Del-Rei/Campus Alto Paraopeba Brasil.

**Introdução.** O Brasil apresenta um agronegócio pujante e, portanto, uma elevada disponibilidade de resíduos e subprodutos agroindustriais de baixo valor comercial. Uma das alternativas mais promissoras que têm despontado como forma de agregar valor aos subprodutos terpênicos, particularmente o r-(+)-limoneno da laranja e P.Pinenos da indústria de papel e celulose consistem na sua biotransformação para produção de compostos de aroma. Contudo, desenvolvimentos nessa área ainda se fazem necessários, principalmente no que diz respeito ao isolamento e seleção de micro-organismos que sejam capazes de bioconverter eficientemente os substratos terpênicos. Portanto, o objetivo desse trabalho foi prospectar cepas com potencial para biotransformar r-(+)-limoneno. Considerando que os terpenos são reconhecidamente compostos antimicrobianos, inicialmente, buscou-se isolar micro-organismos resistentes ao r-(+)-limoneno.

**Materiais e métodos.** Para tal, micro-organismos foram isolados de amostras vegetais ricas em terpenos (mamão, cenoura, laranja, limão, etc.) Utilizando-se meio de cultura líquido yeast-malt, enriquecido com 1% (v/v) de r-(+)-limoneno com incubação por 24h a 30°C e 150 rpm.

Posteriormente, as linhagens resistentes pré-selecionadas foram inoculadas em meio mineral contendo 1% (v/v) de r-(+)-limoneno como única fonte de carbono e energia para escolher apenas aqueles que utilizam este substrato e, presumivelmente, o biotransformam. O monitoramento da densidade óptica a 600 nm foi feito a cada 24 h entre 0-144 h para a construção da curva de crescimento.

**Resultados.** Foram isolados 20 micro-organismos resistentes a 1% (v/v) de r-(+)-limoneno e, dentre elas, duas cepas foram isoladas como potencialmente biontransformadoras de terpenos, pois apresentaram crescimento satisfatório no meio mineral contendo limoneno. A análise cromatográfica de extratos orgânicos de tais culturas pode indicar o acúmulo de produtos de interesse.

**Conclusões.** Dessa forma, esse procedimento experimental é considerado uma forma eficiente de bioprospecção para investigar rotas de agregação de valor aos subprodutos da agroindústria.

### TLP-366. Avaliação microbiológica de polpas de cupuaçu caseiras comercializadas em município da Amazônia Ocidental: Tucuruí, Pará, Brasil

Elíene Meireles Da Silva\*, Marcos Riscik\*, Alex Odriley Feitosa Da C.\*, Keiciane Souza S.\*, Zânia Barbosa G.\*, José Claudio De Souza M.\*, Luciana Mendes F.\*

\*Instituto Federal De Educação, Ciência E Tecnologia Do Pará - Campus Tucuruí Brasil.

**Introdução.** O cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) é um fruto típico da região norte do Brasil, com grande potencial econômico. Atualmente, é a polpa que mobiliza e sustenta a produção, industrialização e a comercialização deste fruto, utilizada na confecção de: bombons, compotas, licores, sorvetes, entre outros. O processo de despulpamento é realizado de forma manual, com a utilização de tesouras e a conservação da polpa se dá pelo congelamento, pois este determina a viabilidade do aproveitamento da matéria-prima. Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de polpas de cupuaçu fabricadas artesanalmente (caseiras) comercializadas no município de Tucuruí-Pará no mês de junho de 2014.

**Materiais e métodos.** Pesquisou-se os seguintes parâmetros microbiológicos: coliformes totais e termotolerantes; bolores e leveduras; aeróbios Mesófilos e *Estafilococos*.

**Resultados.** Em (100%) das amostras não foi detectado coliformes fecais e totais, estando dentro dos padrões definidos pela legislação vigente – RDC No. 12/2001 anvisa, que estabelece o valor ausência e <3,0 nmp/g, respectivamente. Para bolores e leveduras, obteve-se a média de 2,08 x 10<sup>3</sup> UFC/g, com variação de 1,1 x 10<sup>3</sup> a 4,3 x 10<sup>3</sup> UFC/g, estando em níveis aceitáveis conforme a in No. 01/2000 (MAPA), a qual preconiza o valor máximo de 5 x 10<sup>3</sup> UFC/g. Os resultados para aeróbios mesófilos tiveram a média de 1,1 x 10<sup>4</sup> UFC/g, com valores variando de 0,8 x 10<sup>4</sup> a 3,5 x 10<sup>4</sup> UFC/g. Os valores para *Estafilococos* variaram de 0,1 x 10<sup>4</sup> a 2,1 x 10<sup>4</sup> UFC/g e média de 0,72 x 10<sup>4</sup> UFC/g. Segundo a anvisa, não existe um valor máximo de referência para organismos mesófilos e *Estafilococos* em polpas de fruta.

**Conclusões.** Esses resultados indicam boas práticas de fabricação e das condições higiênicas-sanitárias no processamento das polpas de cupuaçu artesanalmente fabricadas.

### TLP-367. Identificación de biosensores de carencia de nitrógeno durante la fermentación vinica

Verónica García\*, Sindy Gutierrez\*, Angela Contreras\*, Sebastián Araos\*, Francisco Cubillos\*, María Angélica Ganga\*, Claudio Martínez\*

\*Universidad De Santiago De Chile.

**Introducción.** *Saccharomyces cerevisiae* es el principal microorganismo responsable de la fermentación alcohólica y su metabolismo incide directamente en la calidad del vino producido. En este sentido el metabolismo del nitrógeno es de gran impacto en este proceso, pues este compuesto se encuentra en cantidades limitantes en el mosto de uva provocando, en algunos casos, enlentecimientos o paradas de la fermentación y grandes pérdidas económicas. El objetivo de este trabajo es identificar genes cuya expresión responda a la presencia de nitrógeno disponible en el mosto y así proyectar su uso como biosensores de este compuesto.

**Materiales y métodos.** Se realizaron análisis transcriptómicos mediante QPCR y fermentaciones en mosto sintético con distintas cantidades de nitrógeno asimilable.

**Resultados.** Para ello se identificaron genes que muestran distinta expresión entre dos cepas genéticamente relacionadas que solo difieren en el consumo de nitrógeno durante la fermentación. Posteriormente se evaluó la expresión de estos genes en mostos con bajo y alto contenido de nitrógeno y se comprobó que los genes RDL1 y YAP3 responden a la cantidad de nitrógeno en el medio principalmente al inicio de la fermentación. Finalmente se evaluó la respuesta de estos genes en cepas industriales usadas comúnmente en fermentaciones vinicas en donde se observó que ambos genes responden a la cantidad de nitrógeno disponible en el mosto en las etapas tempranas de la fermentación.

**Conclusiones.** Estos resultados indican que RDL1 y YAP3 son candidatos atractivos para evaluar el contenido de nitrógeno en mostos.

### TLP-368. Influência da aeração e da temperatura na densidade celular em inóculos para produção de bioplástico bacteriano

Amanda Avila R.\*, Karine Laste Macagnan\*, Mariane Igansi Alves\*, Angelita Da Silveira M.\*, Claire Tondo Vendruscolo\*

\*Universidade Federal De Pelotas, Brasil.

**Introdução.** Poli-3hidroxibutirato, poliéster natural sintetizado por microorganismos, é capaz de substituir plásticos petroquímicos em diversos segmentos industriais. O rendimento de bioprocessos para obtenção de Poli-3hidroxibutirato está diretamente relacionado a cultivos com alta densidade celular. Objetivou-se avaliar a influência da aeração e da temperatura na densidade celular de inóculos.

**Materiais e métodos.** Foram produzidos inóculos com *Ralstonia solanacearum* e *Bacillus megaterium* em erlenmeyers aletados (maior aeração) e não aletados de 500 mL contendo meio yeast malt, pH6,5, com do inicial de 0,5 (600 nm) e volume total de cultivo de 200 mL. Os frascos foram mantidos em incubador agitador orbital a 28, 32 e 36°C, 150 rpm até 28 h com coleta de amostras a cada 2 h para determinação da do e glicose residual, em 6, 12, 18, 22, 24 e 28 h para determinação da massa celular seca por análise gravimétrica.

**Resultados.** O crescimento foi positivamente influenciado pela maior aeração, com exceção da *Ralstonia* a 36°C. Com maior aeração a fase estacionária iniciou-se em 22 ou 24 h; com menor aeração variou de 16 a 24 h, com exceção para *Ralstonia* a 36°C, onde não foi atingida. O consumo da fonte de carbono foi parcial e proporcional ao crescimento. Em 28 h os consumos máximos de glicose foram de 70% e 56% para a maior e menor aeração, respectivamente. Nos cultivos com *Ralstonia* a temperatura que propiciou o inóculo mais denso, do 9,5 e msc 6,4 g.l-1, em 22 h, foi a de 32°C, enquanto que para *Bacillus* os maiores valores, do 12,3 e msc 10,5g.l-1 foram alcançados a 36°C, também em 22 h.

**Conclusões.** O aumento de aeração e temperatura influenciou positivamente a densidade dos cultivos. O inóculo com maior densidade celular foi o produzido a 36°C com *Bacillus megaterium*, e os resultados de mcs indicam boa qualidade de inóculo para utilização na fase de produção de P(3HB).

### TLP-369. Lactococcus lactis subsp. Lactis dy13: efeito dos componentes do meio e da temperatura na produção de bacteriocina

Graciele Daiana F.\*, Juliana De Lima M.\*, Guilherme Da Silva D.\*, Ana Rita Carboni R.\*, Cláudio Eduardo Dos Santos C.\*, Vera Maria Klajn\*, Wladimir Padilha Da S.\*, Ângela Maria F.\*

\*Univ. Federal De Pelotas/UFPEL. Instituto Federal Farroupilha, Brasil.

**Introdução.** *Lactococcus lactis* é uma das principais espécies de bactérias ácido lácticas utilizadas como culturas iniciadoras e adjuntas em produtos lácteos fermentados. O principal papel destas bactérias é a fermentação. Este processo promove a bioconservação devido à produção de ácidos orgânicos, bacteriocinas, dentre outros. Bacteriocinas são peptídeos com atividade antimicrobiana contra bactérias deteriorantes e patogênicas. A nisina, produzida por *L. lactis*, é a bacteriocina melhor caracterizada e mais utilizada. Atualmente, é aprovada como aditivo alimentar em mais de 50 países. Para uso comercial, é importante uma grande produção de bacteriocinas pela linhagem de interesse. Diversos estudos relatam que a produção de bacteriocinas é afetada por fatores físicos e químicos. Ob-

jetivo geral. Estudar a influência da temperatura e da adição de fontes de carbono e nitrogênio na produção de bacteriocinas por *L. lactis* dy13.

**Materiais e métodos.** Adicionou-se 1% de inóculo em 10 mL de caldo mrs suplementado com 0,5% e 1% de sacarose, 2% de triptona e incubado por 24 h às temperaturas de 25, 30 e 35°C. Após a incubação, as culturas foram centrifugadas a 6.800 g por 20 minutos (4°C). O sobrenadante foi retirado, neutralizado, aquecido a 80°C por 10 minutos e esterilizado por membrana de 0,22 µm. Então, 20 µl do sobrenadante foram gotejados sobre ágar BHI inoculado com 105 UFC da cultura de *Listeria monocytogenes*. A atividade da bacteriocinas foi determinada pela recíproca da maior diluição.

**Resultados.** Foi observada a atividade antimicrobiana do sobrenadante em todos os meios e temperaturas testadas, exceto para aquele suplementado com triptona. Os maiores níveis de produção de bacteriocinas foram observados a temperatura de 30°C em caldo mrs comercial.

**Conclusões.** Com o estudo, pode-se observar que, de fato, a produção de bacteriocinas é influenciada pela temperatura e composição do meio em que esta é cultivada.

### TLP-370. Effect of different prebiotics on growth and bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum*

Sabrina Da Silva Sabo\*, Luiz Rogério Ludwig Farinha\*,  
Maria Carolina Porto\*, José Manuel Domínguez G.\*,  
Ricardo Pinheiro De Souza O.\*

\*University Of São Paulo Brasil.

**Introduction.** *Lactobacillus plantarum* is a lactic acid bacterium with probiotic property. Prebiotics, are ingredients which allow changes in composition and in the gastrointestinal microbiota activity, providing benefits to human health. According to some authors, prebiotics may promote cell growth of probiotics microorganisms. In this context, the aim of this study was to evaluate the isolated effect of three prebiotics on growth and bacteriocin production by *L. plantarum*.

**Materials and methods.** The study was carried out using *L. plantarum* cect-221. This strain was grown in a culture broth similar to mrs, changing the carbon source by fos, inulin and polydextrose. Culture with 20 g/l of dextrose was used as control. Samples were taken periodically for analysis of cell growth (dry weight mass), pH and bacteriocin production. In the latter, 15 strains were used as bioindicators, which 3 strains were *Listeria monocytogenes*, 11 strains of *Listeria innocua* and one of *Lactobacillus sakei*.

**Results.** Comparing the cell growth of *L. plantarum* cect-221 under different carbon sources, it was found that cultivation using dextrose showed the higher dry weight mass (2.62 mg/mL). When this strain was cultivated in culture media supplemented with prebiotics, no increased in cell concentration was observed and the dry weight masses were no greater than 1.14 mg/mL. Decreasing in pH of the culture medium with dextrose was 6.0 to 3.8. The final pH of this culture was much lower compared with prebiotic-culture, in which the minimum pH was near 5.0. Despite higher growth using dextrose, bacteriocin production was not expressed, even using prebiotics.

**Conclusions.** We concluded that the preferred carbon source for growth of *L. plantarum* CECT-221 is dextrose. This culture should produce high concentrations of organic acids, justifying the decreasing in pH medium. Furthermore, other bioindicator strains should be tested in order to obtain the expression of the bacteriocin produced.

### TLP-371. Empleo de consorcios microbianos para la adecuación y bioremediación de residuos agropecuarios e industriales

Patrícia Eugenia Vélez A.\*, Jose Fernando Restrepo\*, Maria Nancy Estrada V.\*, Jennifer Andrea Galeano S.\*, Eliana Mendoza M.\*

\*Soluciones Microbianas Del Trópico Ltda Colombia.

**Introducción.** Los residuos orgánicos generados en las industrias y las actividades agropecuarias, se convierten en una fuente de contaminación ambiental, cuando no son tratados adecuadamente; debido a que los procesos de biodegradación natural no funcionan a la misma velocidad con que se generan dichos desperdicios, estos se acumulan llegando inclusive a convertirse en un peligro para el equilibrio del ecosistema. Dentro de los residuos orgánicos se encuentran los materiales lignocelulósicos (pajas, rastrojos), residuos agroindustriales (bagazo de

caña, pulpa de café, lodos plásticos, etc). Emplear consorcios microbianos a base de hongos *Deuteromycetes*, *Baidiomycetes* y levadura para la adecuación y bioremediación de residuos agropecuarios e industriales

**Materiales y métodos.** Se realizaron diferentes ensayos piloto en gallinaza, pulpa de café, material ruminal, residuo cítrico, residuo de uva pasa y algarrobo, excretas de vacunos y porcinos y lodos plásticos. Los materiales fueron dispuestos en pilas de diferentes volúmenes y se realizó el registro de variables durante el proceso de descomposición (caracterización microbiológica, humedad, temperatura, granulometría y textura del material), además de registrar el tiempo de descomposición del material.

**Resultados.** Los resultados muestran una reducción considerable en el tiempo de descomposición de los materiales adicionados con el consorcio microbiano, con respecto al método convencional, y confirman su sanitización y enriquecimiento, generando valor agregado de estos residuos para diferentes usos.

**Conclusiones.** Como fruto de las evaluaciones realizadas, surge la posibilidad de adecuar y bioremediar diversos residuos generados en las industrias y el sector agropecuario con estos inóculos microbianos, optimizando el uso de estos materiales en las prácticas agrícolas y reduciendo el impacto ambiental generado por el inadecuado manejo de dichos residuos.

### TLP-372. Purificação do caldo de cana-de-açúcar por irradiação ultravioleta e micro-ondas para produção de açúcar e etanol

Mônica Hitomi Okura\*, José Waldir Sousa Filho\*,  
Kariny Cristina Pereira\*, Marlei Barboza Pasotto\*

\*Universidade Federal Do Triângulo Mineiro Brasil.

**Introdução.** O processo de clarificação do caldo de cana durante a produção do açúcar é realizado com um ou mais agentes químicos como leite de cal e anidrido sulfúrico; envolve aquecimento, decantação e filtração a vácuo do resíduo decantado. A utilização de tecnologias de irradiação não térmicas, como ultravioleta e micro-ondas, pode simplificar o processo de clarificação do caldo de cana-de-açúcar, uma vez que não utiliza insumos e pode ser automatizada, racionalizando a mão de obra e diminuindo o custo de produção, além de ter se mostrado eficiente na redução de microrganismos contidos em alimentos e modificando cor e turbidez de sucos. O objetivo deste trabalho foi purificar o caldo de cana-de-açúcar por irradiação uv e micro-ondas para produção de açúcar e etanol.

**Materiais e métodos.** No experimento foram realizadas comparações das análises físico-químicas do caldo in natura com o caldo obtido após os tratamentos por irradiações. Foram analisados: turbidez, cor, sólidos solúveis (°brix) e pH, além de análises microbiológicas.

**Resultados.** Para análise dos resultados utilizou-se da análise de variância (anova) seguida do teste de tukey, e/ou o teste não paramétrico de kruskall-wallis seguido de comparações múltiplas por ordens, todos com nível de significância 0,05. Observou-se que no micro-ondas com potência 600 w e tempo de exposição 2 min foi o mais indicado não ocorrendo variação significativa para cor, turbidez e °brix. O pH sofreu redução significativa. Para o método por ultravioleta, a potência de 250 w e tempo de exposição de 3 min foram os mais indicados, onde as variações do °brix e do pH não houve diferença significativa, mas a cor e a turbidez sofreram redução significativa, todos os tratamentos reduziram o número de colônias de bactérias.

**Conclusões.** Com isso, propõem-se alteração no processo de produção de açúcar e etanol eliminando as etapas de sulfitação, calagem, aquecimento e decantação, para ultravioleta.

### TLP-373. Biodiversidad y dinámica microbiana durante la elaboración de vinos Chilenos y su rol como productores de aminas biógenas

Silvia Rojas-Caro\*, Carolina Herrera\*, Mario Aranda\*, Apolinaria García\*

\*Universidad De Concepción Chile.

**Introducción.** La industria vitivinícola ha situado a Chile como quinto exportador a nivel mundial. El vino es el producto final de interacciones entre diversos microorganismos, los cuales realizan importantes procesos en la vinificación, tal como la fermentación alcohólica y fermentación maloláctica, llevada a cabo por levaduras y bacterias lácticas, respectivamente. Sin embargo, producto del metabolismo microbiano, pueden producirse compuestos peligrosos para la salud del consumidor, como las aminas biógenas. Objetivo: determinar la biodiversidad y diná-

mica de levaduras y bacterias lácticas asociadas a la vinificación y su rol en la producción de aminas biógenas.

**Materiales y métodos.** La diversidad y dinámica se estudió mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), cultivo en medios selectivos y electroforesis en gel con gradiente de denaturación (DGGE). La cuantificación de aminas biógenas, directamente de mostos y vinos, y a partir de aislados microbianos, fue determinada mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

**Resultados.** Se observa baja diversidad de microorganismos a nivel de especies, siendo varios de ellos capaces de sintetizar aminas biógenas *in vitro*. Además, en varios vinos estudiados, los niveles de aminas biógenas superan lo establecido como inocuo para el consumidor.

**Conclusiones.** La identificación de los microorganismos dominantes en este proceso, así como también la determinación de su posible rol como productores de aminas biógenas en vinos chilenos, puede ayudar al desarrollo de estrategias de control del proceso de vinificación, obteniendo así un producto acorde a las exigencias de calidad e inocuidad establecidas en los principales mercados mundiales. Financiamiento: proyecto innova Biobío No.12.113, proyecto fondecyt 1131080.

### TLP-374. Factores de crecimiento determinantes en la producción de polihidroxicanoatos a partir de *Pseudomonas fluorescens*

Diana Marcela Vanegas H.\*, Margarita Enid Ramirez C.\*,  
Monica Liliana Cardona A.\*

\*Universidad Pontificia Bolivariana, Colombia.

**Introducción.** La producción de polihidroxicanoatos a partir de diferentes sustratos ha sido estudiada en busca del incremento en su rendimiento, por tanto, el control y conocimiento de variables en el proceso busca estandarizar las condiciones de producción a partir de las condiciones óptimas de reacción, para minimizar estrés microbiano y mejorar la formación del producto final. Objetivo general. Evaluar tipo de fuente de carbono y temperatura de fermentación para la producción de polihidroxicanoatos.

**Materiales y métodos.** Se evaluaron dos fuentes de carbono diferentes (glucosa y melaza), se determinó el crecimiento del microorganismo y la producción de polihidroxicanoatos (PHA). Posteriormente, se modeló la cinética de crecimiento de *Pseudomonas fluorescens* a diferentes temperaturas de fermentación mediante el modelo sigmoidal de gompertz.

**Resultados.** Los resultados mostraron que el medio con melaza presenta un crecimiento de *Pseudomonas fluorescens* mayor en comparación al medio con glucosa y siguiendo la cinética de crecimiento de dicho microorganismo en melaza según el modelo sigmoidal de gompertz se estableció como rango de temperatura de trabajo para la producción de PHA en temperaturas inferiores a 30°C. Los ensayos sobre la evaluación del efecto de la temperatura en el crecimiento de *Pseudomonas fluorescens* presentaron una máxima velocidad de crecimiento celular de 0,8635 (h<sup>-1</sup>) para una temperatura de 33°C y una mínima velocidad de crecimiento celular de 0,3296 (h<sup>-1</sup>) para una temperatura de 26°C. En ésta última se presenta la mayor duración de la fase estacionaria y estabilidad, lo cual favorece para la formación de metabolitos secundarios.

**Conclusiones.** La melaza como sustrato presenta nutrientes favorables para el crecimiento de *Pseudomonas fluorescens* y promueve la producción de PHA. La cinética de crecimiento de *Pseudomonas fluorescens* se ajusta al modelo cinético de gompertz.

### TLP-375. Síntesis de RNA pequeños en respuesta a estrés oxidativo en *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Expression of small RNAs in response to oxidative stress in *Acidithiobacillus ferrooxidans*

Omar Orellana\*, Pamela Alamos\*, Andrés Castillo\*, Rodrigo Flores\*, Amir Schmaryahu\*, Cynthia González\*, Gloria Levicán\*,  
Michael Daume\*, Lennart Randau\*

\*Programa De Biología Celular y Molecular, ICBM, Facultad De Medicina, Universidad De Chile.

**Introducción.** El control traduccional de la expresión génica por los RNA pequeños no codificantes (sRNA) ha sido descrito en varios microorganismos. En *Escherichia coli*, el sRNA RYHB y el sRNA oxys participan en el metabolismo del hierro y en el estrés oxidativo, respectivamente. La bacteria *Bio-lixivante quimilolitótrofa, Acidithiobacillus ferrooxidans* no posee ortólogos

de RYHB ni oxys, por lo que surge la siguiente pregunta, ¿existen sRNA codificados en el genoma de *A. ferrooxidans* que responden a estrés oxidativo? **Materiales y métodos.** El genoma de la cepa ATCC 23270 de esta bacteria está constituido por un cromosoma que posee al menos dos elementos integrativos conjugativos funcionales (ICEAFE1 y 2). Para identificar los sRNA codificados en las regiones intergénicas (RIG) del genoma que responden al tratamiento con peróxido de hidrógeno, se han utilizado dos enfoques experimentales basados en la secuenciación masiva de RNA (solexa/illumina) combinada con el análisis bioinformático y funcional.

**Resultados.** 1.- se predijeron bioinformáticamente los posibles promotores y terminadores de la transcripción en las rig de *A. ferrooxidans* que variaron sus niveles en respuesta al tratamiento con peróxido de hidrógeno. Se seleccionaron 10 rig para análisis posteriores. Se observó que las predicciones fueron consistentes con los datos de secuenciación masiva y los niveles de los sRNA fueron validados por RT-PCR. Posibles blancos de regulación para los sRNA están en proceso de identificación. 2.- se está trabajando en la identificación de los sRNA que interaccionan con la chaperona de RNA HFQ. Esta proteína es requerida para facilitar el apareamiento de los sRNA de acción en trans, que poseen complementariedad de bases limitada con el mRNA blanco.

**Conclusiones.** La HFQ de *A. ferrooxidans* presenta características estructurales que hacen suponer que es clave en la regulación de la expresión génica por sRNAs en respuesta a estrés oxidativo en esta bacteria.

### TLP-376. Determinación de actividad enzimática extracelular de endo-1,3(4)-β-glucanasa a partir de *Aspergillus terreus*

Ricarda Ventura V.\*, Consuelo Bautista M.\*

\*Área De Ciencia Alimentos E Ingeniería. Colegio De Postgraduados Campus Tabasco. México.

**Introducción.** Las celulasas y xilanasas son enzimas hidrolíticas que participan en el rompimiento de los enlaces glicosídicos β-1,4 presentes en la celulosa y hemicelulosa. *Aspergillus* es un género muy extenso y diverso de hongos filamentosos, sus miembros han sido usados ampliamente en aplicaciones biotecnológicas como fábrica de células para la producción de una amplia gamma de bioproductos de alto valor agregado, tales como ácidos orgánicos, productos farmacéuticos y enzimas. *Aspergillus terreus*, es una especie valiosa comercialmente desarrollada como un excelente productor de ácido itacónico y lovastatina. Objetivo. Estudiar la cinética de producción extracelular de endo-1,3(4)-β-glucanasas a partir de *Aspergillus terreus* cultivado bajo el sistema de fermentación en estado sólido (FES) usando residuos agrícolas como sustrato inductor.

**Materiales y métodos.** La cepa ATE1 de *A. terreus* fue aislada del ambiente e identificado mediante el gen 18s DNAR. La secuencia fue analizada e indicó que la cepa analizada comparte un 100% de homología con cepas de *A. terreus* previamente descritas. La secuencia obtenida fue enviada al genbank del NCBI. El hongo fue cultivado en un medio bajo fes durante 40 días, usando bagazo de caña de azúcar (BCA) y cascarilla de cacao (CCA) como sustrato inductor. La actividad de endo-1,3(4)-β-glucanasas fue ensayada con carboximetilcelulosa como sustrato.

**Resultados.** La enzima fue detectada durante toda la cinética de producción con ambos inductores, sin embargo, la expresión fue mejor inducida con BCA y los niveles más altos de actividad fueron obtenidos a partir del día 17 a 26 de la cinética de FES, alcanzando valores de hasta 175.94 u/mg de proteína total. La morfología celular del hongo mostró la presencia de estructuras conoidales típicas.

**Conclusiones.** La cepa ATE1 de *A. terreus* produce enzimas extracelulares con actividad endo-1,3(4)-β-glucanasa cuando es cultivado bajo el sistema FES usando BCA y CCA como sustrato inductor.

### TLP-377. Caracterização e viabilidade de iogurte com culturas probióticas e polpa de pitanga (*Eugenia uniflora* L.)

Gabriela Niemeyer R.\*, Bianca Camargo A.\*, Ana Rita Carboni R.\*,  
Graciele Daiana F.\*, Angela Maria Fiorentino\*, Rodrigo Cezar Franzone\*, Fábio Clasen Chaves\*

\*Universidade Federal De Pelotas, Brasil.

**Introdução.** Frutos nativos do Brasil são conhecidos pela qualidade nutricional, porém a curta vida-de-prateleira limita sua comercialização. A elaboração de iogurte é uma alternativa para agregar valor aos frutos.

Objetivou-se avaliar a viabilidade e as características físico-químicas de iogurte probiótico com polpa de pitanga (PP).

**Materiais e métodos.** Para elaboração do iogurte, misturou-se leite a 10% (m/v) de açúcar aquecendo-o até 92°C/3 minutos, após esfriou-se em banho-maria até 48°C para adição das culturas liofilizadas: *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum* e *Lactobacillus acidophilus*, fermentando em iogurteira (fun kitchen). Para PP, os frutos foram sanitizados em solução de hipoclorito (150 ppm), cortados para separação das sementes e triturados em liquidificador. Adicionou-se à polpa 2,5% (m/v) de açúcar, concentrando-a em fogo até 25 °brix. Elaborou-se iogurte com concentrações 0% e 15% de PP, mantidos sob refrigeração a 5°C/14 dias. Realizou-se análises de sólidos solúveis (ss), pH e acidez e contagem das bactérias ácido lácticas em ágar MRS e ST.

**Resultados.** Considerando os dias 0, 8 e 14, os respectivos valores para ss (%) são 0% (23,50±0,06; 23,27±0,03; 23,53±0,03) e 15% (23,60±0,06; 23,43±0,03; 23,43±0,03); pH 0% (5,07±0,02; 4,71±0,01; 4,59±0,01) e 15% (4,38±0,01; 4,24±0,01; 4,19±0,02); acidez (% ácido láctico) 0% (0,39±0,00; 0,39±0,01; 0,39±0,01) e 15% (0,59±0,02; 0,60±0,01 0,60±0,02). O iogurte 0% PP apresentou contagem inicial de *L. acidophilus* de 3,8x10<sup>7</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> e 15% PP 3,5x10<sup>7</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>. Após 8 dias de armazenamento, a contagem 0% foi de 2,5x10<sup>7</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> e 15% foi de 1,4x10<sup>6</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>.

**Conclusões.** Os iogurtes 0% PP e 15% PP apresentaram características físico-químicas adequadas, no entanto a viabilidade probiótica manteve-se até oitavo dia de armazenamento.

### TLP-378. Degradação de penas por fungos filamentosos da restinga de Guaibim, Bahia, Brasil

Carina Sousa Guedes\*, Náira Sueli Da Conceição Santos\*,  
Jackeline Pereira Andrade\*, Vinícius De Jesus Nunes\*,  
Phellippe Arthur Santos Marbach\*

\*Universidade Federal Do Recôncavo Da Bahia, Brasil.

**Introdução.** A queratina é uma proteína estrutural e resistente a ação de várias proteases, devido principalmente ao seu alto conteúdo de pontes dissulfetos. Apesar da resistência, elas podem ser decompostas na natureza, por microrganismos com a capacidade de degradar e utilizar estas proteínas como nutrientes. Estes microrganismos produzem enzimas denominadas queratinases, que compõem uma classe de proteases capazes de hidrolisar as ligações peptídicas. Avaliar a capacidade de fungos filamentosos isolados da restinga de Guaibim, Bahia, Brasil em degradar penas de frangos.

**Materiais e métodos.** A triagem foi realizada com 108 isolados fúngicos do acervo existente no laboratório de biologia evolutiva da universidade federal do recôncavo da bahia, Brasil. Estes isolados foram triados por fermentação submersa utilizando pena de frango como única fonte de carbono e nitrogênio. O caldo foi incubado em agitador orbital a 150 rpm e 30°C durante 7 dias. Após este período, o fermentado foi autoclavado, filtrado e pesado.

**Resultados.** Os isolados que degradaram 30% ou mais das penas foram identificados morfologicamente em nível de gênero, sendo 13 isolados de *Penicillium* sp., 12 *Paecilomyces* sp., 6 *Aspergillus* sp., 1 *Fusarium* sp. E 1 *Trichoderma* sp. Os isolados com melhores porcentagens de degradação foram dos gêneros: *Paecilomyces* sp. (82.69 %), *Aspergillus* sp. (73.82 %) *E. penicillium* sp. (73.27%).

**Conclusões.** A capacidade de degradação de penas desses isolados poderá ser explorada na produção de penas hidrolisadas que, por sua vez, podem ser utilizadas como adubo nitrogenado ou na alimentação animal. A próxima etapa será caracterizar e otimizar o processo de produção das enzimas queratinolíticas desses isolados fúngicos.

### TLP-379. Effect of prebiotics fructo-oligosaccharides and polydextrose on growth cells of *Pediococcus Pentosaceus* ATCC43200® in semi-synthetic broth

Maria Carolina Porto\*, Luis Rogério Luidwig Farinha\*,  
Sabrina Sabo\*, Ricardo Pinheiro De Souza Oliveira\*

\*Universidade De São Paulo Brasil.

**Introduction.** Strains of *Pediococcus pentosaceus* have been introduced into fermentative process, and mostly, as starter cultures in biopreservation of meat products. These bacteria are Gram-positives, homofermentatives and belong to group of lactic acid bacteria (LAB). Objective: the present research consists in to evaluate the *Pediococcus*

*pentosaceus* ATCC 43200® growth, with different prebiotics by determination of the maximum specific growth rate ( $\mu_{max}$ ).

**Materials and methods.** *Pediococcus pentosaceus* ATCC43200® was submitted in synthetic MRS (man, rogosa and sharpe) broth, in shaker, with 100 RPM of agitation, during 12 h/30°C. The samples were assembled each 2 h for 12 h. Afterward, they were collected each 12 h, until 34 h.

**Results.** In culture with dextrose dry biomass obtained (4,0 mg/mL) and  $\mu_{max}$  (0,5152h<sup>-1</sup>). In broth with polydextrose dry biomass was (1,74 mg/mL) and  $\mu_{max}$  (0,3581 h<sup>-1</sup>).and in broth with fos dry biomass was (1,09 mg/mL) and  $\mu_{max}$  (0,2927 h<sup>-1</sup>). Discussion: the high  $\mu_{max}$  0,5152 h<sup>-1</sup> was obtained with cultures in broth with dextrose, during exponential phase. The d.o (600 nm) e dry biomass (mg/mL) were evaluated to determination concentration of cells.the maximum dry biomass (4,0 mg/mL) was obtained in broth of mrs with dextrose, it was calculated with the next equation:  $y = 1,8475x - 0,0446$ . The dry biomass with polydextrose (1,74 mg/mL) was greater, only, than culture with fos (1,09 mg/mL). The major pH variation (6,04- 4,26) occurred with dextrose culture too. Possibly, this pH variation contributed to cells development.

**Conclusions.** *Pediococcus pentosaceus* ATCC43200® have better cells growth in culture supplemented with dextrose than in culture with polydextrose e fos. This strain of *Pediococcus pentosaceus* is less described for literature of culture with MRS supplemented with variety of prebiotics. Therefore, new studies are necessary to complement this subject.

### TLP-380. Evaluación de un fagoestimulante para una formulación de *Bacillus thuringiensis* contra *Spodoptera frugiperda*

Liz Mayra Isabel Rodríguez P.\*, Abad Flores Paucarima\*,  
José Antonio Camarena Lizarzaburu\*, Alejandro Patiño Gabriel\*,  
Mario Alcarraz Curi\*

\*Universidad Nacional Mayor De San Marcos, Perú.

**Introducción.** Ante el uso indiscriminado de agroquímicos ante la plaga polífaga *Spodoptera frugiperda*, proponemos el uso del control biológico y la potenciación de la formulación de la bacteria *Bacillus thuringiensis*. Nuestro objetivo es evaluar tres coadyuvantes con propiedades fagoestimulantes sobre larvas neonatas de *Spodoptera frugiperda* y su compatibilidad con *Bacillus thuringiensis kurstaki*, ayudando a que el insecto consuma la dosis letal.

**Materiales y métodos.** Se utilizó como fagoestimulantes: hojas de maíz tratadas, glutamato de sodio y harina de maíz en polvo, frente a larvas de *S. frugiperda*, siguiendo el método de dos alternativas modificado, descrito por Bartlett et al. 1990. Para determinar la compatibilidad con *B. thuringiensis*, se añadió fagoestimulantes a cultivos de la bacteria y se midió la concentración de células por mililitro, mediante recuento en placa, contando con un control e incubándose a 30°C y 200 rpm por 96 h. Se realizó un análisis estadístico de kruska-l-wallis de muestras independientes con un nivel de significancia de 0.05 utilizando el programa spss versión 20.0.

**Resultados.** No se observaron larvas neonatas junto a glutamato de sodio. Mediante la prueba kruskal wallis y en las comparaciones por pareja se apreció diferencias significativas entre tratamientos, siendo la hoja de maíz tratada la de mayor preferencia, acorde con Ramírez-Suero et al. (2005) quienes atribuyen a la harina de maíz y los almidones la función de agentes dietéticos que estimulan el consumo por parte de las larvas y mejora la llegada de la toxina a su sitio de acción. En la prueba de compatibilidad entre el control y la hoja de maíz tratada no existieron diferencias significativas ( $\text{sig} = 0.113 > 0.05$ ).

**Conclusiones.** La hoja de maíz tratada es el coadyuvante con mejor propiedad fagoestimulante frente a los agentes ensayados, por su compatibilidad con *Bacillus thuringiensis biovar kurstaki* (b) y por su mejor capacidad fagoestimulante sobre *Spodoptera frugiperda*.

### TLP-381. Eliminação da interferência do imidazol na quantificação de proteínas totais pelo método de bca a través da sua precipitação com acetona

Jorge Gonzalo Farias A.\*, Adalberto Pessoa Junior\*, Cesar Andres Diaz A.\*, Juan Carlos Flores S.\*, Daniel Francisco Weinacker P.\*

\*Universidade de Sao Paulo, Brasil.

**Introdução.** Atualmente, há muitos métodos disponíveis determinação de proteínas totais em solução. Alguns métodos são: biuret, de lowry, do ácido

bicinchonínico (BCA), teste coomassie blue g-250 dye-binding, e o método de ouro coloidal. Geralmente esses métodos determinam-se através de espectrofotometria, para saber a concentração proteica de uma solução problema. O imidazol é amplamente utilizado na purificação de proteínas por cromatografia de afinidade por metais (IMAC). No entanto, a metodologia de bca é incompatível com imidazol 50 mmol.l-1, sendo isso o mais grande problema na quantificação de amostras submetidas a esse processo. Objetivo. Neste trabalho descrevemos uma maneira de reduzir a interferência do imidazol na quantificação de proteínas totais pelo método de bca, utilizando como fase anterior, o método de precipitação por adição de acetona.

**Materiais e métodos.** Foi determinada a interferência do imidazol (40, 150, 500 mmol.l-1) na quantificação de proteínas totais, pelo uso de albumina de soro bovino (BSA) como proteína padrão, em 5 concentrações (200, 400, 600, 800, 1000 µg/mL), e a taxa de recuperação de proteínas totais em presença de imidazol 150 mmol.l-1, usando uma fase anterior de precipitação com diferentes volumes de acetona (2,5; 3,0 e 3,5 volumes por cada um volumen de amostra).

**Resultados.** Foi gerada uma curva para o cálculo da porcentagem de recuperação de proteínas totais na faixa de 200-1000 µg/mL. As melhores porcentagens de recuperação foram obtidos pelo uso de 3,5 volumes de acetona, sendo 89,1% a maior porcentagem de recuperação para amostra contendo 1000 µg/mL de BSA.

**Conclusões.** O método desenvolvido é útil para quantificação pelo método de bca em amostras contendo imidazol 150 mm. Essa metodologia poderia ser utilizada para quantificação de proteínas totais em amostras de origem biotecnológico purificados por IMAC.

### TLP-382. Producción de biosurfactantes a partir de residuos agroindustriales utilizando *Bacillus subtilis*

Maria Angélica Castillo C.\*, David Caballero T.\*, Viviana Sánchez T.\*, Julio Andrés Pedraza A.\*

\*Universidad Industrial De Santander Colombia.

**Introducción.** Los biosurfactantes son moléculas anfipáticas de origen microbiano que reducen la tensión interfacial entre líquidos inmiscibles. Son una alternativa ambientalmente amigable para la industria del petróleo, con posibles aplicaciones en el recobro, transporte, limpieza de equipos y biorremediación. Se ha reportado la síntesis de biosurfactantes a escala laboratorio por cepas de *Bacillus subtilis*. Para que se pueda dar la producción industrial de biosurfactantes se requiere emplear materias primas de bajo costo y lograr que los biosurfactantes tengan un desempeño similar al de los biosurfactantes sintéticos empleados en la industria del petróleo para reducir la tensión superficial del sistema hidrocarburo-agua. Objetivo general: producir y caracterizar biosurfactantes empleando *Bacillus subtilis* y residuos agroindustriales (cáscara de piña, lacto suero y mucilago de café) como fuente de carbono.

**Materiales y métodos.** *Bacillus subtilis* se cultivó a 30°C por 72 h empleando residuos agroindustriales como fuente de carbono con una concentración de azúcares reductores totales de 5 g/l. La actividad del biosurfactante secretado en se evaluó cualitativamente con el método del colapso de la gota empleando aceite de motor. El biosurfactante producido en cada medio se precipitó con 3 m HCL y se sometió a extracción con cloroformo-metanol. Para su caracterización se determinó el índice de emulsificación de 24 h utilizando diferentes hidrocarburos y se comparó su actividad con dos surfactantes químicos utilizados en la industria petrolera.

**Resultados.** El test del colapso de la gota de aceite determinó la presencia de biosurfactantes en los 3 sustratos utilizados. Aunque con el suero de leche se produce menor cantidad posterior a la extracción, con este medio se observó la mayor actividad surfactante.

**Conclusiones.** La cepa de *Bacillus subtilis* utilizada es capaz de producir biosurfactantes a partir de los residuos agroindustriales evaluados. Los metabolitos son capaces de formar emulsiones estables (agua en aceite) con heptano.

### TLP-383. Modelo de predicción microbiológica de *Bacillus cereus* para producción de leche en polvo

Nestor Enrique Caicedo S.\*

\*Universidad Autónoma Del Caribe, Colombia.

**Introducción.** Este trabajo se enfoca en el comportamiento del *Bacillus cereus* presente en leche en polvo, ilustrado con la base de datos del área de calidad de una línea de producción, utilizando la modelación estadística, apoyada en la construcción de redes neuronales artificiales.

2. Objetivos 1. Estimar probabilidades de conformidad de producto con la predicción microbiológica. 2. Modelar ciclos de vida de leche en polvo reconstituida, enfocado en aspectos fisicoquímicos y microbiológicos (*Bacillus cereus*) a través del modelo arrhenius. 3. Construir redes neuronales artificiales, para pronosticar comportamientos de productos conformes

**Materiales y métodos.** Tipo de estudio: estudio de carácter descriptivo y explicativo, explicando relaciones causa -efecto, mediante investigaciones postfacto versus investigación experimental. Método: se utilizó un enfoque analítico.

**Resultados.** La vida útil estimada para este producto a 4°C fue 22 días, con margen de seguridad de vida útil de 18 a 20 días a 4°C; con la aproximación de monod-hinshelwood la vida útil se prolonga a 45 días.

**Conclusiones.** Los aspectos fisicoquímicos, no presentan correlación. La humedad fue el aspecto con mayor incidencia sobre los resultados. La red neuronal fue capaz prediciendo productos conformes con 98% de exactitud, y baja certidumbre para predecir productos no conformes por baja cantidad de productos no conformes. El ciclo de vida útil de la leche una vez reconstituida, es de 19 días con temperaturas de refrigeración de 4°C, en contraste a 1 día con temperaturas de 40°C, es decir, el ciclo de vida útil es inversamente proporcional a la temperatura de conservación.

### TLP-384. Potential fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* strains the fermentation in mango pulp

Cosme Barbosa\*, Elaine Cristina Costa\*, Leticia Mendonça A.\*, Inayara Cristina Alves L.\*, Evelyn De Sousa Oliveira L.

\*Universidade Federal De Minas Gerais, Brasil.

**Introduction.** Beverages fermented of fruits are products promising because of acceptance in consumer research for contribute with the losses reduction of post-harvest of perishable fruits. The study aimed to evaluate and compare the laboratory-scale fermentation performance of 8 strains of *S. cerevisiae* to fermentation of mango pulp.

**Materials and methods.** The testes were performed in triplicate in erlenmeyer flasks of 250 mL containing 100 mL of must (18° brix) inoculated with 10 mL of the suspension yeast cells (108 cells). The flasks were incubated at 30 ± 2°C for 24 h. Were analyzed the concentration of total reducing sugars (TRS), alcohol content (° gl), total titratable acidity (TTA), density and pH. To determine the kinetics of fermentation parameters were calculated: ethanol yield (%), yeast efficiency, productivity (g. L-1 h-1). The conversion factor of the substrate in product (y P/S), rate of substrate consumption (g. H-1) and conversion rate art (%). The data were analyzed by univariate (anova) using the multiple comparison of means by tukey test at 5%.

**Results.** Fermentation carried out with yeast from the commercial pressed yeast differed from strains of *S. cerevisiae* analyzed with higher rates for ethanol (5.81 g. L-1), ethanol yield (70.20 %), efficiency (92.90 %), ethanol productivity (5.93 g. L-1. H-1), and conversion of art (78.60 %) and consumption rate (0.510 g. H - 1) at a significance level of 5%.

**Conclusions.** The others strains in the present study had low fermentation performance when inoculated into mango pulp and do not address the selection criteria for fermentative cultures, such as productivity, efficiency, and ethanol yield ethanol. From the results it is observed that the yeast baking pressed trade shows greater adaptability in the pulp mango. Acknowledgement s: fapemig, capes and UFMG.

### TLP-385. Evaluación preliminar de la población bacteriana benéfica asociada a diferentes estadios de tilapia roja

Luz Adriana Gutiérrez R.\*, Carlos Arturo David R.\*, Ricardo García N.\*

\*Corporación Universitaria Lasallista, Colombia.

**Introducción.** La microbiología intestinal de los peces, es un tema aun explorado y podría resolver grandes problemática dentro de la dinámica nutricional de la acuicultura. La especie acuícola tilapia roja (*Oreochromis spp.*), ha sido uno de los organismos más estudiados, sin embargo existen muy pocos reportes de la ecología intestinal de la misma. En el siguiente proyecto se aislaron del intestino de la especie *Oreochromis spp.*, algunos microorganismos benéficos, susceptibles a caracterizarse como probióticos.

**Materiales y métodos.** Para su efecto se muestrearon animales en diferentes estadios: en estado postlarval, las muestras se maceraban y se llevaban

a diluciones de 10<sup>-2</sup>, inoculando 0,1 mL de la solución en agar MRS, incubándose en anaerobiosis a 37°/48 h, para la determinación de la población esporulada, la dilución 10<sup>-1</sup> se calentaba a 80°C/10 minutos y se inoculaba en 0,1 mL en agar mossel, posteriormente a este tiempo se contaban y se identificaban las colonias morfológicamente. Para las poblaciones de alevinos y juveniles, el aislamiento de los microorganismos se realizaban directamente de y tejido intestinal, el cual se lavaba varias veces con solución salina estéril, continuando con el mismo protocolo anterior.

**Resultados.** Los recuentos más altos de esporulados 1000 UFC/mL, se encontraban en estadio postlarval, mientras la población de bacterias lácticas solo fue de 1 UFC, en todas las 7 muestras postlarvales; en tanto que los otros estadios mostraron recuentos más altos de bacterias lácticas y disminución de esporulados; de todos los aislamientos realizados solo 10 aislamientos han sido susceptibles para caracterizarse como probióticos.

**Conclusiones.** Es probable que estos hallazgos refieran la importancia de los microorganismos en los procesos de desdoblamiento de alimentos como factor colaborativo en las primeras etapas del desarrollo de tilapia, mientras que va adquiriendo autonomía digestiva; es posible que esta población bacteriana corresponda a poblaciones transitorias y que cada etapa tenga un sistema ecológico microbiano acompañamiento diferente.

### TLP-386. Atividade antagonista de bactérias ácido láticas com perfil probiótico isoladas de queijos regionais contra *Listeria monocytogenes*

Claudio Eduardo Dos Santos C.\* , Guilherme Da Silva D.\*  
Juliana De Lima M.\* , Graciele Daiana Funck\* ,  
Ana Rita Carboni R.\* , Ângela Maria Fiorentini\*

\*Universidade Federal De Pelotas - UFPEL, Brasil.

**Introdução.** As bactérias ácido láticas (BAL) são micro-organismos importantes tanto na indústria de alimentos quanto em saúde pública, por apresentarem características tecnológicas, probióticas e bioconservadoras. Produzem ácidos orgânicos e outros metabólitos capazes de inibir bactérias deteriorantes e patogênicas. Um importante patógeno, frequentemente transmitido pelos alimentos ao homem é, *L. monocytogenes*, causador de listeriose. Objetivo geral. Isolar e caracterizar bal, com atividade antagonista e perfil probiótico, de queijos regionais comercializados no sul do Brasil.

**Materiais e métodos.** Foram pesadas 25 g de cada amostra e diluídas em 225 mL de água peptonada (AP) a 0,1%. Após foi realizado diluições decimais utilizando ap a 0,1%. Posteriormente, cada diluição foi semeada por superfície em ágar de man rogosa e sharpe (MRS) e incubadas por 72 h a 37°C em anaerobiose. Foram escolhidas aleatoriamente 40 colônias características de bal para serem avaliadas quanto à morfologia, coloração de gram e catalase. Após, os isolados identificados como cocos ou bacilos Gram positivos e catalase negativa, foram avaliados frente a fatores tecnológicos simulados *in vitro*, onde foi utilizado caldo mrs modificado com NaCl a 3% e 9%, pH a 3,0 e 4,5, sais biliares a 0,3 e 1%. Para os isolados resistentes a todos fatores tecnológicos foi verificado a atividade antagonista das bal pela técnica spot-on-the-lawn frente a *L. monocytogenes*.

**Resultados.** Os resultados demonstraram que 35% dos isolados foram resistentes aos fatores tecnológicos e desses 100% apresentaram atividade antagonista contra *L. monocytogenes*.

**Conclusões.** Pode-se concluir que é possível isolar bal com atividade antagonista e perfil probiótico a partir de queijos regionais. Para posterior aplicação em alimentos será necessária a identificação genotípica.

### TLP-387. Clavulanate partition in two phase systems consisting of polyethylene glycol and polyacrylic acid in the presence of sodium chloride

Bruno Ubertino R.\* , Tatiana Souza P.\* , Attilio Converti\* , Ricardo Pinheiro De Souza O.\* , Sabrina Da Silva S.\* , Adalberto Pessoa J.\*

\*University Of São Paulo Brasil.

**Introduction.** Feasibility of drugs industrial production significantly depends on separation and purification techniques. Two-aqueous-phase-systems (ATPS) are proposed as an alternative to purification, because they allow selectively partitioning biomolecules, with high yield and favorable cost-benefit ratio, minimizing the activity loss. Aim of this

work was to separate clavulanate (CA) by liquid-liquid extraction in atps applying an aqueous polymeric system composed of polyethylene-glycol (PEG) and sodium polyacrylate (NAPA) in the presence of NaCl.

**Materials and methods.** ATPS were prepared in 15 mL-graduated test tubes. NAPA, PEG, NaCl and ca solutions were prepared in mcilvaine buffer and stirred overnight at 7 rpm. After 300 mg/mL c addition, systems were mixed again in vortex for 30 s, transferred to a bath at 25°C and kept at rest for 60 min for separation. After achievement of phase equilibrium, samples of top and bottom phases were collected. For each system a blank was made where ca was replaced by water. Ca concentration was determined colorimetrically at 311 nm after reaction with imidazole.

**Results.** Different ATPS compositions were tested at variable peg molar masses (MM) and concentrations (C) and 8000 g/mol MMNAPA. The best ca extraction point, in the presence of NaCl, was mmpg of 400 g/mol, CPEG of 35% (w/w) and CNAPA of 10% (w/w). Under these conditions, ca partitioned with partition coefficient of 11.96, yield in the top phase of 80.04%, material balance of 90.2% and volumetric ratio of 0.66. CA preferred the top phase likely because of a large difference in the electrostatic charge between phases (excess positive charge in the top phase and negative charge in the bottom one) and a volume exclusion effect owing to a mnnapa much higher than that of peg.

**Conclusions.** These results suggest that ca may be successfully extracted by PEG/NAPA NaCl ATPS.

### TLP-388. Identificación de enzimas auxiliares para la degradación enzimática de paja de trigo

Oriana Salazar\* , Cynthia Sanhueza\* ,  
Javier Soto-Aguilar\* , Juan Morgado\*

\*Centre For Biotechnology And Bioengineering Facultad De Ciencias Físicas Y Matemáticas Universidad De Chile.

**Introducción.** En la producción de bioetanol de segunda generación, la hidrólisis de celulosa se realiza por medio de celulasas. La dificultad que presenta la biomasa vegetal para ser degradada obliga a incluir altas cargas enzimáticas en los reactores, lo que encarece el proceso. Una forma de incrementar el rendimiento es mediante el uso de enzimas auxiliares, las que actuando en forma sinérgica incrementan la degradación de la lignocelulosa. Objetivo caracterizar el efecto de celulasas, xilanasas y manooxigenasas líticas de polisacáridos (LPMO) usadas en conjunto en la degradación de paja de trigo.

**Materiales y métodos.** Xilanasas y LPMOS se obtuvieron desde hongos de pudrición de la madera cultivados en paja de trigo. Se determinó la identidad de los péptidos producidos por medio de espectrometría de masa. Los genes se identificaron mediante transcripción reversa y PCR. Las proteínas se expresaron en forma heteróloga en *Pichia pastoris*. La actividad hidrolítica se evaluó por medición de azúcares reductores producidos desde la biomasa.

**Resultados.** Los genes identificados desde el hongo *Gloeophyllum trabeum* codifican para una xilanasas de la familia 10 de las glicosil hidrolasas y dos LPMOS. Las proteínas producidas en forma recombinante se combinaron con celulosa comercial para evaluar la actividad hidrolítica sobre trigo y compararla con aquella de las enzimas usadas individualmente. Los resultados indican que las proteínas en combinación generan un aumento de la actividad degradativa sobre la paja de trigo. Actualmente se desarrollan experimentos para identificar las proporciones de cada enzima en una mezcla óptima para la mayor degradación de la paja de trigo.

**Conclusiones.** Las enzimas xilanasas y LPMOS de *G. trabeum* exhiben el comportamiento característico observado en enzimas auxiliares en la degradación de celulosa, cooperando en forma sinérgica con enzimas celulolíticas. Agradecimientos a proyecto fondecyt 1121088 y al centre for biotechnology and bioengineering FB-0.

### TLP-389. Comparison of different methods for extraction of lipids from *Aspergillus* spp.

Nairane Rosa\* , Jaceline Lima\* , Roberta Reis\* , Adriana Souza\* ,  
Grayce Silva\* , Paulo Silva\* , Galba Takaki\* , Kaoru Okada\*

\*Universidade Federal De Pernambuco, Brasil.

**Introduction.** Studies have suggested that some filamentous fungi convert carbohydrates and other nutrients in lipids and accumulate them inside their cells in percentage above 20% of their biomass, for this reason are considered oleaginous micro-organisms. This suggests that



may have potential for obtaining biotechnological products. Given this extraction of lipids is an important determination and its methodology can strongly influence the final quality of the lipid fraction. This work aims a comparative study of methods for extraction of total lipids using *Aspergillus species* cultured in czapek.

**Materials and methods.** Growth on pda for 96 h was performed using 107 spores/mL solution. The czapek medium was used for lipids production. Erlenmeyer flasks with 100 mL of the culture, were kept under agitation of 150 rpm, at 28°C for 96 h. The biomass was filtered, lyophilized and subjected to total lipid extraction process using organic solvents and were quantified gravimetrically.

**Results.** In both methods the results of total lipids reached above 20% showing whether oleaginous micro-organisms. In bligh & dyer(1959) method *Aspergillus parasiticus* showed 27.5%; *Aspergillus flavus* 32.5%, while the method described by manocha et al. (1980), *Aspergillus parasiticus* showed 44.2% and 37.3% *Aspergillus flavus* total lipids from the biomass.

**Conclusions.** The results showed that the methods used for extraction of lipids showed a good performance in both methods, demonstrating that the *Aspergillus species* are *Oleaginous*. But the extraction method described by manocha et al. (1980) showed higher percentage of lipids, making it a more effective method of extracting total lipids.

### TLP-390. Starch-halloysite antimicrobial nanocomposites prepared by extrusion method

Stela Maris Meister Meira\*, Gislene Zehetmeyer\*, Joice Maria Scheibel\*, Júlia Werner\*, Adriano Brandelli\*

\*Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul, Brasil.

**Introduction.** Within the scope of natural food preservation, the application of antimicrobial peptides, especially nisin, in bioactive packaging films has received great attention. To address the environmental issues, reducing packaging waste has catalyzed the exploration of new bio-based packaging materials. Starch has been proved to be one of the most promising biodegradable polymers. The incorporation of nanofillers, such as halloysite, is interesting to improve properties of starch films. Therefore, the aim of this investigation was to evaluate the antimicrobial activity of starch-halloysite nanocomposite films containing nisin.

**Materials and methods.** Samples were produced by extrusion method in two steps. At first, 75 wt% corn starch, 25 wt% glycerol and required amount of halloysite (3 and 6 wt%) and nisin (2 and 6 wt%) were physically blended at room temperature. Then, these mixtures were processed in a twin-screw extruder. After pelletizing, all materials were submitted to another extrusion step. The resulting films were tested for antimicrobial activity using the inhibition zone assay in skimmed milk agar to simulate a solid food. Pieces were cut from films, placed on agar plates and covered with the indicator strains. Petri dishes were stored at 4°C during 24 h to initiate nisin desorption and after incubated at 37°C for 24 h.

**Results.** The incorporation of nisin into nanocomposites resulted in active packaging films with visible inhibition zones against the indicator strains *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Staphylococcus aureus* ATCC 1901 and *Clostridium perfringens* ATCC 3624, increasing as higher amounts of nisin were added. Nanocomposites were not effective against *Bacillus cereus* ATCC 14579. As expected, films without nisin had no antimicrobial activity.

**Conclusions.** These results indicate that nisin presented in the materials displayed antimicrobial properties against the Gram-positive bacteria in skimmed milk agar, revealing a great potential in antimicrobial food packaging.

### TLP-391. *Enterococcus faecium* 341: estudo do cultivo celular para produção de biomassa

Graciele Daiana Funck\*, Juliana De Lima M.\*, Guilherme Da Silva D.\*, Ana Rita Carbo\*, Zni Ritter\*, Cláudio Eduardo Dos Santos C.\*, Vera Maria Klajn\*, Wladimir Padilha Da Silva\*, Ângela Maria Fiore\*

\*Universidade Federal De Pelotas/UFPEL.  
Instituto Federal Farroupilha, Brasil.

**Introdução.** *Enterococcus faecium* é uma bactéria ácido-lática (BAL), faz parte da microbiota natural de diversos alimentos fermentados, com capacidade de produção de bacteriocinas, podendo ser empregada pela indústria de alimentos, na bioconservação. É capaz de crescer em condições ambientais adversas, como baixo pH e presença de sais biliares.

Características que fazem desta bactéria uma boa cultura para aplicação na indústria de alimentos como iniciadora e probiótica. É desejável, para um processo economicamente viável de produção industrial de biomassa, isolar linhagens que fermentam em curtos períodos de tempo, ou seja, com elevada velocidade de crescimento. *E. faecium* é uma bactéria não patogênica, com um tempo de geração de 19 minutos, sendo assim, com reprodução mais rápida, seu efeito na remoção da microbiota patogênica nos intestinos, será mais efetivo. Objetivo geral. Estudar o processo fermentativo para obtenção de biomassa de *Enterococcus faecium* 341 isolado de leite in natura do oeste de santa catarina/brasil, anteriormente identificado e caracterizado como produtor de bacteriocinas.

**Materiais e métodos.** Foram adicionados 2% de inoculo da bactéria cultivada por 24 h a 30°C em 100 mL de caldo mrs em pH 6,5 e posterior incubação em incubadora com agitador orbital a 100 oscilações/minuto a 30°C. Foram coletadas amostras de hora em hora durante 24 h e realizada a contagem das células viáveis a partir de diluições seriadas em ágar mrs e leitura da densidade ótica (DO) em espectrofotômetro a 620 nm.

**Resultados.** O micro-organismo permaneceu durante 4 h na fase de latência, atingindo o máximo de crescimento após 13 h de incubação, com contagem de células viáveis de 9,5 log UFC.mL<sup>-1</sup> e do de 0,15 de absorbância.

**Conclusões.** Considerase adequada produção celular, porém longo período de tempo. Mais estudos serão necessários para otimização do processo, uma vez que, a fermentação é influenciada pela composição do meio, potencial de oxirredução, pH, temperatura e metabólitos.

### TLP-392. Modificación de *Enterobacter aerogenes* mediante ingeniería genética: análisis para la producción de hidrógeno

Juan Morgado\*, Oriana Salazar\*

\*Centre For Biochemical Engineering And Biotechnology, Department Of Chemical Engineering And Biotechnology, University Of Chile, Chile.

**Introducción.** *Enterobacter aerogenes* genera H<sub>2</sub> a través de: i) la vía del formato, cuya enzima principal encargada se encuentra codificada en el operón HYC y posee un rendimiento teórico de 2 mol de H<sub>2</sub>/por mol de sustrato y ii) la vía del NADH con un rendimiento teórico de 4 mol de H<sub>2</sub>/por mol de sustrato. La producción de H<sub>2</sub> por estas vías son aún bajos debido a la formación de metabolitos secundarios que disminuyen la disponibilidad de intermediarios reducidos. En consecuencia, la fermentación no es considerada económicamente eficiente. Objetivo general. Estudiar las vías metabólicas de *Enterobacter aerogenes* involucradas en la producción de H<sub>2</sub>.

**Materiales y métodos.** Para evaluar el papel de las vías metabólicas en *E. aerogenes*, se utilizó las mutantes HYC::CAM, la mutante en la Lactato deshidrogenasa LDHA::CAM y la doble mutante HYC::FRT/LDHA::CAM, realizadas por intercambio alélico descrito por datsenko y wanner (2000) y las respectivas cepas complementadas. Se evaluó crecimiento y producción de metabolitos secundarios en cultivos batch con diferentes medios.

**Resultados.** En cultivos la cepa LDHA::CAM mostró mayor producción de H<sub>2</sub> que la cepa parental, mientras que la cepa HYC::CAM produjo menos H<sub>2</sub> que la cepa parental y la cepa LDHA::CAM. Los medios que promueven el aumento del poder reductor presentaron mayores valores de H<sub>2</sub> en la cepa LDHA::CAM, no así en la cepa HYC::CAM.

**Conclusiones.** Los resultados sugieren que a pesar de los rendimientos teóricos esperados, la mayor parte de la obtención de H<sub>2</sub> se origina por la vía del formato. Junto con lo anterior, el aumento en la producción de otros metabolitos celulares va en perjuicio de la generación de H<sub>2</sub>. Sin embargo, el potencial contenido en la vía del NADH promueve un conocimiento acabado del proceso bioquímico y metabólico de la célula, con gran potencial de generación a gran escala.

### TLP-393. Viabilidade celular de *Xanthomonas arboricola* PV pruni liofilizada para a produção de xantana pruni

Joyce Moura Borowski\*, Patrícia Diaz De Oliveira\*, Angelita Da Silveira Moreira\*, Claire Tondo Vendruscolo\*

\*Universidade Federal De Pelotas - Centro De Desenolvimento Tecnológico - Eng. De Materiais Brasil.

**Introdução.** Bactérias do gênero *Xanthomonas*, especialmente a espécie campestris, são utilizadas industrialmente para produção de

xantana, um polissacarídeo utilizado em diversos segmentos industriais como espessante, gelificante e estabilizante. Estudos comprovam que outras espécies e patovares possuem capacidade para produção do biopolímero. O patovar pruni está sendo testado, desde 1996, por pesquisadores do cdtec-ufpel, quanto a sua produtividade e qualidade das xantanas sintetizadas pelas diferentes cepas, tendo sido geradas patentes nacional (pi0406309-0) e internacional (wo2006047845). A preservação da viabilidade e capacidade produtiva das bactérias pelo máximo de tempo constitui uma das prioridades dessa pesquisa. A técnica de liofilização constitui um método convencional de preservação amplamente utilizado para *Xanthomonas*, que são consideradas bastante insustentáveis durante a preservação por repiques mensais. Objetivou-se determinar a viabilidade celular bem como a capacidade produtiva da cepa 24 de *X. arboricola* PV pruni liofilizada e armazenada congelada durante 12 anos.

**Materiais e métodos.** Suspensão contendo  $1,2 \times 10^9$  UFC.mL<sup>-1</sup> da cepa 24, feita a partir de inóculo crescido em meio ym e diluída 60:40 (v/v) em crioprotetor complexo, foi liofilizada e armazenada por 12 anos a -8°C. Avaliou-se a viabilidade celular por reidratação em ym seguida de diluições seriadas e plaqueamento. Produziu-se inóculo a partir de uma colônia isolada das células recuperadas e fez-se a produção da xantana de acordo com a patente internacional.

**Resultados.** A técnica de liofilização manteve a viabilidade das culturas, com uma redução de 108 para 107 UFC.mL<sup>-1</sup>, perfazendo 14,5% de sobrevivência, valor superior ao descrito na literatura clássica para armazenamento durante 3 anos. A produção de polissacarídeo pela bactéria recuperada (5,8 g.l<sup>-1</sup>) foi semelhante à produção obtida há 12 anos (5,6 g.l<sup>-1</sup>).

**Conclusões.** A liofilização manteve eficazmente a viabilidade celular e a capacidade de produção da cepa 24 de *X. arboricola* PV pruni por 12 anos.

#### TLP-394. Avaliação microbiológica em iogurtes de morango comercializados no município de Tucuruí-PA

Jhuly Themys Alves De S.\* , Bruno Brito B.\* , Rosinei Silva S.\* ,  
Meiko Suely Veloso A.\* , Luciana Mendes F.\*

\*Instituto Federal De Educação, Ciência E  
Tecnologia – IFPA/Campus Tucuruí, Brasil.

**Introdução.** O iogurte é um produto lácteo que deve manter sua carga de microorganismos apropriada para que não venha causar malefícios a saúde pública e, sendo derivado do leite, o mesmo requer condições e cuidados iniciados desde sua produção à comercialização, assegurando assim a qualidade organoléptica tanto quanto a sanitária do mesmo. Neste sentido, a presente pesquisa teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica do iogurte produzido e/ou comercializado na cidade de Tucuruí-PA.

**Materiais e métodos.** Foram coletadas doze amostras de três marcas diferentes, que foram submetidas à análise microbiológica para pesquisa dos seguintes parâmetros: bolores e leveduras, coliformes totais e fecais/termotolerantes, *Estafilococos* e *Mesófilos aeróbios*.

**Resultados.** A pesquisa de coliformes totais revelou que seis (50%) das doze amostras analisadas apresentaram contaminação com o resultado variando de  $3,0$  a  $1,6 \times 10^2$  NMP/g. Apenas seis amostras de coliformes termotolerantes se mantiveram dentro do limite estabelecido pela RDC. Para mesófilos, todas as amostras testadas encontraram-se em conformidade com a referida legislação. A contagem da população de bolores e leveduras ultrapassou o limite estabelecido pela legislação de ( $\leq 10^3$  UFC/g) em seis amostras analisadas (50%), apresentando valores entre  $1,9 \times 10^3$  a  $7,08 \times 10^4$  UFC/g. Para pesquisa de *Estafilococo*, dez amostras (83,33%) apresentaram valores que oscilaram de  $2 \times 10^2$  a  $1,2 \times 10^3$  UFC/g, ultrapassando o limite estabelecido pela legislação (100 UFC/g). Apenas duas das amostras testadas (16,6%) apresentaram-se dentro dos padrões requeridos na contagem deste tipo de microorganismo, tendo ausência de colônias UFC/g.

**Conclusões.** Podemos observar que a maioria das amostras analisadas encontrou-se fora do que é exigido pela legislação para um ou mais parâmetros analisados, portanto, sugerindo práticas sanitárias insatisfatórias em alguma das fases da produção até a comercialização do produto.

#### TLP-395. Efeito do tween 80 sobre o crescimento de diferentes isolados de *Lactobacilos*

Amanda Mesquita\* , Lucas Pacheco\* ,  
Gustavo Dimech\* , Eulália Ximenes\*

\*Universidade Federal De Pernambuco (Ufpe) Brasil.

**Introdução.** O tween 80 é um surfactante derivado do polietoxilado sorbitano e ácido oleico. Ele é acrescentado ao meio de crescimento dos lactobacilos para aumentar a sobrevivência dos mesmos. Esse surfactante é incorporado à membrana celular de lactobacilos e convertido pela ciclopropano sintetase em ácido dihidroesterculínico, ácido graxo característico dos lactobacilos. Esse ácido graxo protege os lactobacilos contra os efeitos adversos do ambiente, como baixas temperaturas no processo do congelamento, baixo pH e promovem um aumento na tolerância à bile e adesão ao epitélio intestinal. Avaliar o efeito do tween 80 sobre o crescimento de dez cepas de lactobacilos em meio de cultura de man rogosa e sharp (MRS).

**Materiais e métodos.** O efeito do tween 80 nas concentrações de 0,5, 0,25 e 0,125% sobre o crescimento de dez *Lactobacilos* foi avaliado por 72 h de incubação. Este crescimento foi avaliado através da enumeração de células viáveis (UFC/mL). Uma cultura controle, sem tween 80, foi adicionada ao estudo.

**Resultados.** *L. rhamnosus* ATCC 9595 exibiu a maior velocidade de crescimento ( $0,2 \pm 0,01$  h<sup>-1</sup>), quando comparada com as demais cepas. Para os outros *Lactobacilos*, essa velocidade variou entre  $0,15 \pm 0,00$  h<sup>-1</sup> a  $0,17 \pm 0,00$  h<sup>-1</sup>. Conseqüentemente, esse *Lactobacilo* apresentou o menor tempo de geração  $1,38 \pm 0,04$  h. O maior tempo de geração observado foi  $1,95 \pm 0,00$  para LFBM 09. Não foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) nos parâmetros de crescimento (taxa de crescimento e tempo de geração) dos *Lactobacilos* em meio MRS contendo várias concentrações de tween 80, quando estes foram comparados entre si.

**Conclusões.** O crescimento de lactobacilos não foi alterado pelo tween 80 incorporado ao meio de cultura MRS.

#### TLP-396. Metagenomic analysis of microbiome structure and functions in sheep rumen

Maria Carolina Pezzo K.\* , Emiliania Manesco R.\* ,  
Rodrigo Mendes\*

\*Luiz De Queiroz College Of Agriculture (ESALQ), University Of São Paulo,  
Piracicaba SP, Brazil And Laboratory Of Environmental Microbiology,  
Embrapa Environment, Jaguariúna SP, Brazil.

**Introduction.** Plant biomass is a resource available at large scale with important application for second-generation biofuel production. The enzymes costs associated with their low efficiency represent a big barrier for biofuel production economically viable from biomass. However, biomass degrading enzyme recovery from naturally enriched environments, such as the rumen, offers a promising strategy for identification of new enzymes with higher lignocellulosic activity. Search for biomass degrading enzymes in the rumen of sheep fed with a diet amended with sugarcane bagasse in comparison with control treatment.

**Materials and methods.** Sheep were fed for 60 days with a diet including sugarcane bagasse or without bagasse (control) under experimental conditions considering three replicates. Metagenomic DNA was extracted from the solid contents of rumen followed by sequencing using miseq illumina platform. The illumina sequence data was quality filtered and assembled according to the mg-rast pipeline. The scaffolds were subject gene prediction using mg-rast and comparative analysis were performed using stamp.

**Results.** The bacteria domain represented CA. 97% of reads considering the total community. Bacteroidetes phylum was the most abundant (~48%), followed by firmicutes (~33%) and proteobacteria (6%). Pcoa analyses showed no significant difference between microbiome structures across treatments, nevertheless, samples from different treatments clustered when the functional profile was considered. Targeting specific hydrolase enzymes in the metagenomes revealed that beta-xylosidase, family gh43 ( $p=0.023$ ) and diadenosine tetraphosphate (ap4a) hydrolase ( $p=0.047$ ) are significantly more abundant in the animals fed with a diet amended with sugarcane bagasse.

**Conclusions.** Considering the sheep rumen as an untapped source of potential biomass degrading enzymes using a diet amended with sugarcane bagasse is possible to increase the abundance of hydrolases genes.

### TLP-397. Qualidade pós-colheita de uva 'itália' revestida de goma xantana e quitosana armazenada a temperatura ambiente

Maria Morais Lima\*, Angelita Da Silveira Moreira\*, Gabriela Niemeyer Reissig\*, Lucia Cesar Carneiro\*, Vanessa Rodrigues Duarte De S. \*, Letícia Zarnott Lages\*

\*Universidade Federal De Pelotas Brasil.

**Introdução.** A goma xantana é um polímero extraído de bactérias do gênero *Xanthomonas*, é utilizada em diversos produtos inclusive em coberturas comestíveis de frutas e hortaliças com a finalidade de melhorar a qualidade pós-colheita e estender a vida útil. Objetivo: investigar o efeito de coberturas à base de xantana pruni e quitosana na extensão da vida de prateleira de uvas Itália armazenadas à temperatura ambiente.

**Materiais e métodos.** Foram utilizadas uvas 'itália' adquiridas em frutaria da cidade de pelota-RS, glicerina (P.A.) (synth®), xantana pruni, conforme patente wo/0478452006 e quitosana Polymar®. Os frutos foram divididos em três grupos, com 10 frutos cada, destinados a três tratamentos: t1 (controle), t2 (1% de xantana) t3 (1% de quitosana). Avaliou-se: perda de massa fresca; sólidos solúveis totais-sst (°brix), utilizando refratômetro manual Instrutherm® RT-82); cor (colorímetro minolta modelo CR-400, usando sistema ciel\*a\*b\*I\*); pH e acidez titulável (IAL, 2007) durante 11 dias. Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) (assistat 7.7 beta 2014).

**Resultados.** Mediante valores dos parâmetros "l", "a" e "b", teor de sst, pH e acidez, perda de massa não observou-se variação significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os valores inicial e final em todos os tratamentos. Possivelmente, as condições ambientais como baixas temperaturas, altas umidades dificultaram o processo de polimerização das soluções filogênicas sobre as superfícies dos frutos.

**Conclusões.** Concluiu-se que no período estudado as coberturas comestíveis não contribuíram significativamente ( $p \leq 0,05$ ) na melhoria da conservação e extensão da vida útil das uvas 'Itália', porém, ao longo do armazenamento observou-se que as frutas recobertas com quitosana apresentaram menor desenvolvimento de bolores, o que torna um aspecto importante à comercialização.

### TLP-398. Rhizosphere bacterial community composition in wild and modern common bean

Stalin Wladimir Sarango F. \*, Lucas William Mendes\*, Josiane Barros Chiraramonte\*, Rodrigo Mendes\*

\*Luiz De Queiroz College Of Agriculture (Esalq), University Of São Paulo, Piracicaba SP, Brazil.

**Introduction.** Modern cultivars were obtained through breeding programs focusing on productivity increase based on selection of best vegetable phenotypic traits. This manipulation is likely to have neglected the rhizosphere microbiota's role on the agricultural production systems. In this research we studied whether wild materials of common bean are able to recruit a more diverse and abundant community of beneficial bacteria when compared with modern cultivars. Objective. Determine the rhizosphere bacterial community in a wild and modern cultivar of common bean by using cultivation-dependent approach and metagenomic sequencing.

**Materials and methods.** The common bean cultivar iac alvorada and the ancient wild mex were grown on Amazon dark earth under greenhouse conditions considering two replicates. Rhizospheric soil was collected in iac alvorada flowering stage and wild mex in the foliar renewal stage. The total DNA was extracted and followed by shotgun sequencing using illumina miseq platform. In addition, bacteria were isolated from rhizosphere on tsba, psa and ga selective medium and isolates were screened for antagonism against the soil borne pathogens *Rhizoctonia solani* (rs) and *Fusarium oxysporum* F. SP. *Phaseoli* (fo).

**Results.** Approximately 2.5 million sequences were obtained with average length of 226 bp. An average of 58% of sequences were classified into bacteria and archaea using rdp database. Proteobacteria represented the most abundant phyla (20% of sequences), followed by *Actinobacteria* (15%), *Firmicutes* (14%) and *Bacteroidetes* (12%). Pcoa analysis showed that while bulk soil and wild mex samples clustered, the iac alvorada samples did not. The frequency of bacterial antagonists isolated from wild plants was higher when compared with modern cultivar. Out of 68 bacterial isolates, six inhibited rs and five fo growth.

**Conclusions.** The preliminary sequencing data showed that rhizosphere bacterial community of wild mex is more homogeneous than in the iac alvorada cultivar suggesting a more selective recruitment by wild plants.

### TLP-399. Caracterización de los genes de la vía SREBP de la levadura carotenogénica *Xanthophyllomyces dendrorhous*

Maria Soledad Gutierrez\*, Ana Gonzalez\*, Marcelo Baeza\*, Victor Cifuentes\*, Jennifer Alcaino\*

\*Universidad de Chile, Chile.

**Introducción.** La vía SREBPS (sterol regulatory element binding proteins) es un mecanismo de regulación de la vía de síntesis de esteroides. Se compone de SREBP, un activador transcripcional unido a la membrana del retículo endoplasmático donde su dominio C-terminal interacciona con scap (SREBP cleavage activating protein). A altos niveles de esteroides, el complejo SREBP-SCAP es retenido en el retículo endoplasmático, mientras que a bajos niveles, es transportado al aparato de Golgi. Es ahí donde SREBP sufre cortes proteolíticos por las enzimas S1P y S2P que liberan el dominio n-terminal (BHLH) permitiendo su transporte al núcleo activando la transcripción de genes blanco. Esta vía está ampliamente conservada en mamíferos y recientemente se ha identificado homólogos en hongos. *X. dendrorhous* es una levadura de interés comercial por su capacidad de sintetizar carotenoides, principalmente astaxantina, y se ha determinado que cepas mutantes de ésta, que no producen ergosterol (principal esteroide en hongos), sintetizan más carotenoides. Lo anterior se relaciona con mayores niveles de transcritos de genes involucrados en la síntesis de astaxantina, sugiriendo que la vía srebp regularía la carotenogénesis en *X. dendrorhous*. Identificar y caracterizar genes de la vía SREBP en el genoma y transcriptoma de *X. dendrorhous*.

**Materiales y métodos.** Se realizó una búsqueda bioinformática en el genoma y transcriptoma de *X. dendrorhous* utilizando las herramientas clc genomics workbench 5, geneious 6, blast y orf-finder del NCBI.

**Resultados.** Se logró identificar los posibles genes SREBP, SCAP, s2p y se determinó su estructura génica. Además, se encontró la presencia de secuencias reguladoras SRE en las zonas promotoras de los genes de la vía de síntesis de carotenoides y ergosterol.

**Conclusiones.** En el genoma de *X. dendrorhous* existen genes homólogos de la vía SREBP, los que probablemente regulan la expresión de genes involucrados en la síntesis de carotenoides y de ergosterol. Financiamentos: fondecyt 11121200 e inach RG\_07-12 y becaria conicyt.

### TLP-400. Búsqueda de genes de resistencia a congelación-descongelación en *Klebsiella variicola* T29A2

Oswaldo Rodríguez-Andrade\*, Dalia Molina-Romero\*, Jessie Hernández-Canseco\*, Patricia Bernal\*, Andrés Lugo\*, Rebeca Martínez-Contreras\*, Jesús Muñoz-Rojas\*

\*Benemérita Universidad Autónoma De Puebla, Mexico.

**Introducción.** Existe una gran diversidad de bacterias y muchas de ellas son benéficas desde un punto de vista agrobiotecnológico. Sin embargo, en condiciones ambientales las poblaciones bacterianas están sometidas a situaciones de estrés; limitando su supervivencia. *Klebsiella variicola* T29A2 fue aislada de tallo de caña de azúcar, es una bacteria con potencial promotor de crecimiento en plantas y es resistente a estrés por desecación-rehidratación. El propósito de este trabajo fue la identificación de algunos genes implicados en la resistencia a congelación-descongelación en *K. variicola* T29A2.

**Materiales y métodos.** Se realizó la evaluación de 2064 mutantes a partir de una banca generada mediante la técnica de transposición al azar por minitn5. Tanto la cepa silvestre como las mutantes se sometieron a 10 ciclos consecutivos de congelación-descongelación a -20°C y se determinó la "tasa de supervivencia bacteriana" (BSR por sus siglas en inglés).

**Resultados.** A partir de estos ensayos se encontraron 15 mutantes cuya BSR disminuyó significativamente. A partir de estas mutantes sensibles se realizó extracción de ADN y se realizó la amplificación de la zona contigua a la inserción del transposón mediante PCR arbitrarias. Los productos de amplificación fueron secuenciados y comparados con las bases de datos públicas, determinándose que 2 de las mutantes sensibles se encuentran interrumpidas en genes relacionados a proteínas tran y metil transferasa.

**Conclusiones.** La identificación de los genes involucrados en la resistencia a congelación-descongelación contribuirá a entender algunos de los mecanismos moleculares involucrados en la resistencia de bacterias frente a condiciones de estrés y su aplicación en el campo agrobiotecnológico.

### TLP-401. Antagonismo de bacterias aisladas da microbiota fecal humana contra *Salmonella typhimurium* – avaliação *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo* em camundongos gnotobióticos

Mayra Galvão\*, Rafael Bastos\*, Karine Martins\*,  
Leonardo Acurcio\*, Flaviano Martins\*, Jacques Nicolli\*

\*Universidade Federal De Minas Gerais Brasil.

**Introdução.** A microbiota indígena humana desempenha funções na manutenção da saúde do hospedeiro, entre as quais a resistência à colonização por patógenos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade antagonista *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo* de bactérias isoladas da microbiota fecal dominante humana contra *Salmonella enterica typhimurium*.

**Materiais e métodos.** Quatro isolados foram selecionados a partir de ensaios de antagonismo *in vitro*: 8.2 (*Enterococcus durans*), 16.2 (*Bifidobacterium* sp.), 18.1 (*Lactobacillus* sp.) E 18.4 (*Lactobacillus* sp.). Grupos de dois camundongos gnotobióticos foram monoassociados com as bactérias selecionadas e, com cinco dias de colonização, as amostras alcançaram níveis de aproximadamente 9 log UFC/g de fezes. Após sete dias, foi realizado o desafio oral com 4 log UFC de *Salmonella*. Durante 12 dias, os níveis populacionais de salmonella e das bactérias da monoassociação foram determinados nas fezes dos camundongos pelo plaqueamento em ágar macconkey e ágar mrs acrescido de gentamicina (32 µg/mL), respectivamente.

**Resultados.** O grupo monoassociado com a amostra 18.4 morreu devido à colonização e não foi desafiado com o patógeno. No grupo controle, apenas desafiado com *Salmonella*, o patógeno atingiu níveis variando de 8,0 a 9,0 log UFC/g de fezes. Já nos grupos monoassociados com as amostras 8.2; 16.2 e 18.1, os níveis populacionais de *Salmonella* apresentaram significativas ( $p < 0,01$ ) reduções decimais de 1,35, 1,43 e 1,07 ciclos log, respectivamente, o que está de acordo com o antagonismo *in vitro*. No entanto, no ensaio *ex vivo*, apenas as fezes dos grupos 8.2 e 16.2 apresentaram atividade antagonista contra *Salmonella*.

**Conclusões.** *Enterococcus durans* 8.2; *Bifidobacterium* sp. 16.2 e *Lactobacillus* sp. 18.1 possuem atividade antagonista *in vitro* e *in vivo* contra *Salmonella*, sendo, assim, potenciais candidatos para uso como probiótico.

### TLP-402. Nova linhagem de *Lactobacillus crispatus* candidata à probiótico vaginal

Bruno Pinheiro Damasceno .\*, Carolina Maria De Araújo Dos S.\*,  
Jacques Robert Nicolli\*, Gabriel Magno De Freitas A.\*,  
Regina Maria Nardi D.\*

\*Laboratório De Ecologia E Fisiologia De Microrganismos, Departamento De Microbiologia, Instituto De Ciências Biológicas, Universidade Federal De Minas Gerais, Brasil. Laboratório De Vírus, Departamento De Microbiologia, Instituto De Ciência Brasil.

**Introdução.** Probióticos são, segundo a organização mundial da saúde, organismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefício à saúde do hospedeiro. Novas linhagens probióticas são idealmente, isoladas de indivíduos saudáveis e apresentam excelentes resultados nos testes de triagem *in vitro* e *in vivo*. Objetivo geral: obter uma nova linhagem candidata à probiótico vaginal.

**Materiais e métodos.** Diversas linhagens de *Lactobacillus* foram isoladas de mulheres sem queixa clínica ginecológica e identificadas por PCR-ardra ou sequenciamento. 7 linhagens de *L. crispatus* foram testadas quanto sua capacidade de antagonismo em dupla camada, formação de biofilme em placa de microtitulação, produção de peróxido de hidrogênio em TMB-plus e aderência à monocamada de células hela.

**Resultados.** As linhagens CRI16 e CRI19 apresentaram melhores resultados no antagonismo à patógenos vaginais, inibindo o crescimento de bactérias aeróbias e anaeróbias, Gram-positivas e negativas e *Candida albicans*. Apresentaram também, ótima capacidade de formação de biofilme e produção de peróxido de hidrogênio. O índice de adesão da linhagem cri16 à monocamada de células hela foi superior à outra candidata cri19.

**Conclusões.** O ensaio de adesão bacteriana à monocamada de células hela foi crítico para a escolha da linhagem CRI16 como nova candidata à probiótico vaginal. Esta linhagem também apresenta amplo espectro de antagonismo à patógenos vaginais, boa capacidade de formação de biofilme e produção de peróxido de hidrogênio.

### TLP-403. Produção e caracterização de biossurfactante de *Salmonella enteritidis* SE86

Eliandra Mirlei Rossi\*, Marília Kochhann\*,  
Luniele Beilke\*, Eduardo César Tondo\*

\*Universidade Do Oeste De Santa Catarina- UNOESC, Campus De São Miguel Do Oeste-SC, Laboratório De Microbiologia De Alimentos-UFRGS Brasil.

**Introdução.** Biossurfactantes são compostos anfipáticos produzidos por vários microrganismos que podem estar envolvidos na patogenicidade bacteriana. *Salmonella enteritidis* SE86 tem sido associada a surtos de doenças transmitidas por alimentos desde 1999 no rio grande do sul. Desse modo, o objetivo desse trabalho foi verificar a capacidade da produção de biossurfactante por *S. enteritidis* SE86.

**Materiais e métodos.** A bactéria foi inoculada em tampão fosfato salino na concentração de 4 logufc/mL e incubada a 36±1°C. O crescimento microbiano e índice de emulsificação foram avaliados por 120 h. Posteriormente, todos os testes utilizados para caracterização do biossurfactante foram realizados após 48 h de incubação desse microrganismo no mesmo meio de cultura a 36±1°C.

**Resultados.** Os resultados demonstraram que o maior índice de emulsificação foi de 46% com 8 logufc/mL de *S. enteritidis* SE86 após 46 h e que esse valor aumenta quando há maior concentração de células. A bactéria não produz emulsificante em ambientes com pH ácido (<6,0), desenvolvendo a capacidade de alcalinizar o meio para produzir o composto. O sobrenadante de *S. enteritidis* SE86 além de reduzir a tensão superficial do meio em 55,8 mn/m, manteve a capacidade de emulsionar após exposição a diferentes condições ambientais (pH, temperatura e salinidade). Os testes de caracterização sugerem que o biossurfactante é um composto polimérico, uma vez que possui na sua constituição a presença de aminas livres e de carboidratos.

**Conclusões.** ASSIM, os resultados permitem concluir que esse patógeno é capaz de produzir biossurfactante, o que torna este estudo, o primeiro registro científico de produção de biossurfactante por microrganismos do gênero salmonella. Ainda, pode-se concluir que essa produção somente ocorre em altas concentrações celulares e que o composto mantém sua estabilidade quando exposto a diferentes condições ambientais, o que pode contribuir para sobrevivência do patógeno.

### TLP-404. Acyl homoserine lactone affects the protein expression profile of *Salmonella enterica* serovar enteritidis

Felipe Alves De Almeida\*, Lanna Clícia Carrijo\*, Patrícia Pereira F.\*,  
Lays Fernandes Melo M.\*, Maria Cristina Baracat P.\*, Uelinton Manoel Pinto\*, Leandro Licursi De Oliveira\*, Maria Cristina Dantas\*

\*Universidade Federal De Viçosa Brasil.

**Introduction.** Quorum sensing (QS) is a communication mechanism employed by microbial cells by means of signaling molecules, leading to differential expression of genes in response to changes to the population density. Studies have shown that qs regulates a wide variety of phenotypes, including the biofilm formation and expression of virulence genes. The signaling molecules used by bacteria are called autoinducers (AIs). Even though salmonella does not produce ai-1, also known as acyl homoserine lactone (AHL), it responds to AHLs produced by other microorganisms through an ai-1 response protein called sdiA. However, the function of sdiA gene has not established in *Salmonella*. In this work, we detected the proteins synthesized by salmonella enterica serovar enteritidis pt4 in the presence or absence of 50 nm C12-HSL under anaerobic environment.

**Materials and methods.** After 7 h of incubation in tryptic soy broth (TSB) in anaerobic conditions, proteins were extracted and separated by bidimensional electrophoresis. The gels were analyzed by image-mastertm 2D platinum 7.0 software (ge healthcare, sweden). The differentially expression of proteins were predicted on the basis of their isoelectric point and molecular masses in jvirgel 2.0 software (Jvirgel, Germany) using the data available in uniprot by the tool uniprotkb and

NCBI (national center for biotechnology information), by the tool protein for *Salmonella enteritidis* PT4.

**Results.** From the comparison gels in the absence and presence of C12-HSL 185 spots were identified, and 40 proteins were differentially expressed ( $p < 0.05$ ). In the presence of C12-HSL there was an increased synthesis of 30 proteins, with the majority related to the QS system and biofilm formation.

**Conclusions.** The results demonstrated that the presence of exogenous c12-HSL affected the metabolism of *Salmonella enteritidis* pt4 cultivated under anaerobic conditions. These results point towards a new line of investigation which could contribute to the understanding of the physiological mechanisms in *Salmonella*.

### TLP-405. Long term effects on soil microbial diversity in a savanna-like vegetation under nutrients supplementation

Maria Regina Silveira S.\* , Alinne Pereira De Castro\* ,  
Ricardo Henrique Kruger\* , Mercedes Maria Cunha Bustamante\*

\*Universidade De Brasília, Brasil.

**Introduction.** Brazilian Cerrado (Savannas of Central Brazil) is the one of world's diversity hotspot due to its biodiversity, high endemism level and rapid loss of habitats. Long-term fertilization experiment showed that nutrient addition in these nutrient-limited ecosystems had negative impacts on the diversity of woody and herbaceous plants. The aim of this work was to evaluate the long-term effects of nutrient addition and seasonality of rainfall on the soil bacterial community of a Brazilian Savanna.

**Materials and methods.** The following five treatments were compared, control (without nutrient addition), calcium, nitrogen, phosphorus, and nitrogen and phosphorus. We compared changes in the soil bacterial community structure among plots with different treatments and between wet and dry seasons. Bacterial community composition was determined by barcoded pyrosequencing of the 16s rRNA gene.

**Results.** Of the 18 phyla identified in these soils, 10 phyla (ad3, acidobacteria, actinobacteria, bacteroidetes, chloroflexi, firmicutes, planctomycetes, proteobacteria, verrucomicrobia, and wps-2) were abundant, and seven phyla (armatimonadetes, chlamydiae, elusimicrobia, gemmatimonadetes, BRC1, TM6, and TM7) were considered low-abundance. The phyla *Acidobacteria* and *Proteobacteria* and the group "unclassified bacteria" were predominant under all five treatment conditions, and the phylum Acidobacteria was the most abundant group in both seasons. Within Acidobacteria, sequences corresponding to the class solibacteres and genus *Chloracidobacteria* were identified.

**Conclusions.** Changes in the bacterial community in response to nutrient addition were related to the presence/absence of rare phyla and changes in the abundance of common phyla. These findings have implications for understanding how changes in land use affect soil microbial communities. The changes in composition of various bacterial groups could indicate some potential shifts in their ecosystems functions.

### TLP-406. Associação entre *Eucalyptus grandis* x *Acacia mangium*: o efeito da profundidade e do sistema de plantio na estrutura de comunidades bacterianas do solo

Arthur Prudêncio De Araujo Pereira\* , Pedro Avelino Maia De Andrade\* , Daniel Bini\* , Maiele Cintra Santana\* , Fernando Dini Andreote\* , Elke Jurandy Bran Nogueira Cardoso\*

\*Escola Superior De Agricultura "Luiz De Queiroz" - ESALQ/USP Brasil.

**Introdução.** Pouco se sabe sobre o efeito do sistema de plantio entre *Eucalipto* e *Acácia* na estrutura de comunidades bacterianas associadas, além do comportamento dessas comunidades em camadas superficiais e subsuperficiais do solo. O objetivo foi avaliar a influência da profundidade e do sistema de plantio adotado (puro e/ou misto) na estrutura das comunidades de bactérias do solo.

**Materiais e métodos.** Foram coletadas amostras em 10 pontos ao longo das camadas de um latossolo amarelo (0-8 m de profundidade). O DNA total foi extraído utilizando o kit de extração Powersoil®. A comunidade bacteriana foi monitorada pela técnica de PCR-DGGE, onde produtos da amplificação do gene 16s rRNA para o domínio bacteria foram

submetidos a um gradiente desnaturante GC para a obtenção do perfil das bandas da comunidade microbiana.

**Resultados.** A análise de pcoa demonstrou que o perfil de grupos bacterianos, comparados em profundidade, foram semelhantes para os tratamentos sob cultivo simples. A composição da comunidade bacteriana da superfície (0 a 1 m) tende a ser mais uniforme do que a comunidade abaixo de 1 metro. Nas comunidades dos plantios mistos ocorre maior estruturação da comunidade bacteriana nas camadas do perfil do solo. Formou-se três agrupamentos: superficial (0 a 1 m), o qual diferiu do intermediário (1 a 4 m) [rbray-curtys = 0,59] e este do mais profundo (4 a 8 m), [rbray-curtys = 0,88], havendo dissimilaridade na composição das comunidades. O sistema de plantio com *Eucalipto* puro tende a apresentar uma comunidade bacteriana específica, formando grupos isolados dos demais plantios. A comunidade bacteriana dos plantios mistos, juntamente com a monocultura da acácia, tiveram alta similaridade, formando um único agrupamento.

**Conclusões.** O consórcio de *A. mangium* e *E. grandis* influencia a composição das comunidades bacterianas ao longo do perfil, além da presença de comunidades bacterianas numerosas e ativas pelo menos até a profundidade de oito metros.

### TLP-407. Desarrollo de consorcios rizobacterianos para mejorar el crecimiento de trigo

Milko Jorquera\* , Nitza Inostroza\* , Daniela Campos\* ,  
Patricio Barra\* , Joaquin Rilling\* , Maria De La Luz Mora\*

\*Univerisdad De La Frontera, Chile.

**Introducción.** Las plantas viven en estrecha asociación con una enorme diversidad de rizobacterias que interactúan con ellas y en muchos casos puede mejorar el crecimiento de éstas. Durante los últimos años, potenciales rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) han sido aisladas desde diversos ecosistemas a lo largo de Chile. Objetivos: desarrollar y evaluar el efecto de consorcios rizobacterianos sobre el crecimiento de trigo.

**Materiales y métodos.** Consorcios rizobacterianos fueron desarrollados en base a aislados bacterianos provenientes de agro-ecosistemas (praderas y cereales) y ecosistemas (desierto, cordillera y patagonia). Ensayos en macetas fueron implementados en dos series de suelos y las semillas de trigo fueron peletizadas con los consorcios rizobacterianos. Posteriormente las macetas fueron dispuestas en cámaras de crecimiento y en invernadero. Después de 45 días, las plantas fueron cosechadas y el peso seco de la parte aérea y raíz fueron determinados. En adición, macetas con un 50% menos de riego fueron también evaluadas.

**Resultados.** En comparación a las plantas sin inocular, los resultados revelaron un incremento (548-664%) en el peso seco de las raíces de las plantas inoculadas con ambos consorcios bacterianos en la cámara de crecimiento. El incremento en el peso seco (132-188%) también fue observado en plantas con 50% menos irrigación. En invernadero, no se observó mayores crecimientos en plantas inoculadas, sin embargo, 50% menos de irrigación afectó considerablemente el crecimiento radicular (41-89% menos) de las plantas sin inocular. Este efecto negativo fue menor en plantas inoculadas (27-45%), incluyendo un caso donde se incrementó (15%) el crecimiento.

**Conclusiones.** A pesar de las diferencias entre el tipo de suelo usado y entre la cámara e invernadero, en general, los consorcios rizobacterianos presentaron promisorios resultados. Sin embargo, mayores ensayos deben ser realizados para confirmar los beneficios de los consorcios rizobacterianos con otros cereales. "agradecimientos: fondecyt No. 1120505 y No. 1141247.

### TLP-408. Exploring culturable epiphytic and endophytic prokaryote diversity in halophytes of family *Salicornioideae*

Merit del Rocío Mora-Ruiz\* , Francisca Font-Verdera\* , Carlos Díaz-Gil\* , Mercedes Urdiain\* , Gustavo Rodríguez-Valdecantos\* ,  
Bernardo González\* , Ramon Rosselló-Móra\*

\*Mediterranean Institute Of Advanced Studies (IMEDEA CSIC-UIB). Spain.

**Introduction.** Habitats with a high concentration of salt cover an important area of the planet, and are commonly colonized by halophytes. Halophytes accumulate large amounts of salt, and halophilic microorganisms are susceptible of their colonization. Those microorganisms might be relevant in the development of the plant. However, there is a considerable lack of knowledge regarding the association halophyte-microor-

ganism. This study has been centered in the associated endophytes an epiphytes to the phyllosphere of members of the family *Salicornioideae* in five locations from Chile and Spain.

**Materials and methods.** Culture-dependent methods were used with five salinity concentrations: 5, 15, 20, 25 and 30% to the isolation of microorganisms. Colonies were screened by maldi-tof/MS and 16s rRNA gene sequencing for identification purposes. In addition, rapid fingerprinting was used to recognize clonality. To ensure the isolation of endophytes, a previously sterilization surface protocol was performed on the plant stems and the protocol efficiency was checked with sem.

**Results.** Phyllosphere of five locations were analyzed: lo valdivia and pichidangui (Chile), and alicante, campos and ses fontanelles (Spain). Abundances detected were until 106CFUG-1 and 107CFUG-1 for epiphytes and endophytes respectively. Significant differences between abundances in epiphytes vs endophytes were detected. Organisms identified were principally affiliated to the bacterial *Gammaproteobacteria* and firmicutes, and, other groups were alpharoteobacteria, actinobacteria, bacteroidetes and the archaeal euryarchaeota. Community structures showed clear differences in the cultivable fraction between endophytes and epiphytes independently of the location. Both, otus with dominance of one or two clonal variants and, otus with several subpopulations were observed.

**Conclusions.** Microbial communities of phylogenetically close halophytes show to be highly related to the compartment where microorganisms thrive with no geographic patter. However, the presence of specific microbial ecotypes in each location and compartment in a same plant, reflect a specific adaptation to the conditions per plant.

#### TLP-409. Microbiología del agua mineral envasada

Judith Araque\*, Gerardo Medina\*, Felix Andueza\*

\*Universidad De Los Andes Venezuela.

**Introducción.** En los países en vía de desarrollo, la información sobre la microbiológica del agua mineral envasada es deficiente. En relación a la composición de la microbiota bacteriana, la información disponible es muy escasa, por lo que en la mayoría de los casos se desconoce la taxonomía de la población bacteriana presente. En este sentido, se planteo el presente trabajo para cuantificar e identificar la población bacteriana heterótrofa en las principales marcas de aguas minerales envasadas de venta en Venezuela.

**Materiales y métodos.** Se analizaron 38 marcas de agua mineral envasada. Las muestras consistieron de 5 unidades del producto, por cada una de las marcas estudiadas, de un volumen de 1500 mL de agua en envases de plástico. El recuento y aislamiento de las bacterias heterótrofas se realizo por la técnica de filtración en membrana, utilizando filtros de acetato de celulosa de 0,45 µm de poro, un volumen de muestra de 100 mL y como medio de cultivo los agares R2A, cetrinimide, baird parker y petrifilm. Las cepas bacterianas aisladas se identificaron siguiendo los esquemas propuestos por Macfadden (2003) y Barrow y Feltham (2004), complementados con las pruebas bioquímicas contenidas en las galerías de identificación bacteriana APHI (biomerieux).

**Resultados.** Los recuentos bacterianos estuvieron entre <1 a >2,0 x 103 UFC/mL. Con un valor promedio de 1,21 x 102 UFC/mL. Se lograron identificar un total de 214 colonias bacterianas, de las cuales 174 resultaron ser bacilos gram. Negativos y 40 cocos gram. Positivos. Los principales géneros bacterianos presentes fueron: *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Burkholderia*, *Cedecea*, *Chryseobacterium*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Kocuria*, *Lemnora*, *Micrococcus*, *Plesiomonas*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shewanella*, *Staphylococcus* y *Weeksella*.

**Conclusiones.** Las aguas envasadas analizadas contienen una población bacteriana heterótrofa diversa, desde un punto de vista taxonómico, aunque poca numerosa.

#### TLP-410. Evaluación de la actividad relaxasa de la proteína tipo-VIRD2 de *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 23270

Andrés Felipe Villa R.\*, Elisabeth Grohmann\*, Carlos Jerez\*

\*Lab. De Microbiología Molecular y Biotecnología, Depto. De Biología, Facultad De Ciencias, Univ. De Chile, Santiago, Chile. Escuela De Microbiología. Univ. De Antioquia. Medellín, Colombia. Lab. De Enferme Colombia.

**Introducción.** *Acidithiobacillus ferrooxidans* es una bacteria quimio-litoautotrófica que obtiene su energía a partir de la oxidación del

ión ferroso, azufre elemental y sulfuros metálicos, por lo que es ampliamente usada en biominería. Han sido varios los intentos por mejorar su capacidad biolixivante pero no existe un sistema genético eficiente que permita la introducción de ADN en esta bacteria. Resultados previos, indican la posible existencia de un sistema de secreción tipo IV (SSIV) en *A. ferrooxidans* ATCC 23270, el cual sería un hallazgo importante debido a que este sistema participa en diferentes eventos celulares: conjugación, competencia y transporte de proteínas efectoras. Con el objetivo de caracterizar la funcionalidad del posible SSIV en *A. ferrooxidans* ATCC 23270, se evaluó la actividad relaxasa *in vitro* de la proteína AFED2 identificada en este microorganismo.

**Materiales y métodos.** Se hizo un análisis *in silico* del gen AFED2 y su producto proteico se purificó. La actividad relaxasa de la proteína AFED2 se evaluó por medio de ensayos de clivaje *in vitro* y se determinó la interacción proteína-ADN por medio del ensayo de cambio en la movilidad electroforética (EMSA). Primero, se identificó los posibles sitios orit presentes en el genoma de *A. ferrooxidans* ATCC 23270, los cuales se utilizaron en los ensayos de clivaje y EMSA.

**Resultados.** El gen AFED2 codificó una proteína que posee un dominio relaxasa, la cual tuvo la capacidad de formar complejos con diferentes sitios orit identificados en el genoma de *A. ferrooxidans* ATCC 23270. También, AFED2 tuvo la capacidad de relajar plásmidos que contenían estos sitios orit en presencia de 15 mm de mg+2.

**Conclusiones.** Identificar y caracterizar la presencia de un SSIV funcional en *A. ferrooxidans*, ayudará a comprender no sólo algunos procesos fisiológicos de la bacteria sino que permitiría, más adelante, conocer mejor la transferencia conjugativa de ADN en este microorganismo.

#### TLP-411. Aislamiento y caracterización molecular de bacterias anaerobias ruminales de la especie bovina criollo Casanare con potencial celulolítico y hemicelulolítico

Juan Camilo Ovalle\*, Rocío Herrera\*, Hugo Rodolfo Jimenez\*, Carolina Gonzalez\*, Fernando Rodriguez\*

\*Corporacion Colombiana De Investigacion Agropecuaria Corpoica Colombia.

**Introducción.** Los bovinos se alimentan con una dieta rica en celulosas y hemicelulosas, las cuales son degradadas por bacterias y hongos anaerobios con capacidad fibrolítica. Estos microorganismos se adhieren a la superficie de la fibra vegetal y comienzan la liberación de celulasas y hemicelulasas que generan ácidos grasos volátiles - AGV's, como fuente de energía para el rumiante. Objetivo general aislar y caracterizar molecularmente bacterias anaerobias ruminales con capacidad celulolítica y xilanolítica.

**Materiales y métodos.** Se extrajo fluido ruminal de especies bovinas criollo Casanare, se almacenó a 39°C conservando la viabilidad de los microorganismos. Un mililitro de fluido ruminal se inoculó en 10 mL de caldo de crecimiento anaerobio con diferentes fuentes de carbono (papel filtro, papel craft, carboximetilcelulosa y xilan). Las fermentaciones fueron incubadas a 39°C por 24 h. Se realizó la técnica de roll-tube para el aislamiento de las colonias bacterianas a partir de los respectivos medios de cultivo. Las colonias bacterianas fueron transferidas a caldos de cultivo, e incubadas a 39°C por 24 h. Para determinar los azuceres reductores acumulados en las fermentaciones, se utilizó la prueba DNS. El ADN fue extraído a partir de células en crecimiento activo y el gen ribosomal del ARN 16s fue amplificado mediante la técnica de PCR. Los productos de PCR fueron secuenciados, y las secuencias analizadas utilizando la base de datos del genbank.

**Resultados.** Se obtuvieron 5 aislamientos con potencial celulolítico y xilanolítico. Los 5 aislamientos fueron vibrios y tuvieron crecimiento en carboximetilcelulosa y papel filtro, 4 crecieron en xilán y 3 en papel kraft. El aislamiento BC01 mostró mayor presencia de azuceres reductores en carboximetilcelulosa. Según el análisis de secuencias los aislamientos corresponden a los géneros de *Butyrivibrio*, *Pseudobutyrvibrio* y bacteroides.

**Conclusiones.** Los 5 aislamientos son microorganismos con actividad fibrolítica y deben ser evaluados por su potencial uso en la degradación de complejos celulolíticos.

### TLP-412. Evaluando la hipótesis de naturalización de Darwin en la invasión fúngica de comunidades microbianas experimentales

María Camila Morales I.\*, Valentina Verdejo P.\*,  
Julieta Orlando\*, Margarita Carú Marambio\*

\*Universidad De Chile, Chile.

**Introducción.** Se han propuesto diversas hipótesis para explicar el éxito de las invasiones biológicas, la mayoría de las cuales se basan en estudios de plantas y animales. Entre ellas, destaca la hipótesis de naturalización de Darwin, que sugiere que el éxito de una especie invasora será menor cuando colonice comunidades compuestas por especies relacionadas filogenéticamente con ella, debido a una mayor competencia. Aún cuando las invasiones microbianas ocurren frecuentemente en numerosos procesos, tanto naturales (e.g. micorrización y patogénesis) como antropogénicos (e.g. biorremediación y biocontrol), se desconocen los factores ecológicos que afectan el éxito de los invasores microbios. En este trabajo se evaluó el establecimiento del hongo *Trichoderma harzianum* en comunidades fúngicas experimentales con distintos niveles de relación filogenética respecto al invasor, y su efecto sobre la estructura genética de estas comunidades receptoras.

**Materiales y métodos.** Se construyeron 2 tipos de comunidades en ensayos de microcosmos: I) comunidades relacionadas filogenéticamente a *T. harzianum*, y II) comunidades no-relacionadas filogenéticamente al invasor. Las comunidades se invadieron con *T. harzianum* y su colonización se monitoreó por QPCR, mediante un marcador scar de copia única. El efecto del invasor sobre la estructura genética de las comunidades fúngicas receptoras se evaluó mediante patrones de DGGE.

**Resultados.** *T. harzianum* se estableció en ambas comunidades, alcanzando un número de copias SCAR 1.000-10.000 veces mayor en la comunidad no-relacionada, mientras que en los perfiles de DGGE se observó que el establecimiento del invasor no afectó la estructura de las comunidades invadidas.

**Conclusiones.** La composición de las comunidades receptoras y su relación filogenética con el invasor afecta el éxito de la colonización de *T. harzianum*.

### TLP-413. Aislamiento e identificación de bacterias halófilas con potencial biotecnológico aisladas de las salinas de Zipaquirá, Colombia

Vivian Marcela Garzón R.\*, Zulma Suarez M.\*,  
Carmenza Duque\*, Edisson Tello C.\*

\*Universidad De La Sabana Colombia.

**Introducción.** Colombia es uno de los países con mayor biodiversidad en el mundo, reconocido por su amplia variedad de especies vegetales y animales, situación que permite intuir un perfil megadiverso en las poblaciones de microorganismos, el cual se ha evidenciado en un sin número de estudios dirigidos a la identificación de bacterias, (Villegas, 2012) entre las que se encuentran, las halófilas, que se destacan por vivir en altas concentraciones de salinidad, a su vez han demostrado poseer un gran potencial biotecnológico como productoras de enzimas y solutos compatibles de gran uso en distintas industrias como farmacéutica, alimentaria, cosmética y petrolera. Objetivo general: aislar e identificar bacterias halófilas de las salinas de Zipaquirá-Colombia (5° 17.55' N, 74° 0' 33.49' W) con potencial biotecnológico.

**Materiales y métodos.** Los sitios de recolección se escogieron de acuerdo a la disponibilidad de agua presente en los socavones, para el aislamiento bacteriano las muestras fueron inoculadas en medios nutritivos a diferentes concentraciones de cloruro de sodio 1%-30% (w/v), incubadas a 25-37°C, con diferentes rangos de pH (5-11), bajo condiciones aerobias y anaerobias, además de estudios morfológicos (macroscópicos y microscópicos), bioquímicos, perfil de resistencia a antibióticos, secuenciación del gen 16s rRNA y evaluación de distintas actividades biológicas.

**Resultados.** Se aislaron 41 cepas de bacterias halófilas, logrando identificarlas como un 59% de bacterias Gram positivas y un 41% de gramnegativas, entre cocos y bacilos, presentando porcentajes de similaridad con halófilas según la secuenciación del gen 16s rRNA. Las bacterias presentaron actividad antimicrobiana contra *Klebsiella pneumoniae* ATCC

700603 y *Escherichia coli* ATCC 23724, los biosurfactantes producidos fueron caracterizados mediante espectroscopia infrarroja.

**Conclusiones.** Las pruebas bioquímicas y moleculares permitieron establecer que los aislados pertenecen a los generos *Chromohalobacter*, *Oceanobacillus*, *Halomonas*, *Paracoccus*, *Kocuria* y *Staphylococcus*, con actividad antimicrobiana y como productoras de biosurfactantes.

### TLP-414. Formulación de un inoculante multi-especies para potenciar el crecimiento de maíz criollo azul

Dalia Molina-Romero\*, Osvaldo Rodríguez-Andrade\*, Miguel Castañeda Lucio\*, María Del Rocío Bustillos-Cristales\*, Simón Cid-Villegas\*, Yolanda Elizabeth Morales-García\*, Jesús Muñoz-Rojas\*

\*CICM-IC-BUAP, Mexico.

**Introducción.** Las bacterias *Rizosféricas* establecen asociaciones con las plantas y algunas promueven el crecimiento vegetal (PGPR), mediante diversos mecanismos (Malik y Sindhu, 2011). Razón por la que las PGPR poseen un potencial biotecnológico para usarse en la elaboración de inoculantes destinados para la agricultura (Bashan et al., 1998). Objetivo: seleccionar bacterias con características PGPR que puedan coexistir, para la formulación de un inoculante multi-especies.

**Materiales y métodos.** Se empleó la metodología de inhibición en doble capa y la metodología de inhibición simultánea para explorar las relaciones antagonicas (Muñoz-Rojas et al., 2005) entre 25 cepas con características potenciales PGPR; pertenecientes a los géneros: *Shingomonas*, *Bradyrhizobium*, *Enterobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Burkholderia* y *Gluconacetobacter*. Se seleccionaron algunas cepas compatibles para la formulación del inoculante multispecies. Las semillas de maíz criollo azul estériles fueron inoculadas con una suspensión bacteriana, tanto de forma independiente como en consorcio, durante 1 h. Se sembraron en vermiculita estéril, adicionando una solución nutritiva, bajo condiciones de invernadero. Se determinó adhesión a semillas, colonización rizosférica a los 15 y 45 días posteriores a la inoculación (dpi). También peso fresco y seco de las plantas en estos periodos.

**Resultados.** A pesar de que estas bacterias producen sustancias inhibitorias, 16 cepas coexistieron. Se eligieron 5 cepas de diferentes géneros para la formulación del inoculante multi especies. Tanto la adhesión como la colonización fueron adecuadas y se observó un mayor crecimiento de plantas a los 45 dpi en tratamientos multi-noculados.

**Conclusiones.** La multi inoculación de semillas incrementa el crecimiento de plantas de maíz criollo azul a 45 dpi en comparación a las inoculadas con una sola cepa bacteriana y en referencia a controles.

### TLP-415. Migración y metamorfosis de larvas de un cnidario modelo están influenciadas por moléculas del quorum sensing bacteriano

Ángel Germán Franco F.\*, Luis Fernando Cadavid\*,  
Catalina Arévalo F.\*

\*Universidad Nacional De Colombia.

**Introducción.** Las señales responsables de la selección de hábitats y la inducción de la metamorfosis de larvas de invertebrados marinos han sido materia de debate por décadas. Queremos mostrar que moléculas del *Quorum sensing* bacteriano promueven la migración y metamorfosis de larvas de *Hydractinia symbiolongicarpus*. Las larvas de este hidrozoo se asientan únicamente sobre conchas de gasterópodos ocupadas por cangrejos ermitaños, donde la metamorfosis ocurre para generar un organismo maduro.

**Materiales y métodos.** Se aislaron 10 especies de bacterias a partir de conchas y éstas fueron evaluadas para la producción de n-acyl homoserina lactonas (AHLs) utilizando los biosensores *E. coli* PSB1075 y *A. tumefaciens* NTL4, usando las técnicas de cross-streaking y por medio de cromatografía en capa delgada. Extractos crudos de AHLs fueron evaluados en bioensayos para su habilidad de afectar el movimiento dirigido la metamorfosis de larvas de *H. symbiolongicarpus*.

**Resultados.** Se detectaron AHLs en 3 especies: *Shigella flexneri*, *Microbacterium liquefaciens* y *Kocuria erythromyxa*, donde se produjeron cuatro diferentes AHLs o moléculas similares: 3-OXO-C6-AHL, 3-OXO-C8-AHL, 3-OXO-C10-AHL y 3-OXO-C12-AHL. El 93% de las larvas (n= 300) se movieron hacia el extracto de AHLs, mientras que solo el 31,7% (n= 300) se movió hacia el extracto sin AHLs. Además, AHLs activaron las

etapas iniciales de la metamorfosis de las larvas a pólipo primario, induciendo el acortamiento de las larvas (53,3%; n= 300) en comparación con el control (8,7%; n= 300). Ni el asentamiento ni el desarrollo a pólipos primarios fueron afectados por las AHLs, lo que sugiere que otras moléculas pueden participar en estos procesos.

**Conclusiones.** Los efectos de las AHLs sobre la dinámica del desarrollo de *H. symbiolongicarpus* representan un ejemplo relevante en la comunicación química inter-reinos. Estas interacciones pueden ser significativas para el establecimiento de ecosistemas complejos y este conocimiento puede ser importante para los esfuerzos en la restauración de corales.

#### TLP-416. Characterization of microbial communities from tietê river basin by cultivation independent methods

Felipe Rezende De L.\*, Lina Rocío Del Pilar Rada M.\*, Eliane Gonçalves Da S.\*, Isabel Patricia Ortiz V.\*, Lilandra Carolina Rios De C.\*, Simone Ichiwaki\*, Gabriel Padilla M.\*, Wellington\*

\*Universidade De São Paulo - USP Brasil.

**Introduction.** The ecosystems maintenance is dependent of the interaction among many factors and organisms, including the microbial communities. In this context, Brazil is considered one of the countries with the highest biodiversity; however, there are few studies on microbial diversity in aquatic environments and less about the microbial diversity present in tietê river. Therefore, the present work aimed to characterize and assess the microbiome of the tietê river and evaluate the relation between the pollutants levels and the diversity.

**Materials and methods.** For that, 35 points along the tietê river basin were sampled and the microbial communities were evaluated by T-RFLP technique, followed by principal component analysis.

**Results.** The results reinforced the presence of high organic and chemical contaminants levels that were associated to the higher industrial activities, decreasing in areas where the agriculture is the major activity, with lower population density. The T-RFLP analysis showed 519 bacterial groups, and low correlation between richness and pollutants level, since the highest (277 groups) and the lowest (68 groups) richness index was observed in the area with low pollutants levels. Similar result was observed by diversity indexes (simpson 1-D and shannon H indexes), since the highest and lowest diversity were also observed in area with low pollutant levels. The principal component analysis, based on microbial community, showed that the 35 samples were grouped in 8 clusters, which were influenced by the dissolved oxygen level and conductivity.

**Conclusions.** In the present analysis, some environmental conditions, but not only one factor, are responsible by the microbial composition in the tietê river.

#### TLP-417. Evidencias sobre la presencia de celulosa en Cianobacterias del desierto de Atacama, Chile, y su proyección biotecnológica

Alexandra Galetovic\*, Nicole Fernández\*, Tamara Caimanque\*, Héctor Olivares\*, Jorge Araya\*, Benito Gómez-Silva\*

\*Universidad De Antofagasta, Chile.

**Introducción.** El uso de microorganismos productores de celulosa, materia prima para la producción de biocombustibles, presenta ventajas técnicas y ecológicas sobre fuentes tradicionales. *Cianobacterias* de ambientes desérticos sintetizan exopolisacáridos (EPS) como estrategia de tolerancia a la desecación y pueden representar una nueva fuente potencial de celulosa. El propósito del trabajo es proporcionar evidencias de la presencia de celulosa en EPS, usando estrategias complementarias: demostrar que los EPS son degradables por celulasa y que el gen para celulosa sintasa está presente en el genoma de las *cianobacterias*.

**Materiales y métodos.** *Cianobacterias* fueron aisladas de muestras de agua y sedimentos de humedales del desierto de Atacama. Exopolisacáridos de *cianobacterias* filamentosas fueron purificados, cuantificados y evaluados como sustrato para celulasa y la producción de glucosa. Para demostrar la presencia del gen de celulosa sintasa en el genoma de las *cianobacterias*, el DNA fue amplificado y los fragmentos PCR fueron secuenciados.

**Resultados.** El contenido de exopolisacáridos de las estirpes aisladas estuvo en el rango 4-9 g por L de cultivo. Todos los polisacáridos estudiados fueron susceptibles a la degradación enzimática y la mayor producción de glucosa se obtuvo con la cepa LLA-10, aislada del humedal putre, con una producción de glucosa de 113 micromoles glucosa/ min/ mL enzima. Todos los fragmentos PCR de 900 pb obtenidos con las cepas de *cianobacterias* estudiadas mostraron asociación con la región catalítica de celulosa sintasa de *calothrix* PCC7507, *Synechococcus* PCC7002, *nostoc* PCC7120, *Nostoc punctiforme* PCC73102 y *Arabidopsis thaliana*.

**Conclusiones.** Estos resultados confirman que *cianobacterias* del desierto chileno poseen la capacidad genética de sintetizar moléculas del tipo celulosa, que ésta se incorpora a sus exopolisacáridos y son una nueva alternativa para la producción de biocombustibles. Financiamiento: FIC-R 4603, CEBIB FB0001 (conicyt-Chile); codei-5394, SI-5305 (Universidad de Antofagasta).

#### TLP-418. The effect of light on the physiology of himb30, a proteorhodopsin-containing marine Gammaproteobacterium possessing the genetic machinery for carbon fixation

Vanessa Michelou\*, Michael Rapp\*

\*University Of Hawaii - Center For Microbial Oceanography, Research And Edu Estados Unidos.

**Introduction.** In this study, the general metabolic features and consequences of light on the physiology of himb30, a phylogenetically unique, genome sequenced *Gammaproteobacterium* isolated from coastal seawater of the tropical pacific ocean, were investigated. Himb30 belongs to a novel family within the order Oceanospirillales, and is of interest because it possesses a combination of several unique genomic features such as genes for proteorhodopsin-based phototrophy, inorganic carbon fixation via the Calvin-Benson-Bassham cycle, and inorganic sulfur and hydrogen oxidation. A variety of laboratory culture experiments were used to quantify the affect of light on such cellular characteristics as growth rate, biomass production, elemental stoichiometry, inorganic carbon fixation, and total ribosomal production.

**Materials and methods.** (1) Determine the growth response of himb30 to gradients in temperature and light intensity and spectral quality using a custom designed gradient array incubator.

**Results.** We verified autotrophic growth of himb30 via sulfur oxidation and CO<sub>2</sub> fixation and confirmed that thiosulfate is a sulfur compound that can be used for a source of energy. Himb30 can thus harvest energy from reduced sulfur and light. However, metabolism and growth was highest when green light was used during growth. We also confirmed growth of this isolate via heterotrophy, and found unusual cell division patterns in nutrient-limited cells during stationary phase.

**Conclusions.** We verified autotrophic growth of himb30 via sulfur oxidation and CO<sub>2</sub> fixation and confirmed that thiosulfate is a sulfur compound that can be used for a source of energy. Himb30 can thus harvest energy from reduced sulfur and light. Future work will investigate the role of proteorhodopsin-based phototrophy in himb30's growth efficiency.

#### TLP-419. Potencial antagonista de bacterias ácido lácticas epifíticas, sobre microorganismos que afectan la calidad del ensilaje

Juan Camilo Ovalle\*, Rocío Herrera\*, Elizabeth Céspedes\*, Poldy Johanna Sanabria\*, Martha Isabel Gomez\*, Fernando Rodriguez\*, Hugo Rodolfo Jimenez\*

\*Corporacion Colombiana De Investigacion Agropecuaria Corpoica Colombia.

**Introducción.** El deterioro aeróbico y la actividad de microorganismos patógenos representa un problema en la calidad de ensilaje de forrajes. La adición de bacterias ácido lácticas (BAL) a ensilajes inhibe la actividad de microorganismos indeseables y limita el proceso de deterioro del ensilaje. En Colombia existen limitados estudios que conducen a la selección de BAL epifíticas con potencial antagonista. Objetivo general aislar BAL con actividad antagonista sobre el crecimiento de microorganismos como *Salmonella* sp., *E. coli*, *Penicillium* sp. y *Aspergillus* sp.



**Materiales y métodos.** BAL se aislaron a partir de 1 g de ensilajes de avena en caldo MRS estéril a 37°C por 48 h. Los aislados se obtuvieron por siembra en agar MRS a 37°C por 48 h. Cada aislado se caracterizó e identificó según criterios morfofisiológicos (forma celular, tinción de gram y actividad de catalasa). Test API CHL50 fue utilizado para la identificación bioquímica. La técnica spot-test fue utilizada contra *E. coli*, *S. typhimurium*, *C. butyricum*, *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *M. guilliermondii* y *Pichia* sp. para determinar la actividad antagonista.

**Resultados.** Se obtuvieron 10 aislamientos de bacterias Gram positivas catalasa negativo. Los microorganismos aislados correspondieron a los géneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* y *Lactococcus*. Los aislados mostraron actividad antagonista contra enterobacterias y mohos, pero no contra levaduras. Los aislamientos a1, a10, a41, a54, a56 presentaron la mayor área de inhibición frente a *E. coli* a las 6 h, mientras que a16, y a17 lo hicieron a las 12 h para *S. typhimurium* fueron los aislamientos a1, a14, a41, a54 a las 6 h, mientras que para *C. butyricum* fueron a14, a40, a45, a56. Para el caso de los mohos, las bal a17 y a56 inhibieron a *Penicillium* sp., mientras que a56 y a45 sobresalieron contra *Aspergillus* sp.

**Conclusiones.** Las bacterias ácido lácticas a56 y a1 presentaron mejor efecto antagonista contra los patógenos probados.

### TLP-420. Efeito da administração oral de *Saccharomyces cerevisiae* linhagem UFMG A-905 em um modelo murino de doença de Crohn induzido por TNBS

Spencer S. Santos\*, Simone V. Generoso\*, Jacques R. Nicolli\*, Flaviano S. Martins\*

\*Universidade Federal De Minas Gerais-UFMG Brasil.

**Introdução.** As doenças inflamatórias intestinais (DII) formam um grupo de condições inflamatórias do tubo digestivo. Os principais tipos de dii são a doença de crohn (DC) e a colite ulcerativa (CU). As causas das dii são desconhecidas, uma resposta inflamatória anormal direcionada contra a microbiota entérica em um hospedeiro geneticamente susceptível tem sido proposta. Uma das últimas adições ao arsenal terapêutico são os probióticos. Esses micro-organismos benéficos à saúde tem-se mostrado bastante eficaz no prolongamento do tempo de remissão da DII, permitindo uma melhora significativa na qualidade de vida dos pacientes. O objetivo desse estudo foi verificar o efeito da administração oral de *Saccharomyces cerevisiae* linhagem UFMG a-905 em um modelo murino de dc induzida por TNBS.

**Materiais e métodos.** Foram usados camundongos BALB/C divididos em 5 grupos: (I) controle, (II) controle tratados com a levedura, (III) DC induzida por TNBS, (IV) levedura + DC induzida por TNBS e (V) etanol. Os animais foram tratados previamente por 10 dias com a levedura, logo em seguida foi induzida a dc com a administração intra-retal do TNBS e seguiu com a levedura por mais 5 dias. Logo após, o score clínico foi avaliado por meio do peso dos animais, sangue nas fezes, consistência e mortalidade.

**Resultados.** O modelo agudo da DC induziu alterações clínicas como perda de peso e sangramento retal. Estes sinais foram medidos por meio de um score que permitiu a construção de um índice diário de atividade da doença (DAI). A administração da levedura promoveu uma melhora nestes sinais, com redução estatisticamente significativa no dai comparado ao grupo TNBS e ausência de morte nos grupos tratados. Um novo experimento será realizado para avaliar as citocinas inflamatórias, confirmar o efeito protetor da levedura, translocação bacteriana e análises histológicas.

**Conclusões.** O tratamento com a levedura diminuiu os sintomas clínicos e inibiu a mortalidade causada pela doença.

### TLP-421. Identificación de un transportador alternativo a la Lactosa permeasa en cepas de *Shigella sonnei* fermentadoras rápida de lactosa aisladas en dos brotes de diarrea en antofagasta y la región metropolitana 2008-2009

Lina María Rivas J.\*, Germán Hermosilla D.\*, Cecilia Toro Ugalde\*, Bárbara Ávila S.\*, Juan Silva\*, Rosanna C.\*, María Teresa Ulloa F.\*

\*Programa De Microbiología Y Micología, Instituto De Ciencias Biomédicas, Facultad De Medicina, Universidad De Chile. Chile.

**Introducción.** Las cepas de *S. sonnei* aisladas de gastroenteritis presentan fenotipo lactosa negativo a las 24 h de incubación, sin embargo,

en dos brotes de diarrea: antofagasta y región metropolitana 2010, se aislaron cepas de *S. sonnei* que presentaron fermentación rápida de lactosa (24 h). Por otro lado, el estudio del genoma de la cepa de *S. sonnei* SS046 reveló que el gen de la lactosa permeasa está incompleto y presenta una IS1. Considerando estos antecedentes, el objetivo de este estudio fue identificar un transportador alternativo a la lactosa permeasa (maltosa) en cepas de *S. sonnei* aisladas de ambos brotes.

**Materiales y métodos.** Para ello, se evaluaron el tiempo de fermentación, la estabilidad del fenotipo, la actividad β-galactosidasa, la integridad del gen LACY y la participación de los genes LAMB y MALF (que codifican para la maltoporina y maltosa permeasa, respectivamente) en la incorporación de lactosa, mediante expresión heteróloga en cepas de *S. sonnei* ATCC-25931 (fermentación >24 h).

**Resultados.** De 117 cepas analizadas, 17 de antofagasta y 100 de Santiago, un 56% (66 cepas) fue lactosa positiva a las 24 h, 20% (24 cepas) >24 h mientras que un 23% (28 cepas) fue lactosa negativa. Se seleccionaron 20 cepas fermentadoras rápida, 10 de cada brote, todas presentaron un fenotipo de fermentación estable y actividad β-galactosidasa. El análisis por PCR mostró la pérdida de la integridad del gen LACY y la presencia del elemento IS1. En cuanto a la expresión heteróloga de los genes LAMB y MALF, no se observó un cambio en el fenotipo de fermentación de la lactosa en la cepa ATCC de *S. sonnei*.

**Conclusiones.** Estos resultados evidencian que el sistema transportador de maltosa no participa como transportador alternativo a la lactosa permeasa en las cepas fermentadoras rápida de lactosa, probablemente el fenotipo involucra otro transportador o la regulación del operón lac. Financiamiento: proyecto fondecyt-1130394.

### TLP-422. Presença de fungos entomopatogênicos em colônias de formigas cortadeiras provoca comunicação sonora entre as operárias

Sandra S. Verza\*, Mara F. Chiarelli\*, Odair C. Bueno\*

\*Centro De Estudos De Insetos Sociais, Universidade Estadual Paulista Brasil.

**Introdução.** O uso da vibração do substrato em formigas já foi explorado em vários contextos, porém, ainda não havia sido para a comunicação sobre a informação da ameaça de patógenos. Objetivo geral. Valendo-se do fungo entomopatogênico, *beauveria bassiana* encontrado no lixo produzido por *Acromyrmex rugosus rugosus*, foi realizado um estudo para verificar como as formigas se comunicam na presença de um fungo contaminante.

**Materiais e métodos.** Para tal foi utilizado um vibrômetro laser, o qual era apontado para o substrato infectado disposto sobre um pedaço de papel alumínio próximo ao fungo simbionte, e no momento em que uma operária tocava o fungo era realizado o registro da vibração. Foram utilizadas quatro colônias de *Acromyrmex rugosus rugosus*, com apresentações consecutivas realizadas em cada uma, durante quatro dias. A cada apresentação uma colônia diferente era selecionada como controle. Foram medidos os dados de cada pulso, a taxa de repetição dos pulsos e a potência sonora dos pulsos.

**Resultados.** Nossos resultados mostram que houve vibração em 75% dos 16 registros realizados, não existindo diferença significativa entre as colônias, pois somente os registros dos controles não apresentaram estridulação das operárias. Foi verificado através do som da estridulação produzida pelas formigas que as operárias para alertar a colônia sobre a ameaça de um patógeno, se comunicam entre si por meio da vibração do substrato. Deste modo, assim que o fungo era aplicado na colônia e inspecionado por uma operária, as outras operárias começavam a correr.

**Conclusões.** Pode se concluir que a resposta de fuga das operárias não expostas ao patógeno, foi induzida pela percepção das vibrações propagadas através do substrato, emitidas pelas operárias que tiveram contato direto com o fungo patogênico.

### TLP-423. Evaluación de aislamientos de bacilos aerobios formadoras de endosporas sobre la degradación del tamo de arroz

Jhoana Contreras\*, Carlos Alberto Cruz R.\*, Ana Carolina Mesa\*, Daniel Uribe V.\*

\*Instituto De Biotecnología, Univ. Nacional De Colombia, Sede Bogotá Colombia.

**Introducción.** La aplicación de proteasas sobre el tamo de arroz tiene un efecto positivo sobre su degradación y aumenta la disponibilidad de

materia orgánica en el suelo. Los bacilos aerobios formadores de endosporas (BAFES) son reconocidos por su producción de proteasas y por tanto su inoculación sobre el tamo podría favorecer la descomposición y reincorporación del residuo al suelo. Por tanto, se evaluó la actividad hidrolítica de bafes usando tamo de arroz como sustrato en fermentación líquida y sólida.

**Materiales y métodos.** Se evaluó la actividad proteolítica, celulolítica y xilanolítica de 33 bafes en medios diferenciales. Se determinó el crecimiento y la cinética enzimática de 10 aislamientos seleccionados, en fermentaciones líquidas con tamo de arroz como sustrato durante 20 días. Se establecieron cinco consorcios entre bafes y un hongo del género *Trichoderma*, evaluando la liberación de CO<sub>2</sub>, NH<sub>4</sub> y reducción de peso seco, después de 24 días de fermentación sólida sobre tamo de arroz.

**Resultados.** El 81.25% de las cepas mostraron halos de proteólisis mientras que el 12.5% presentaron actividad celulolítica y xilanolítica. En medio de cultivo líquido, la cinética proteolítica estuvo asociada a la cinética de crecimiento; las cepas IBUN13A02, 8a05, 15a03, 15a09 y 7a06 fueron significativamente mayores al control experimental. En la fermentación sólida, los tratamientos con mayor liberación de CO<sub>2</sub> fueron los consorcios *Trichoderma* sp.+IBUN13A02, 8a05 y 15a09. El contenido de amonio estuvo en un rango de 0,083-0,151 mg NH<sub>4</sub>.g tamo seco-1. Los consorcios con las cepas 8a05 y 7a06 presentaron las mayores actividades enzimáticas, mientras que las cepas IBUN15A09 y 8a05 mostraron mayor reducción en peso seco respecto del control.

**Conclusiones.** Nuestros resultados revelan el potencial uso de bafes en procesos de degradación del tamo de arroz y evidencian la necesidad de la aplicación de inoculantes mixtos para la descomposición mas eficiente del residuo vegetal.

#### TLP-424. Estructura de las comunidades rizobacterianas de dos plantas Antárticas mediante el uso de pirosecuenciación

Milko Jorquera\*, Fumito Maruyama\*, Lorena Lagos\*, Luis Mariño\*, Oscar Navarrete\*, Fernanda Cid\*, Maria De La Luz Mora\*

\*Universidad De La Frontera Chile.

**Introducción.** Con la llegada de la tecnología de pirosecuenciación, ahora es posible examinar con una mayor resolución la estructura y diversidad de las comunidades rizobacterianas. La rizósfera de plantas de la Antártica ha sido escasamente estudiada y prácticamente nada se sabe cómo las rizobacterias pueden contribuir a la adaptación, salud y nutrición de las plantas en tan extremas condiciones. Objetivos: determinar y comparar la estructura de las comunidades rizobacterianas de dos plantas vasculares nativas del ecosistema Antártico Chileno.

**Materiales y métodos.** Muestras de rizósfera de Pasto Antártico (*Deschampsia antarctica*) y Clavel Antártico (*Colobanthus quitensis*) fueron tomadas en las Islas Shetland del Sur durante febrero de 2014. La composición taxonómica y abundancia relativa (AR) de las comunidades rizobacterianas fueron determinadas y comparadas mediante el software visualization tool for taxonomic compositions of microbial community (Viticomic), que pueden analizar millones de secuencias bacterianas del gen 16s rRNA.

**Resultados.** En ambas especies vegetales, los resultados revelaron mayores AR de las filas proteobacteria (29-55%) y actinobacteria (12-36%). En proteobacteria, las mayores ar fueron de los órdenes rhodobacterales (11-32%; alphaproteobacteria), *Xanthomonadales* (7-23%; gamma-proteobacteria) y burkholderiales (4-18%; betaproteobacteria). En actinobacteria el orden con mayor ar correspondió a actinomycetales (12-31%). Al comparar las estructuras de las comunidades con el software Vitomic, no se observó diferencias significativas tanto en la composición taxonómica como en la diversidad entre las especies vegetales muestreadas.

**Conclusiones.** Diferencias significativas en los grupos dominantes, estructura y diversidad de las comunidades no fueron detectadas entre las dos plantas estudiadas. El presente trabajo representa uno de los escasos estudios en profundidad sobre la estructura de las comunidades *Rizobacterianas* asociadas a plantas adaptadas a ambientes extremos de Chile, como es la Antártica. Agradecimientos: apoyo al desarrollo de proyectos de investigación Chile-EE.UU. (USA2013-0010) e INACH (RT\_14-12)

#### TLP-425. Bacterial communities associated with honeybees

Denise De Oliveira S.\*, Jay Daniel Evans\*, Jeffrey Pettis\*, Sasiprapa Krongdang\*, Ana Carolina Peixoto M.\*, Rânia Mara Santana\*, Milton Adolfo Silveira\*, Esther Margarida Alves F.\*

\*Phytochemistry And Pharmaceutical Prospecting Service, Research And Development Center, Ezequiel Dias Foundation, Brazil And Laboratory Of Taxonomy, Biodiversity And Biotechnology Of Fungi, Federal University Of Minas Gerais, Brazil.

**Introduction.** The honeybee *Apis mellifera* is the most representative species from hymenoptera order. The immune system in *apis* comprises both individual and social mechanisms. A relevant but yet underexplored portion of the social defenses is the microbiota associated with honeybees, which may play a relevant role in the health maintenance, protecting the host against pathogens. A comprehensive survey of associations between bacteria and honeybees was the aim of this research.

**Materials and methods.** Sampling events were performed in 2011 in Carmo da Mata, Minas Gerais, Brazil, in five hives of africanized *A. mellifera* and in 2013 in Beltsville, Maryland, United States, in 4 hives of *A. mellifera* ligustica. Pollen, bee bread, hive debris, body surfaces of nurse and forager bees and intestinal contents were evaluated by inoculation on Eugon and MRS agar plates, for isolation of general and lactic acid bacteria, respectively. The isolates were identified by the sequencing of 16S rRNA gene.

**Results.** The substrates with higher species richness were the hive debris in Brazil and surface of forager honeybees in the United States. A total of 283 bacterial isolates were identified, comprising 61 species mainly within *Firmicutes* phylum. *Bacillus* was the most prevalent genus, representing 47% (133) of the isolates. A total of 71 (25%) isolates was identified as acid lactic bacteria, with *Lactobacillus kunkeii* as the prevalent species. Only twelve species were common in Brazil and US, demonstrating a different microbiota associated with honeybees between both environments. The species *Saccharibacter* sp., observed from bee bread and surface of nurse bees, probably represents a new bacterium species, closely related to *Saccharibacter floricola*.

**Conclusions.** The results suggest that honeybees have their microbiota largely composed of bacterial species from the foraging environment, acting as a vector of micro-organisms among plant species and reflecting distinct bacterial communities between Brazil and United States.

#### TLP-426. Assessment of the microbial diversity in the cerrado savanna as a temporal response to moisture variation

Alinne Pereira De C.\*, Maria Regina Silveira S.\*, Betania Ferraz Q.\*, Mercedes Maria Cunha B.\*, Ricardo Henrique Kruger\*

\*Universidade De Brasília, Brasil.

**Introduction.** The biome cerrado, a tropical savanna, is found only in Brazil. It is characterized by sharp differences between seasons, where summers are wet and winters are dry. Soils in the cerrado are weathered, with high acidity and clay content. The cerrado vegetation varies considerably in physiognomy. This work aimed at determining the microbial assembly variations, taxonomically and functionally, according to changes in water availability during the wet and dry seasons in soils from savanna-like.

**Materials and methods.** The composition of microbial communities of four different cerrado vegetation physiognomies were studied using high-throughput sequencing of ribosomal RNA and metagenomic DNA.

**Results.** Changes in bacterial, archaeal, and fungal community structures in the cerrado denso, cerrado sensu stricto, campo sujo, and gallery forest soils strongly correlated with seasonal patterns of water availability. The relative abundance of phyla ad3, wps-2, *Planctomycetes*, *Thermoprotei*, *Glomeromycota* typically decreased in the rainy season, while the relative abundance of proteobacteria and ascomycota increased. Analysis of metagenomic data showed that there is a significant increase in the relative abundance of genes associated with iron acquisition and metabolism, transposable elements, dormancy, and sporulation during the dry season, and an increase in the relative abundance of genes related to respiration and DNA and protein metabolism during the rainy season. These gene functional categories are related with adaptation to water stress.

**Conclusions.** Our work has shown that tropical savanna soil microbial communities functionally adapt to contrasting availability in water during the wet and dry seasons that are a characteristic of the cerrado biome.

### TLP-427. Influência da fonte de carbono na obtenção de compostos bioativos produzidos por micro-organismos isolados do carrapato bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Fernando Bueno Ferreira F.\*

Karine Rigon Zimmer\*, Alexandre José Macedo\*

\*Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul (Ufrgs), Faculdade De Agronomia. Universidade Federal Do Rio Grande (Furg), Laboratório De Microbiologia E Bioquímica. Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul (UFRGS), Faculdade De Farmácia Brasil.

**Introdução.** A resistência aos antimicrobianos impulsiona a busca por novos compostos e estratégias para controlar bactérias patogênicas. Ela está associada a diversos fatores, entre eles o modo de vida sésil exibido por muitos micro-organismos. Novas moléculas são obtidas a partir da microbiota associada a diversos organismos, entre os quais estão os artrópodes. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da fonte de carbono sobre o potencial de bactérias associadas ao carrapato bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em produzir compostos com atividade antimicrobiana e antibiofilme contra *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus epidermidis*.

**Materiais e métodos.** *Bacillus amyloliquefaciens* OV12 e *Microbacterium testaceum* GO18, isolados previamente do ovário e do órgão de gené de *R. microplus* por Zimmer et al. (2013), foram cultivados para produção de metabólitos em meio líquido mineral M63 modificado (37°C, 150 rpm, durante 4 dias), suplementado com diferentes fontes de carbono orgânico (glicose, sacarose, lactose) na concentração de 15 g/l. A cada 24 h o sobrenadante foi coletado e avaliado quanto a atividade antimicrobiana e antibiofilme pelo monitoramento do crescimento através da medida da absorbância a 600 nm e pelo método do cristal violeta. *Pseudomonas aeruginosa* pa14 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 foram utilizadas como cepas modelo para formação de biofilmes.

**Resultados.** O sobrenadante obtido de 96 h de cultivo na presença de glicose como fonte de carbono apresentou a melhor atividade contra os biofilmes patogênicos avaliados. O sobrenadante de *B. amyloliquefaciens* reduziu em mais de 50% a formação de biofilme de *P. aeruginosa* enquanto que o de *M. testaceum* preveniu em 75% o biofilme de *S. epidermidis*. Os testes de atividade antimicrobiana corroboraram os resultados indicando que os sobrenadantes inibem a formação de biofilmes por meio da inibição do crescimento bacteriano.

**Conclusões.** Este estudo demonstra a influência da glicose na produção de metabólitos por bactérias associadas ao carrapato bovino e reforça o potencial biotecnológico destes micro-organismos.

### TLP-428. Pirosecuenciación revela cambios asociados a la fertilización fosfatada en las comunidades rizobacterianas de *Lolium perenne* crecidas en andisol

Lorena Lagos Pailla\*, Oscar Navarrete Vergara\*,  
Maria De La Luz Mora G.\*, Milko Jorquera Tapia\*

\*Universidad De La Frontera, Temuco, Chile.

**Introducción.** La estructura y actividad de las comunidades microbianas en la rizósfera de plantas son influenciadas por diversos factores, tales como el tipo de suelo, especie vegetal (genotipos), fertilización, etc. En el presente estudio reportamos el efecto de la fertilización fosfatada sobre la composición rizobacteriana de *Lolium perenne* crecidas en un suelo volcánico (Andisol) con bajo contenido de P disponible.

**Materiales y métodos.** Ensayos en rizotrones fueron separadamente suplementados con fuente inorgánica (300 mg kh<sub>2</sub>po<sub>4</sub> kg<sup>-1</sup> of soil) y orgánica (C6H18O<sub>24</sub> P<sub>6</sub> y H<sub>2</sub>O; 2.5 mm kg<sup>-1</sup> of soil) de P. muestras de ADN total fueron extraídas desde dos micrositios de la rizósfera (zona meristemática y zona madura) y las comunidades rizobacterianas fueron analizadas por pirosecuenciación del gen 16S ARNR. Control sin fertilización y suelo no rizosférico también fueron analizados.

**Resultados.** En todas las muestras rizosféricas los resultados revelaron una mayor abundancia relativa (AR) de la fila proteobacteria (45%; alpha- and betaproteobacteria) seguido de las filas actinobacteria

(17%), cloroflexi (12%) y acidobacteria (11%). En contraste, en suelo no rizosférico los grupos con mayor ar fueron proteobacteria (68%; alpha- y gammaproteobacteria) y *Firmicutes* (21%, *Bacilli*). Por otro lado, la fertilización fosfatada orgánica e inorgánica también indujo cambios en los micrositios de la rizósfera, observándose una mayor ar de la fila proteobacteria (50%) en la zona meristemática en comparación a la misma zona en el control sin fertilizar (40%). Por el contrario, la ar en la zona meristemática de las filas cloroflexi y acidobacteria fueron menores (5%-3%) en comparación al control (12%-14%) cuando fertilización fosfatada inorgánica fue aplicada.

**Conclusiones.** El presente estudio reveló que la fertilización fosfatada genera cambios en la composición de las comunidades bacterianas de la rizósfera de *Lolium perenne* crecidas en Andisol, incluyendo diferencias a nivel de micrositios. Agradecimientos: beca doctorado nacional, conicyt No.21120698.

### TLP-429. Multilocus sequencing typing compared to pulsed-field gel electrophoresis for molecular typing of *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* strains

Livia Maria Pinheiro Luiz\*, Victoria Chuat\*, Antônio  
Fernandes De Carvalho\*, Florence Valence-Bertel\*

\*Universidade Federal De Minas Gerais Brasil.

**Introduction.** *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* is the major lab species in milk fermentation. It is important to investigate the genetic heterogeneity among isolates of *L. lactis* subsp. *Lactis*, thus many DNA-based typing methods have been developed. The aim of this study was to investigate the ability of pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) and multilocus sequence typing (MLST) techniques to discriminate *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* isolates of varied dairy origin.

**Materials and methods.** PFGE is an image-based DNA fingerprinting technique, which compares DNA fragments patterns generated by restriction. Twenty lactococcal isolates were analyzed by PFGE using *Sma*I and *Xba*I as the restriction enzyme. Genomic characteristics determined by PFGE were compared to MLST. MLST uses automated DNA sequencing to characterize the alleles present at different housekeeping gene loci. Since it is based on nucleotide sequences, it is highly discriminatory. MLST analyses were performed with five loci with little phylogenetic inconsistency (PGK, GLYA, RECN, BCAT and PDP).

**Results.** High genetic diversity within the subspecies '*Lactis*' was observed. Isolates of *L. lactis* subsp. *Lactis* with a Pearson's coefficient of similarity of > 91,6 % were considered to be identical, by PFGE technique. Twenty isolates were grouped in 13 different clusters, and cluster i contained the largest number of isolates. MLST analysis revealed 12 different sequence types (STs), nine of which have not been described before. ST 36 grouped the same strains as cluster I (by PFGE).

**Conclusions.** The two methods yield similar results, although with differences in resolving power and reproducibility. PFGE proved a higher variability within the subspecies *Lactis*. However, since MLST is based on nucleotide sequences of immutable genes throughout evolution, it is highly discriminatory and provides unambiguous results for the comparison among strains.

### TLP-430. Tolerancia a litio de una estirpe del género *Staphylococcus* aislada del salar de Atacama, Chile

Benito Gomez S.\*

\*Universidad De Antofagasta, Chile.

**Introducción.** El desierto de Atacama, Chile, es considerado el más antiguo y seco del planeta. Sus hábitats, bajo condiciones naturales extremas (radiación UV, desecación y otros), son colonizados por microorganismos extremófilos y extremo-tolerantes. El salar de Atacama es reconocido como la fuente más abundante en litio en la tierra. El propósito de este trabajo es demostrar la existencia de bacterias tolerantes a altas concentraciones de litio en las aguas del salar. Se describe la caracterización de una estirpe del género *Staphylococcus* tolerante a concentraciones molares de litio.

**Materiales y métodos.** Muestras de agua de Laguna Chaxa (33 mm LiCl y 10% NaCl) fueron cultivadas en medio LB/LiCl-1m por 15 días a 30°C. La cepa LCHXA fue aislada de alícuotas cultivadas en medio sólido LB/1m-LiCl. La cepa litio-tolerante fue cultivada para determinar

condiciones óptimas de crecimiento e identificada taxonómicamente mediante pruebas bioquímicas, uso de biología ecológica, sensibilidad a antibióticos, secuenciación de un fragmento PCR del gen 16s rRNA y construcción del correspondiente árbol filogenético.

**Resultados.** LCHXA: coco gram+, de 1 µm de diámetro, coagulosa y ornitina decarboxilasa negativas. Crecimiento óptimo: 30-37°C; pH 7-8. Tasas de crecimiento en medios LB, LB-NaCl-1 m, LB-NaCl-2 m, LB-LiCl-1 m y LB-LiCl-2 m: 0.063±0.004, 0.048±0.002, 0.007±0.001, 0.062±0.002 y 0.021±0.017 H-1, respectivamente. Fermenta glucosa y manitol. Sensible a novobiocina y furazolidona. El fragmento PCR-1500-PB mostró 96% identidad (98% cobertura) a secuencias nucleotídicas del gen 16s rRNA de la especie *Staphylococcus sciuri* disponible en Genebank.

**Conclusiones.** LCHXA es una *Eubacteria mesófila*, neutrófila y tolerante a altas concentraciones de sodio y litio, aislada de aguas ricas en litio del salar de Atacama, y miembro del género *Staphylococcus*, relacionada filogenéticamente a *Staphylococcus sciuri*. LCHXA representa un modelo para estudios sobre halotolerancia a litio y evaluación de potenciales aplicaciones biotecnológicas. Financiamiento: FIC-R 4603, CEBIB FB0001 (conicyt-Chile); codei-5394, si-5305 (Universidad de Antofagasta).

### TLP-431. Identificación extensiva de transportadores de riboflavina y su distribución en bacterias

Ana Gutiérrez P.\*, Alfredo Torres\*, Enrique Merino\*, Hernán Ruy B.\*, Fernando Alberto Goldbaum\*, Víctor Antonio García A.\*

\*Centro De Genómica y Bioinformática, Universidad Mayor, Campus Huechuraba Chile.

**Introducción.** Las bacterias pueden obtener riboflavina mediante biosíntesis de novo a través de enzimas de la vía biosintética de riboflavina (VBR) o mediante proteínas transportadoras. Las funciones de biosíntesis y transporte pueden coexistir en una bacteria. Existen cuatro transportadores de riboflavina caracterizados: RIBU, RIBM, RIBN y RFUABCD, además de dos putativos: RFNT e IMPX. Objetivo general. Identificar y caracterizar nuevas proteínas transportadoras de riboflavina en bacterias y determinar la distribución y co-ocurrencia de la VBR y transportadores en bacterias.

**Materiales y métodos.** Se buscó el Riboswitch RFN, asociado a la regulación de genes de transporte y biosíntesis de riboflavina, en 1133 genomas de bacterias secuenciados, para identificar transportadores de riboflavina putativos. Los candidatos se caracterizaron experimentalmente por complementación de crecimiento en una mutante de *Escherichia coli* auxótrofa para riboflavina. Se determinó la presencia de todos los transportadores de riboflavina conocidos y la VBR en los genomas bacterianos mediante BLAST.

**Resultados.** Se identificaron tres nuevos candidatos a transportadores, RIBVW en chloroflexi, actinobacteria y proteobacteria; ribz en clostridium; y riby en mesoplasma florum. Se confirmó la actividad de transporte de riboflavina para RIBVW de *Cloroflexus auratiacus*, RIBZ de *Clostridium difficile*, IMPX de *Fusobacterium nucleatum* y RFNT de *Ochrobactrum anthropi*. El análisis de la distribución de transportadores y la vbr reveló que la mayoría de las bacterias con transportadores poseen también la capacidad de sintetizar riboflavina y que existen especies con familias de transportadores no descubiertos. Se identificaron especies con dos familias de transportadores además de la VBR, una de las cuales (*O. anthropi*) fue caracterizada experimentalmente. IMPX, RIBVW y RIBU son transportadores ancestrales distribuidos a través de los phyla.

**Conclusiones.** Este trabajo duplicó el número de transportadores de riboflavina caracterizados en bacterias. Nuestros resultados sugieren que los transportadores de riboflavina poseen una función específica y no redundante en bacterias autótrofas para riboflavina.

### TLP-432. The C-DI-GMP signal transduction network of bacterial acidophiles

Matias Esteban Castro G.\*, Juan Pablo Cardenas\*, Nicolas Simon Guiliani G.\*, Raquel Clara Quatrini N.\*

\*Microbial Ecophysiology Laboratory, Fundación Ciencia & Vida, Santiago, Chile.

**Introduction.** The intracellular nucleotide C-DI-GMP has recently emerged as one of the central elements of the signal transduc-

tion network linking perception of environmental or intracellular cues to specific alterations in cellular function. In response to different input signals, the opposing activities of diguanylate cyclases (DGCS) and phosphodiesterases (PDES) control the cellular concentration of C-DI-GMP. Inside the cell, C-DI-GMP binds a given effector molecule and interacts with its cognate target component to produce a particular output phenotype, e.g. transition from planktonic to biofilm, or vice versa. One of the interesting paradoxes of signal transduction by C-DI-GMP is the redundancy of DGCS and PDES. In order to gain insight into the roles of redundant DGCS and PDES in model acidophiles their signal transduction networks were reconstructed using bioinformatic tools.

**Materials and methods.** Hidden markov models of known C-DIGMP elements were obtained from pfam and used to search the predicted proteome of selected acidophiles with hmmer. Functional prediction was performed by multiple alignments using functional DGCS, pdes and effector components as reference. Sensor domains present in selected proteins were predicted using blastp and conserved domains databases. Systematic analyses of genomic context were also performed to derive probable functional associations.

**Results.** Results obtained indicate that the C-DI-GMP signal transduction networks of bacterial acidophiles are widespread and complex. The quantity and nature of the C-DI-GMP elements differs at the genus, species and strain level. In addition to their DGC and pde domains, most enzymes involved in C-DI-GMP metabolism possess sensor domains, most of which can be related to oxygen sensing.

**Conclusions.** Data on the co-occurrence of C-DI-GMP synthesis/degradation genes, effectors and potential target genes that allow the prediction of potential distinct phenotypes are presented and discussed. Acknowledgements: fondecyt 3140003, 1140048 and 1120295; conicyt basal PFB16; conicyt beca 21100618.

### TLP-433. Molecular analysis of bacterial communities associated with the intestinal tract of *Rhodnius* species in Colombia

Gloria Ester Cadavid R.\*, Claudia Ximena Moreno H.\*, Omar Triana C.\*, Adriana Vargas J.\*, Vanesa Loaiza U.\*, Johann Bedoya C.\*

\*Universidad Nacional De Colombia, Sede Medellín Colombia.

**Introduction.** Triatomines are hemipteran bugs acting as vectors of the protozoan *Trypanosoma cruzi*, agent of Chagas disease, one of the major parasitic diseases in the Americas. Insecticide treatments have achieved effective control of these insects in most Latin American countries, but the disease continues to affect a large proportion of the population of South America. Studies of midgut microbial have been particularly useful in the design of rational vector control strategies, due to the important role in host-parasite relationship. In the host, native microorganisms have been responsible for the decline in the number of parasites due to the production of substances such as antimicrobial peptides, metabolites, etc. The objective of this study was to examine the composition of bacterial communities present in captive *Rhodnius pallescens* (RPA), *Rhodnius prolixus* (RP) and *Rhodnius colombiensis* (RCOL), at different developmental stage.

**Materials and methods.** Genetic fingerprints of bacterial populations were generated by temporal temperature gradient gel electrophoresis (TTGE) separation of individual polymerase chain reaction (PCR)-amplified 16s rRNA gene fragments and the ribosomal intergenic spacer analysis (RISA), followed by DNA sequence analysis for bacterial identification.

**Results.** The fingerprints of TTGE bands and RISA pattern were grouped into three principal clusters with the dice correlation and UPGMA methods. *Rhodnius pallescens* (RPA) and *Rhodnius colombiensis* (RCOL) appear to be closely related, they showed common bands and were found in the same cluster. Our data was insufficient to conclude there was a significant difference between bacterial communities depending on the *Rhodnius* developmental stage.

**Conclusions.** Specific associations between bacterial microbiota and triatomine species can suggest establishing endosymbionts for each host, which may determine the coevolutionary characteristics of a species and its vectorial capacity.

### TLP-434. Efecto de la disponibilidad de oxígeno sobre la expresión de genes involucrados en la biosíntesis del lipopolisacárido en *Salmonella enterica* serovar enteritidis

Cecilia A. Silva\*, Inés Contreras\*, Carlos A. Santiviago\*, Sergio A. Álvarez\*

\*Departamento De Bioquímica Y Biología Molecular. Facultad De Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad De Chile, Chile.

**Introducción.** *Salmonella enteritidis* es un patógeno de aves, roedores y humanos, capaz de colonizar sistémicamente aves y ratones, mientras que en humanos provoca un cuadro de gastroenteritis autolimitante. Durante el proceso de infección, *Salmonella* es expuesta a diversas condiciones ambientales, entre ellas, baja disponibilidad de oxígeno. Por otra parte, el LPS un componente estructural de la membrana externa en bacterias Gram negativo, es también un importante factor de virulencia de esta bacteria. Estudios previos de nuestro laboratorio han demostrado una regulación oxígeno dependiente de la distribución de largos de cadena del antígeno-o del LPS de *S. enteritidis*, la que depende de los reguladores globales ARCA y FNR. Para entender este fenómeno, el objetivo de este trabajo fue determinar, a nivel transcriptómico, los cambios oxígeno-dependientes en los niveles de mRNA de genes involucrados en la biosíntesis de LPS de este patógeno.

**Materiales y métodos.** *S. enteritidis* NCTC 13349 se cultivó en medio mínimo e suplementado con glucosa y se obtuvieron muestras de RNA provenientes de bacterias crecidas en presencia y ausencia de oxígeno, las que se analizaron mediante hibridación en microarrays y PCR en tiempo real.

**Resultados.** Se identificaron cambios en la abundancia relativa de los niveles de transcrito de diversos genes relacionados con la biosíntesis de los tres dominios estructurales del LPS. En paralelo, también se estudió la participación de *arca* y *fnr* en esta regulación. Los cambios observados en los genes relacionados con la biosíntesis del antígeno-o tuvieron una directa correlación con el fenotipo oxígeno-dependiente de la distribución de largos de cadena de este polímero.

**Conclusiones.** La disponibilidad de oxígeno cumple un rol fundamental en la expresión de genes que participan en la biosíntesis de LPS y la distribución modal de esta molécula, un componente esencial en patogenicidad bacteriana. Financiamiento: fondecyt 1130025

### TLP-435. Efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la producción de acil homoserina lactonas (AHLs) a partir de la microbiota presente en frutos de tomate (*Solanum lycopersicum*)

María Lorena Luna G.\*, Adriana Delgado A.\*, Esmeralda Escobar M.\*, Alfredo G. Torres\*

\*Benemérita Universidad Autónoma De Puebla, Facultad De Ingeniería Química, Colegio De Ingeniería En Alimentos, Mexico.

**Introducción.** Reportes recientes sugieren que la colonización de vegetales crudos por grupos bacterianos depende de un proceso de comunicación celular conocido como quorum sensing (QS), en el cual participan moléculas de señalización como las acil homoserina lactonas (AHLs). Evaluar e identificar los factores que estimulan la producción de AHLs provenientes de enterobacterias inoculadas en tomates almacenados en diferentes condiciones de temperatura y humedad relativa.

**Materiales y métodos.** Los pericarpios fueron inoculados con suspensiones bacterianas de cultivos axénicos y mixtos de *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* con *Escherichia coli*, los frutos fueron almacenados bajo las condiciones de 20°C/60% h y 40°C/75% h hasta por 168 h. Para determinar la producción de AHLs de los microorganismos inoculados, se utilizaron bioensayos con *A. tumefaciens* NTL4, basados en detectar la inducción en la actividad y expresión de la  $\beta$ -galactosidasa (I).

**Resultados.** Los frutos que presentaron valores mayores de "I" fueron almacenados a 40°C/75% RH e inoculados con *C. freundii* ( $i=20.56$ ), sin embargo algunas interacciones mantuvieron respuesta únicamente hasta las 72 h, en comparación con la condición de 22°C/ 60% RH donde se detectó inducción hasta las 168 h de almacenamiento. En relación con la interacción *C. freundii* y *E. coli* fue a partir de las 72 h que ya no se detectó inducción. Mientras que con *C. freundii* y *E. cloacae* ( $I=6.07$ ) ambas bacterias son capaces de producir AHLs, sin embargo los valores de *i* fueron menores a los alcanzados con cultivos axénicos

de *C. freundii*. En relación con los niveles de inducción alcanzados con la interacción *E. cloacae* y *E. coli* fueron mayores en la condición de 22°C/60%h y con 168 h de incubación.

**Conclusiones.** Las condiciones de almacenamiento influyeron significativamente sobre el crecimiento de la microbiota inoculada y la producción de AHLs sobre los pericarpios de los frutos.

### TLP-436. Caracterización funcional del represor catabólico mig1 de *Xanthophyllomyces dendrorhous* mediante complementación heteróloga en *S. cerevisiae*

Natalia Bravo A.\*, Pamela Córdova V.\*, Jennifer Alcaíno G.\*, Marcelo Baeza C.\*, María Fernández L.\*, Víctor Cifuentes G.\*

\*Universidad De Chile, Chile.

**Introducción.** En algunas levaduras se ha descrito que la presencia de glucosa en el medio de cultivo tiene un efecto represor sobre la expresión de ciertos genes, donde la proteína MIG1 cumple un rol fundamental. MIG1 es un factor transcripcional del tipo dedos de zinc que se une a secuencias definidas en los promotores de ciertos genes impidiendo su transcripción. En la levadura carotenogénica *X. dendrorhous* se ha descrito la represión de ciertos genes estructurales que controlan la carotenogénesis cuando ésta se cultiva en presencia de glucosa. Lo anterior es novedoso, ya que si bien existen varios ejemplos de represión catabólica, no hay antecedentes que indiquen que este mecanismo de regulación participe en la síntesis de carotenoides en otros organismos. En nuestro laboratorio se ha identificado la secuencia genómica y de CDNA de un posible gen MIG1 en *X. dendrorhous*. Así, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la funcionalidad de dicho gen.

**Materiales y métodos.** Se clonó el CDNA de MIG1 de *X. dendrorhous* en un vector de expresión de *S. cerevisiae* y con él se transformó una mutante MIG1 de *S. cerevisiae*. El fenotipo de la cepa transformante resultante se evaluó mediante la confección de curvas de crecimiento y medición de actividad invertasa en cultivos crecidos hasta fase estacionaria que luego fueron divididos en dos: una fracción se incubó con medio mínimo con galactosa y la otra fracción con medio mínimo suplementado con galactosa y glucosa.

**Resultados.** Los resultados indican que el gen MIG1 de *X. dendrorhous* complementa la mutación MIG1 en *S. cerevisiae* en cuanto a el crecimiento y en restablecer la represión de la actividad invertasa en presencia de glucosa.

**Conclusiones.** Se corrobora que el gen MIG1 de *X. dendrorhous* esta involucrado, a través de su producto, un factor de transcripción, en la represión catabólica.

### TLP-437. Identificación, aislamiento y caracterización de los genes HMGS y MVK de *X. dendrorhous*

Nicole Andrea Werner R.\*, Marcelo Baeza Cancino\*, Víctor Cifuentes G.\*, Jennifer Alcaíno Gorman\*

\*Universidad De Chile, Chile.

**Introducción.** En la naturaleza existe un limitado número de microorganismos capaces de producir compuestos con importancia biotecnológica. Uno de éstos es la levadura *Xanthophyllomyces dendrorhous*, que sintetiza astaxantina. Los precursores para la síntesis de este metabolito provienen de la ruta del mevalonato (MVA), cuyos productos son el isopentenil pirofosfato y dimetilalil pirofosfato, formados desde acetil-coa. El objetivo de este trabajo fue caracterizar y analizar la funcionalidad de dos genes involucrados en la ruta MVA de *X. dendrorhous*: HMGS y MVK, que codifican a hidroximetilglutaril-coa sintasa y mevalonato quinasa, respectivamente.

**Materiales y métodos.** Los genes se identificaron en el genoma de la levadura por análisis bioinformático y se caracterizaron por comparación con homólogos. La secuencia codificante de cada gen, se amplificó desde CDNA total y se clonaron en el vector de expresión YEPNP. Con las construcciones obtenidas, se transformó mutantes diploides de *Saccharomyces cerevisiae* que son heterocigotas para el gen de interés (GDI: HMGS o MVK). Posteriormente, se evaluó si los genes de *X. dendrorhous* complementan la respectiva mutación, al obtener cepas haploides (que no portan el GDI endógeno) a partir de la esporulación de los transformantes.

**Resultados.** Debido a que la ruta MVA es esencial para la viabilidad celular, la obtención de una cepa haploide de *S. cerevisiae* que solo porta

la copia del GDI de *X. dendrorhous* demostró que éste complementa la función del primero, haciéndola viable y confirmando los resultados del análisis bioinformático. Además, se cuantificó la producción de esteroides y su composición en todas las cepas obtenidas, sin encontrar diferencias significativas entre cepas haploides y sus parentales.

**Conclusiones.** Este trabajo presenta por primera vez evidencia de la funcionalidad de los genes HMGS y MVK de *X. dendrorhous*, que son esenciales para la sobrevivencia de la levadura y complementan dichas mutaciones en *S. cerevisiae*. Financiamiento: fondecyt 11121200, becas conicyt (NW).

### TLP-438. Molecular characterization of fungal communities in sediments and water from tietê river (São Paulo, Brazil)

Mabel Patricia Ortiz V.\*, Lina Rocío Del Pilar Rada M.\*, Eliane Gonçalves Da S.\*, Felipe Rezende De L.\*, Lilandra Carolina Rios De C.\*, Simone Ichikawi\*, Gabriel Padilla M.\*, Wellington\*

\*Instituto De Ciências Biomédicas, Universidade De São Paulo - USP Brasil.

**Introduction.** The microorganisms of the environment are fundamental for the maintenance of ecosystems. In aquatic environment, the fungal mainly participate in the decomposition of residues and production of enzymes involved in different processes. In this context, Brazil is considered one of the countries with the highest biodiversity however are few studies about the microbial diversity in aquatic environments such as the tietê river, which plays a strategic role in the environmental. The purpose of this work is characterize the genetic diversity of fungi in sediment and water of the tietê river, through independent farming techniques.

**Materials and methods.** The sample collected were taken in 33 water points and seven sediment during the rainy and dry season, which were analyzed by T-RFLP technique, followed by principal component analysis.

**Results.** The presence of compounds' contaminants are highest influenced for an industrial and population concentration along the river. The t-rflp analysis showed 456 groups of fungi in both periods, but not the contents of wealth don't correlate with the pollutants levels during the rainy season, the lowest (48) and highest rates (146) were observed in areas with lowest levels of pollutants, meanwhile during the dry season the highest rates (139) and lower (66) were observed in areas with the highest pollutant. In the case of the sediments the lowest affluence index (20) was the source of the river and the highest (141) in the contaminated area. The dissolved oxygen levels showed a strong influence on the grouping of fungal communities.

**Conclusions.** The presence of fungi in aquatic environments plays vital ecosystems function; however, it was observed that the environmental conditions are not the only factor responsible for the tietê river fungal composition in water samples. About the sediments, the indices of affluence show a strong relationship between the areas of highest and lowest contamination.

### TLP-439. Análise dos fatores de virulência das *E. coli* isoladas das dietas enterais industrializadas e manipuladas de hospitais público e privado no município de São Luís - MA

Larissa Praseres\*, Talyta Araujo\*, Thiago Feitosa\*, Andreia Meneses\*, Eduardo Martins\*, Patricia De Maria Silva\*

\*Universidade Ceuma Brasil.

**Introdução.** Este estudo traz como base o tema *Escherichia coli*, uma bactéria que apresenta potencial patogênico consideradas como agentes e risco em relação ao manejo. O objetivo do estudo foi analisar os fatores de virulência das *E. coli* encontradas nas dietas enterais industrializadas manipuladas de um hospital público e um privado do município de São Luís - MA.

**Materiais e métodos.** As amostras foram coletadas separadamente em turnos e horários diferentes. A pesquisa foi direcionada para: classificação molecularmente das *Escherichia coli* diarréioogênicas; análise das propriedades relacionadas com a adesão às células, hep 2 e HT29, materiais inertes (INOX, látex e vidro), biofilme, hidrofobicidade e fímbrias, curli e tipo I; e, destacar, fenotipicamente a produção de lipase, protease, fosfolipase e hemolisina nas amostras de *E. coli*.

**Resultados.** Os resultados apontaram que os fatores de virulência mais evidenciados nos isolados são: produção de cápsula em ambos hospitais (100%), produção fraca de biofilme (75%) hospital privado e (50%) hospital público; a expressão da fímbria curli em ambas as amostras (100%), a fímbria tipo I foi mais evidente nas amostras do hospital privado (75%); o hospital privado apresentou alta hidrofobicidade (75%). Em relação à produção de hemolisinas, em ambos os hospitais não se apresentou hemólise em meio sólido, apresentou apenas em meio líquido em sangue de carneiro.

**Conclusões.** Não houve diferença entre os dois hospitais quanto às propriedades de virulência da *Escherichia coli* encontradas. Esse índice de contaminação por esse microrganismo nas amostras colhidas nos dois hospitais e que, a contaminação da nutrição enteral ocorre principalmente pela falta de técnicas de higiene adequadas durante o trabalho de manipuladores, desinfecção dos locais de preparação e dos equipamentos utilizados e utilização de aditivos não estéreis ou contaminados no preparo da dieta poderá comprometer a evolução clínica desses pacientes.

### TLP-440. Functional characterization of a VIRB1-like protein in *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 23270

Andrés Felipe Villa R.\*, Carlos Jerez\*

\*Laboratory Of Molecular Microbiology And Biotechnology, Department Of Biology, Faculty Of Sciences, University Of Chile, Santiago, Chile. School Of Microbiology. University Of Antioquia. Medellin, Colombia.

**Introduction.** *Acidithiobacillus ferrooxidans* is a chemolithoautotrophic bacterium that obtains its energy from the oxidation of ferrous iron, elemental sulfur and metal sulfides; therefore, it is widely used in bio-mining. We undertook the initial characterization of a putative type iv secretion system (TIVSS) by studying the putative VIRB1-like gene (AFEB1) of *A. ferrooxidans* ATCC 23270 to analyze the putative functionality of this system.

**Materials and methods.** AFEB1 gene was *in silico* analyzed and its product, AFEB1 protein, was assessed to complement an heterologous tivss mutant strain of *Agrobacterium tumefaciens* lacking VIRB1 lyticase, PC1001. Tumor formation and plasmid transfer ability were measure in *A. tumefaciens* mutant strain.

**Resultados.** AFEB1 gene encodes a protein containing a lytic *Murein transglycosylase* domain that restores the ability of tumor formation by 57 % and increased up to 87 % the ability to transfer a plasmid of INCC family in *A. tumefaciens* PC1001 VIRB1 mutant strain.

**Conclusions.** To identify and characterize the presence of a functional tivss in *A. ferrooxidans* ATCC 23270, will help to understand some physiological processes in this microorganism and allow to better understand the conjugal transfer of DNA in this bacterium.

### TLP-441. *Streptococcus infantarius*, a lactic acid bacterium with xylanolytic activity

Barbara Leslie Cooper B.\*, Gloria Díaz R.\*, Arturo Navarro O.\*, Romina Rodríguez S.\*, Carmen Wacher R.\*

\*Depto. de Alimentos Y Biotecnología, Facultad De Química, Universidad Nacional Autónoma De México Mexico.

**Introduction.** *Streptococcus infantarius* isolated from pozol, a traditional ACIDIC maize beverage, shows xylanolytic activity against beechwood xylan (142.33iu) and corn arabinoxylan (262.60iu). Moreover, it is able to grow with xylan as its only carbon source, producing lactic acid and ethanol increasing its concentration up to 4 log units. The aim of this study was to evaluate growth kinetics and sugar consumption of str. *Infantarius* in corn arabinoxylan.

**Materials and methods.** A semiquantitative xylanase assay was performed using lugol flooded plate technique. Fermentation was made in fresh HSH broth, with 1% corn arabinoxylan at 28°C. Growth was measured by plate count, reducing sugars by dns method and total sugars by phenol sulphuric acid technique. Fermentation products and sugars were analysed by HPLC (aminex 87, h2so4 5mm, 0.6 mL/min 30°C). Xylanase activity was measured according to bailey et al. (1992).

**Results.** Clearance halos were 2.43 cm average, indicating strong activity compared to those of a positive control (1.4 cm), growth rate was  $\mu=0.651$  h<sup>-1</sup> reducing sugars concentration increased from 0.12

to 0.44 mg/mL during the first 4.5 fermentation hours thus indicating enzymatic activity related to hydrolysis, these were consumed until they reached 0.058 mg/mL average in 12 h (86.84% consumption). After 48 h fermentation, total sugars had decreased from 8.64 to 5.1 mg/mL xylose equivalents (40.97% consumption). Xylanase activity was 262.6  $\mu\text{mol}$  of liberated xylose  $\text{mL}^{-1} \text{min}^{-1}$  and equimolar amounts of lactic acid and ethanol were produced.

**Conclusions.** There are very few studies on the xylanolytic behavior of lab since it's not a common feature of this group. *Str. infantarius*, predominant lab during pozol's fermentation, grows on corn arabinoxylan as sole carbon source, producing reducing sugars, fermenting them. Its rapid growth in both starch and xylan could explain its prevalence on pozol.

### TLP-442. Análisis comparativo de los sistemas criscas presentes en elementos conjugativos integrativos tipo 2 en bacterias del género *Acidithiobacillus*

Lillian Gabriela Acuña O.\*, Paulo Covarrubias\*,  
Ana Moya-Beltrán\*, Francisco Issotta\*,  
Francisco J. Ossandon\*, Mónica González\*, Raquel Quatrini\*

\*Fundación Ciencia & Vida, Laboratorio  
De Ecofisiología Microbiana, Chile.

**Introducción.** El análisis genómico de bacterias del género *Acidithiobacillus* ha revelado la presencia de variantes atípicas del sistema CRISPR-CAS en elementos conjugativos integrativos alojados en el genoma. En otros microorganismos estos sistemas funcionan como barrera frente a la entrada de DNA foráneo, mediando la degradación secuencial-específica de éste. El hallazgo de estos sistemas en bacterias acidófilas sugiere que en este nicho extremo existe un activo movimiento horizontal de genes que amerita mayor estudio. En este trabajo se describen y caracterizan la localización, organización, diversificación y expresión de los sistemas CRISPR-CAS en el género *Acidithiobacillus*.

**Materiales y métodos.** Para analizar su localización, organización y diversificación se secuenció, ensambló y analizó bioinformáticamente una colección de cepas de *Acidithiobacillus caldus* y *A. ferrooxidans*. Además, se analizó la expresión génica del sistema CRISPR-CAS en cultivos tratados con generadores de daño al DNA y en células adheridas a un sustrato sólido.

**Resultados.** En ambos modelos el sistema contiene dos arreglos CRISPR de conservación variable y cinco genes CAS altamente conservados intraespecíficamente, incluyendo un ortólogo de CAS6 requerido para el procesamiento del PRE-CRRNA. El sistema se encuentra ampliamente representado en *A. caldus*, con un contenido de espaciadores bien diversificado tanto intra- como inter-locus. Ello no ocurre en *A. ferrooxidans*. En ambas especies el sistema CRISPR-CAS localiza dentro de un ICE tipo dos, según una clasificación reciente de estos elementos en *A. caldus*, y co-ocurre con genes relacionados con la adhesión a sustrato. Los componentes del sistema se co-expresan en las condiciones analizadas y ninguno de los sistemas analizados procesa el PRE-CRRNA en las condiciones mencionadas.

**Conclusiones.** Aún cuando estos estudios no permiten demostrar o refutar la funcionalidad de los sistemas CRISPR-CAS de los *Acidithiobacilli*, constituyen un aporte a la comprensión de sistemas CRISPR-CAS atípicos y entregan indicios acerca del rol de elementos tipo ICE en la propagación de estos sistemas.

### TLP-443. *Salmonella typhimurium* is able to survive intracellularly in the social amoeba *Dictyostelium discoideum*

Sebastián Riquelme\*, Macarena Varas\*, Catalina Bravo-Toncio\*,  
Francisco Chávez\*, Carlos Santiviago\*

\*Laboratorio De Microbiología, Facultad De Ciencias Químicas Y  
Farmacéuticas, Universidad De Chile. Laboratorio De Microbiología De  
Sistemas, Facultad De Ciencias, Universidad De Chile. Chile.

**Introduction.** Defense mechanisms against bacterial pathogens are diverse; however, many of them are evolutionarily conserved. The social amoeba *Dictyostelium discoideum* has proven to be a useful model for studying relevant aspects of the host-pathogen interaction. In fact,

many intracellular pathogens can grow and survive by the same mechanism within *D. discoideum* as they do in macrophages. *Salmonella enterica serovar typhimurium* (*S. typhimurium*) is able to survive in macrophages of a broad range of hosts, including mice and birds. Although *S. typhimurium* is pathogenic for dictyostelium, phagocytosis progression and bacterial survival are not well understood in this host-pathogen interaction. In this work, *D. discoideum* was used to study the ability of *S. typhimurium* to survive inside the amoeba.

**Materials and methods.** A phagocytosis assay was developed using axenic cultures of *D. discoideum* strain ax4 co-cultured with the *S. typhimurium* virulent strain 14028s or a derivative aroa attenuated mutant. The assay was performed using different multiplicities of infection. Viable bacterial cells were recovered from *D. discoideum* and titrated by serial dilution and plating in selective media. In parallel, viable cell counts of infected *D. discoideum* were obtained by trypan blue exclusion.

**Results.** We established a reliable phagocytosis assay for recovering exclusively intracellular bacteria from *D. discoideum* cells infected by *S. typhimurium*. By using this assay, we were able to determine that the *S. typhimurium* wild-type strain is able to survive inside *D. discoideum*. In contrast, the attenuated aroa mutant strain is unable to survive intracellularly in the amoeba, as previously reported in macrophages.

**Conclusions.** The use of *D. discoideum* as a model for host-pathogen interactions will allow us to discover the complete gene repertoire used by *Salmonella* to survive inside the amoeba and to study the cellular processes that are affected during infection. (supported by fondecyt grants 1140754 and 1120209, and conicyt fellowships 221320275 and 21120431).

### TLP-444. Monitoreo de la comunidad bacteriana de los granos de Kéfir y bebida Kéfir durante la fermentación con la leche de cabra cruda por PCR-DGGE y QPCR

Analy Machado De Oliveira L.\*, Deborah Catharina Assis L.\*,  
Emiliano Nicolas C.\*, Marco Antonio Lemos M.\*,  
Karina Olbrich Dos S.\*, Alexandre Soares R.\*, Raquel Silva P.\*

\*Universidade Federal Do Rio De Janeiro - Campus Macaé. Universidade  
Federal Do Rio De Janeiro - Instituto De Microbiologia Paulo De Góes.  
Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária Brasil.

**Introducción.** Kéfir es una bebida láctea probiótica producida por granos de Kéfir. Estos son compuestos de proteínas, polisacáridos y una compleja microbiota simbiótica formada por bacterias lácticas, acéticas y levaduras. La simbiosis es importante para producción de los efectos beneficiosos y mantenimiento de las características del producto durante las sucesivas fermentaciones. El objetivo fue monitorear la adaptación de las bacterias de los granos y del Kéfir durante la fermentación con leche de cabra cruda, por PCR-DGGE y QPCR.

**Materiales y métodos.** Granos de Kéfir fueron añadidos a la leche de cabra e incubados a 25°C/96 h. Las muestras de granos y Kéfir fueron colectadas en 0, 24, 48, 96 h de fermentación. Posteriormente, los granos fueron filtrados y una nueva porción de leche cruda fue añadida, a cada 24 h/25°C, durante 4 días seguidos. Las muestras de ADN extraído fueron amplificadas usando los cebadores 968FGC/1401R y 357F/529R para análisis de DGGE y QPCR, respectivamente.

**Resultados.** El perfil de DGGE fue diferente para la leche de cabra, granos y Kéfir. Bandas fueron cortadas del gel e identificadas como *L. lactis* y *L. kefirifaciens*. En la cuantificación del gen RRS por QPCR no se observó ningún cambio significativo ( $p < 0,05$ ) durante 96 h de fermentación del Kéfir, mientras que el grano presentó un aumento de copias de ADN en 24 h, seguido por una reducción en las horas siguientes. Sin embargo, cuando se cambió el sustrato, hubo un aumento en la cuantificación del gen en los granos, seguido por una reducción en los días posteriores. En contraste, en la bebida la cuantificación del gen aumentó después del segundo día.

**Conclusiones.** Se concluye que las bacterias predominantes de la leche cruda no se incorporaron a los granos y/o Kéfir y que fue necesaria una recuperación de los granos después de una larga fermentación, para posterior transferencia de su microbiota para la bebida.

### TLP-445. *Acinetobacter* spp.: caracterização fenotípica da adesão e formação de biofilme

Andrea Meneses\*, Maria Rosa Quaresma\*, Francielle Costa\*,  
Luis Henrique Bastos\*, Sirlei Garcia\*, Thiago Feitosa\*,  
Patricia De Maria S.\*

\*Uniceuma Brasil.

**Introdução.** *Acinetobacter* spp. são bactérias inerentemente virulentas que têm emergido nas últimas décadas como agentes causadores de sérias contaminações nosocomiais. Para tanto, nosso estudo averigou a capacidade de adesão a materiais inertes e célula humana HEP-2 e a formação de biofilme como provável fator de risco no desenvolvimento de infecções causadas por *Acinetobacter* spp.

**Materiais e métodos.** Cinquenta amostras de *Acinetobacter* spp. foram utilizadas para constatar os fatores de virulência em estudo. O teste de hidrofobicidade das amostras foi realizado com seis diferentes concentrações de sulfato de amônio (0,5 m, 1 m, 1,5 m, 2 m, 2,5 m e 3 m). A detecção fenotípica das cepas produtoras de biofilme foi analisada a formação de capsula como fator presuntivo pelo método de semente em ágar vermelho congo (AVC) e espectrofotometria. Os testes de adesão a matérias inertes (vidro, látex siliconada e aço inox) e célula humana HEP-2.

**Resultados.** Do total dos isolados 34 amostras (68%), mostraram-se hidrofóbicas em 3 diferentes concentrações de sulfato de amônio. Quanto a formação de capsula 16 (35%) e 23 (46%) possuem habilidade de produção de biofilme por espectrofotometria. Considerando o perfil de adesão a matérias inertes; vidro 37 (74%), látex siliconado 42 (84%) e aço inox 34 (74%) e em célula humana hep-2 34 (68%). *Acinetobacter* spp. possui alta capacidade de sobreviver condições hostis, aderirem e formar biofilme em superfícies, bióticas e abióticas.

**Conclusões.** Os resultados sugerem que entre os fatores aqui avaliados, as cepas de *Acinetobacter* spp. possuem um potencial patogênico.

### TLP-446. Effect of salinity on the radial growth and ultrastructure of *Aspergillus niger* isolated from the soil Caatinga- PE, Brazil

Grayce Kelli Barbosa Da S.\*, Jaceline Maria Negreiros L.\*,  
Adriana Ferreira De S.\*, Manuela Cristina Mota L.\*, Davi De Lima C.\*,  
Marcos Antonio Calvacanti L.\*, Paulo Henrique Da Silva\*, Galb\*

\*Universidade Federal De Pernambuco Brasil.

**Introduction.** Fungi of the Caatinga region are poorly understood and deserve special attention by the potential they represent, justifying studies in search of species or isolates capable of degrading and synthesizing compounds used in biotechnological processes. This study aimed to perform physiological tests with *Aspergillus niger* sis 45-2 strain isolated from soil of Caatinga-PE, in order to test their biotechnological potential and morphological assessment against the salt concentration.

**Materials and methods.** The colonies were subjected to growth in petri dishes containing sabouraud and sodium chloride in concentrations of 2.5 and 12.5% respectively and incubated at 28°C for 72 h. The colony diameter was calculated using the equation ( $D = 2r - D$ ),  $D$  = diameter growth;  $R$  = radius of growth;  $D$  = diameter of the inoculum. To analyze the effect of NaCl concentration and ultrastructural analysis of the isolate were made by scanning the control hyphae without the addition of salt and expose to different concentrations of NaCl electron microscopy. The experiments were performed in triplicate.

**Results.** The colony development revealed halotolerant behavior, with the increase of salt concentration observed in the growth, but with smaller diameter. The ultrastructural analysis by scanning electron microscopy allowed to detect changes in the density of the mycelium, the standard eletrodensity texture cell surface, the thickness of the hyphae and sporulation compared to the control culture.

**Conclusions.** This study showed that high NaCl concentrations directly influence the morphology of *A. niger*, but not inhibited its growth, revealing their potential use in biotechnological processes that occur in these conditions.

### TLP-447. Determinación de las bacterias ácido lácticas y enterobacterias existentes en tres porciones del intestino de lechones por destete

Cindy Paola Mosquera\*, Johana Andrea Ciro\*,  
Jaime Eduardo Parra\*, Olga Inés Montoya\*

\*Universidad Nacional De Colombia.

**Introducción.** La morbimortalidad de los lechones, es una situación creciente, lo que se refleja en una baja rentabilidad en la industria porcina, por lo tanto, se hace necesario, la implementación en su dieta de bacterias ácido lácticas (BAL) con propiedades probióticas. Las BAL son un consorcio de microorganismos benignos que producen una serie de compuestos tales como ácidos orgánicos, bacteriocinas, entre otros que ayudan a inhibir y controlar patógenos como: *Salmonella typhimurium*, algunas subespecies de *Escherichia coli*, y espiroquetas intestinales como *Brachyspira hiodysenteriae*, *Brachyspira pilosicoli*, entre otros; que atacan principalmente a los cerdos. Las BAL pueden encontrarse fácilmente en la naturaleza y como microbiota natural del intestino de humanos y de algunos animales que han sido alimentados con prebióticos. Objetivos. Aislar e identificar BAL de tres porciones de intestino y de heces de lechones por destete así como realizar el recuento de las mismas en (UFC/g). Realizar la identificación de bacterias de la familia *Enterobacteriaceae*.

**Materiales y métodos.** Se tomaron muestras de intestino delgado, ciego, colon y de heces, a 6 lechones destetados, para los análisis microbiológicos y se inocularon en medios de cultivo selectivos para enterobacterias y BAL por el método de siembra en superficie. A cada colonia se le evaluaron las características morfológicas mediante microscopio y estereoscopia, y al final se identificaron por medio de los kit API 20e y API50 CHL.

**Resultados.** Se aislaron 4 cepas, dos BAL identificadas como: *Lactobacillus fermentum* y *Lactobacillus helveticus*, y dos de la familia *Enterobacteriaceae*: *Citrobacter freundii*, y *Escherichia Coli*.

**Conclusiones.** Los aislados de las BAL que se obtuvieron de las heces y de las tres porciones del intestino de lechones, son considerados como probióticos, mientras que los aislados entéricos, son microbiota saprofita del intestino en estos animales.

### TLP-448. Influence of quorum sensing on the biofilm formation by *Salmonella enterica* serovar enteritidis

Felipe Alves De A.\*, Lays Fernandes Melo M.\*, Uelinton Manoel  
Pinto\*, Leandro Licursi De O.\*, Maria Cristina Dantas V.\*

\*Universidade Federal De Viçosa, Brasil.

**Introduction.** The quorum sensing (QS) is a communication mechanism between microbial cells, leading to differential expression of genes in response to changes on the population density. Studies have shown that QS regulates a variety of phenotypes, including the biofilm formation, bioluminescence, cell differentiation, competence, motility and expression of virulence genes. N-ACYL homoserine lactones (AHLs) are class 1 of autoinducers (AI-1) that are used by Gram-negative bacteria in itself communication. Some bacteria, such as *Salmonella*, do not produce AHLs, but are able to detect and respond to AHLs produced by other bacterial species or even synthetic AHLs. In this study, we evaluated the influence of N-dodecanoyl homoserine lactone (C12-HSL) and furanones (AHLs analogs) on the planktonic growth, adhesion and biofilm formation of *salmonella enterica* serovar enteritidis pt4 578 on polystyrene surface under anaerobic environment.

**Materials and methods.** To evaluate the planktonic growth, adhesion and biofilm formation, bacterial cells were inoculated into tryptic soy broth (tsb), prepared in anaerobic conditions and added of 50 nm C12-HSL and/or furanones. The cultures were incubated at 37°C, for 36 h. The absorbance at 600 nm, the adhesion potential and biofilm formation on microplates, the enumeration of adhered cells and visualization by confocal epifluorescence microscopy were determined after 2, 7, 24 and 36 h of incubation.

**Results.** The planktonic growth and initial adhesion were not altered in presence or absence of 50 nm C12-HSL and/or furanones. However, the biofilm formation after 36 h of cultivation was induced in presence of C12-HSL, in accordance with analyzed parameters. The antagonistic effect of furanones was also determined by using the same conditions.

**Conclusions.** The results demonstrated a link between ahl and biofilm formation by salmonella. Considering that salmonella do not produce AHLs, this result suggests that other bacterial species that produce this inducer molecule enhanced biofilm formation by this pathogen.



### TLP-449. Using molecular phylogeny and complex networks to infer evolutionary relationship among cyanobacterial FTSHS

Lenon Lenon Lima De Santana\*, Daniel Santana De Carvalho\*,  
Denniffer Costa Brandão\*, Gilberto Cafezeiro Bomfim\*,  
Charbel Niño El-Hani\*, Phellippe Arthur Santos M.\*

\*Universidade Federal Do Recôncavo Da Bahia, Brasil.

**Introduction.** Cyanobacteria possessing two or more copies of genes encoding FTSH (filamentation temperature sensitive). These proteins are involved in photosynthetic metabolism and previous studies showed that they are phylogenetically and functionally related to plastidial FTS-HS. Despite its importance, the evolutionary history of cyanobacteria ftsHS remain to be elucidated. Here we studied the evolutionary history of cyanobacterial ftsHS using two approaches, molecular phylogeny and complex networks.

**Materials and methods.** Initially, a blastp and tblastn search analysis for genes encoding ftsH protein was performed in 1439 prokaryotic genomes completely sequenced available at NCBI (national center for biotechnology information) representing 35 bacterial phyla, including 66 cyanobacterial genomes of all orders of cyanobacteria. The 1703 nucleotide sequences retrieved were aligned and nucleotide and protein maximum likelihood trees were generated in mega 6.06 software. Also the complex networks approach was used to evaluate the community structure of the 267 nucleotide sequences encoding ftsHS retrieved from the cyanobacterial genomes analyzed. The critical networks were studied to both nucleotide and protein sequences.

**Results.** According to the phylogenetic analysis the cyanobacterial FTSHS falls in two unrelated groups in both, nucleotide and protein trees. One group, named CBFTSH1 is phylogenetically related to protobacterial FTSHS. The second group contains three isoforms, named CBFTSH2, CBFTSH3 and CBFTSH4, originated from two duplication events. As seen on the networks, nucleotide and protein sequences show the same community structure, where CBFTSH1 forms a disconnected community, and CBFTSH2, CBFTSH3 and CBFTSH4 are grouped together in one community. This result corroborated that one obtained by phylogenetic analyses and show that complex networks approach can be used to infer phylogenetic relationships among paralogous genes or proteins.

**Conclusions.** Based on our results we infer that the evolutionary events that originated the four basic isoforms of cyanobacterial FTSHS occurred in the ancestor of cyanobacteria.

### TLP-450. Efecto de factores de virulencia de *Lactobacillus casei* sobre viabilidad celular y producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en *Streptococcus sanguinis*: un colonizador temprano del biofilm dental en ausencia de caries

Carla Lozano\*, Jens Kreth\*, Claudia Lefimil\*, Blanca Urzúa\*,  
Irene Morales\*, Víctor Cifuentes\*

\*Universidad De Chile Y University Of Oklahoma  
Health Sciences Center (J. Kreth). Chile.

**Introducción.** El género *Lactobacillus* coloniza la cavidad oral humana y su presencia aumenta considerablemente en la condición de caries. Estas bacterias secretan ácidos (láctico y acético) producto de su metabolismo, por lo que son uno de los causantes del bajo pH que propiciaría el desarrollo de la caries dental. La interacción de *L. casei* con *S. sanguinis* en el biofilm cariogénico ha sido pobremente estudiada. El objetivo de este trabajo es determinar el efecto del ácido láctico producido por *L. casei* sobre la expresión del gen SPXB y la proteína SPXB asociada a la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en *S. sanguinis*, una bacteria benigna para la salud oral.

**Materiales y métodos.** Se realizaron ensayos de competencia en medio BHI sólido suplementado con dextrosa con las bacterias a testear, esto es: *L. casei* ATCC 334 y *S. sanguinis* SK36. Se incubaron en microaerofilia a 37°C durante 24 h. A *S. sanguinis* se le realizó un MIC test y curvas de crecimiento con ácido láctico para determinar viabilidad celular, expresión del gen SPXB mediante RT-QPCR, proteína SPXB mediante WB. Blot y producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mediante espectrofotometría.

**Resultados.** Hubo inhibición del crecimiento de *S. sanguinis* en la zona proximal con *L. casei*. Se determinó que 20 mm de ácido láctico es la

MIC para *S. sanguinis*. La viabilidad celular disminuye un 30%. La expresión relativa del gen SPXB disminuye 40% en cultivos de *S. sanguinis* suplementados con ácido láctico respecto al control. La expresión de la proteína SPXB y la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no presenta diferencias en ambas condiciones.

**Conclusiones.** *L. casei* inhibió el crecimiento de *S. sanguinis*. El ácido láctico afecta la viabilidad celular y la expresión del gen SPXB en *S. sanguinis*.

### TLP-451. Caracterização da sobreposição funcional das proteínas de choque frio com CSPC em *Caulobacter crescentus*

Juliana Da Silva S.\*, Ricardo Mazzon\*, Marilis Do Valle M.\*

\*Universidade De São Paulo (USP) Brasil.

**Introdução.** O choque frio em bactérias causa a indução de proteínas de choque frio de baixo peso molecular (CSPS), que desestabilizam estruturas secundárias do mRNA, permitindo sua tradução. As CSPS pertencem a uma família de proteínas com um domínio altamente conservado, denominado domínio de choque frio (CSD). Em proteínas de choque frio de alfa proteobactérias ocorre uma estrutura duplicada deste domínio, até então não encontrada em outros grupos de bactérias. *C. crescentus*, uma B-proteobacteria não patogênica, possui em seu genoma quatro genes codificando CSPS: CSPA, CSPB, CSCP e CSPD. CSPA e CSPB são expressas durante o choque frio. CSCP e CSPD são expressas em fase estacionária. Assim como CSPD, a proteína CSCP apresenta dois domínios CSD, além de ter sido a primeira proteína de choque frio descrita como sendo essencial. Este trabalho tem como objetivo o estudo da compensação funcional das proteínas de choque frio e da importância dos domínios CSD duplicados em CSCP de *Caulobacter crescentus*.

**Materiais e métodos.** Sabendo que CSCP é importante para a resposta a estresse oxidativo, analisamos se apenas um domínio CSD de CSCP, ou as proteínas CSPB ou CSPD complementam o fenótipo de sensibilidade aos compostos H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e paraquat observados em ΔCSPC. Para isso, foram realizadas construções contendo o domínio I ou II de CSCP ou as regiões codificadoras de CSPB e CSPD sob controle da região promotora de CSCP. As construções no vetor pmr20 foram inseridas no mutante ΔCSPC.

**Resultados.** Através de ensaios de viabilidade, foi observado que nenhuma das construções complementam totalmente os fenótipos de sensibilidade a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e paraquat.

**Conclusões.** Indicando que somente um dos domínios ou CSPB e CSPD, não complementam a função de CSCP em *Caulobacter crescentus*.

### TLP-452. Caracterização dos fatores de virulência em cepas de *Escherichia coli* uropatogênicas isoladas de gestantes, São Luís/MA

Roseane Lustosa\*, Andreia Meneses\*, Enzo Elder\*,  
Adriana Mendonça\*, Waldleno Augusto Silva\*,  
Silvio Gomes\*, Waldleno Augusto Silva\*

\*Uniceuma, Brasil.

**Introdução.** Infecção do trato urinário (ITU) é uma das principais causas de consulta médica, na gestação, e é de grande importância em função de sua elevada incidência neste período da vida da mulher e grande patogenicidade podendo afetar mãe e feto. Objetivou-se neste trabalho caracterizar a presença de diferentes fatores de virulência em 36 cepas de *E. coli* uropatogênicas isoladas de gestantes e conhecer o perfil epidemiológico das gestantes.

**Materiais e métodos.** Os isolados foram avaliados quanto sua capacidade de adesão, pesquisar a presença e os tipos de fimbrias dos isolados, formação de biofilme, quanto a atividade tóxica com análise hemolítica, assim como realização de testes de citotoxicidade em células hela, analisar os fatores de virulência através de biologia molecular.

**Resultados.** A maioria das gestantes apresentavam faixa etária entre 21 – 30 anos, ensino médio completo, união estável, não apresentavam renda, eram assintomáticas, porém o sintoma mais enfatizado quando sentiram foi a dor pélvica. Em relação às fimbrias 32,5% apresentam fimbrias tipo 1. Através da PCR encontrou-se 39,9% apresentou sequências relacionadas para os fatores estudados, sendo a maioria para CNF1 e

fimbrias tipo P. Para detección de biofilme obtuvo-se 84% positivas em vermelho congo e em espectrofotometria a positividade foi de 86,1%. Quanto a atividade hemolítica, 64% apresentaram positivas em sangue de carneiro e 56% em sangue de cavalo e para atividade citotóxica em células hela apresentou 40%. Os antibióticos mais eficazes contra *E. coli* uropatogênica em gestantes durante a análise foram ciprofloxacino em 100% das amostras e gentamicina com 97,23%.

**Conclusões.** Todas as amostras apresentaram ao menos um fator de virulência analisado, assim o conjunto dos dados obtidos traz uma contribuição para o esclarecimento dos aspectos biológicos destes uropatógenos circulantes na comunidade, o que é relevante, considerando a limitação destas informações em nosso meio.

### TLP-453. Biofilm formation of the endophyte *Methylobacterium mesophilicum* SR1.6/6 in citrus host plant

Manuella Nóbrega D.\*, Aline Aparecida Camargo Das N.\*,  
Mônica Lanzoni R.\*, Daíene Souza S.\*, Jennifer Katherine  
Salguero-Londoño\*, Wellington Luiz De Araújo\*

\*Universidade De São Paulo, Brasil.

**Introduction.** *Methylobacterium mesophilicum* SR1.6/6 is a pink pigmented bacteria able to use methanol as only carbon source, being facultative methylotrophic, interacting symbiotically with different plant species, it was previously isolated endophytically from citrus, promoting plant growth and inhibiting a citrus pathogens growth. However, the mechanisms of how this interaction initiate is not elucidated. Objective: this research aimed to monitor *M. mesophilicum* SR1.6/6 colonization in citrus plant.

**Materials and methods.** Biofilms formation in citrus roots was observed with scanning electron microscope (SEM) and *M. mesophilicum* sr1.6/6 cells were quantified in root and shoot using QPCR 1, 3 and 5 days after inoculation (DAI).

**Resultados.** results shows that *M. mesophilicum* SR1.6/6 colonizes roots, 1 dai we observed bacterial cells adhered to citrus root, but only 3 dai the biofilm formation was observed and 5 dai we could see a mature biofilm in the host plant root. The QPCR quantification of *M. mesophilicum* SR1.6/6 confirms that this endophyte colonizes roots, and 1, 3 and 5 dai does not present a significant increase in bacteria cell number, probably just a biofilm maturation. In shoot quantification, we can see that the endophyte colonize the plant and moves towards the shoot, increasing bacterial numbers 3 and 5 DAI.

**Conclusions.** Thus, these results confirm that *M. mesophilicum* SR1.6/6 colonizes citrus host plant and reports that this bacterium needs 3 DAI to establish a biofilm in plant root and after that the endophyte is able to colonize the inner of the plant and increase its population in plant shoot.

### TLP-454. Diseño y evaluación de un gen sintético codificante de toxina eucariota como normalizador en análisis funcionales de compuestos antimetabólicos provenientes de librerías metagenómicas

Alvaro Mongui\*, Francy J. Perez-Llanos\*, Howard A. Junco\*

\*Rg Microbial Ecology: Metabolism, Genomics And Evolution Of Communities Of Environmental Microorganisms. Corpogen. Bogotá, Colombia.

**Introducción.** La quimioterapia contra las infecciones parasitarias con *Plasmodium falciparum* está perdiendo eficacia de forma alarmante y progresiva debido al aumento en los casos de resistencia del parásito a las drogas de uso actual. La diversidad microbiana representa un gran potencial como posible fuente de péptidos y metabolitos en la búsqueda urgente de nuevas actividades antimetabólicas para hacer frente a esta enfermedad. Por esta razón la metagenómica ha surgido recientemente como un grupo de estrategias para superar las limitaciones inherentes a la recuperación, caracterización y análisis funcional de la diversidad microbiana por métodos dependientes de cultivo. Por lo tanto los estudios de metagenómica funcional enfocados a identificar compuestos antimetabólicos resultan promisorios, siempre y cuando se incluyan los respectivos controles de experimentación pertinentes.

**Materiales y métodos.** En este estudio se realizó el diseño *in silico* y la construcción del gen sintético codificante del péptido antimetabólico

dermaseptin 4, cuya expresión recombinante puede ser controlada con precisión en *E. coli* al estar en contexto de ADN plasmídico o al interior de un inserto metagenómico en un fósido.

**Resultados.** Extractos totales bacterianos de *E. coli* expresando el péptido dermaseptin 4 exhibieron actividad antimetabólica significativa comparados con controles negativos equivalentes, permitiendo usar dichos clones como controles positivos de actividad antiparasitaria en futuros análisis funcionales de librerías metagenómicas.

**Conclusiones.** Este estudio permite validar la viabilidad de los análisis encaminados a identificar compuestos antimetabólicos albergados en metagenomas, ya que facilita la expresión recombinante de un péptido antimetabólico y su detección fenotípica en conjunto con las demás moléculas del extracto bacteriano. La aplicación de esta herramienta genética facilitará el análisis a mediana y/o gran escala de clones metagenómicos para la identificación de compuestos novedosos contra la malaria provenientes de la biodiversidad microbiana por métodos independiente del cultivo del organismo en que dicha función es codificada.

### TLP-455. Antibiofilm activity of red pepper *Capsicum baccatum* against pathogenic bacteria

Karine Rigon Zimmer\*, Alexandre José Macedo\*,  
Grace Gosmann\*, Aline Rigon Zimmer\*

Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul Brasil.

**Introduction.** Biofilms are involved in a multitude of different infections and often contribute significantly to the difficulties encountered in treatment. It is increasingly evident that alternative strategies are needed to combat drug-resistant organisms. The red pepper capsicum baccatum var. Pendulum is widely consumed in South America, especially Brazil, but there are few reports in the literature about its chemical composition and biological properties. In this study we evaluated the potential of *C. baccatum* extracts in inhibiting biofilm of clinical relevance bacterial species.

**Materials and methods.** The fruit and seeds of *C. baccatum* were submitted to successive extractions using dichloromethane, n-butanol and water. The organic solvents and water were evaporated to obtain eight extracts from fruit and seeds. *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Enterobacter cloacae* were utilized as biofilm-forming bacterial models. The biofilm formation was evaluated by crystal violet method and bacterial growth was monitored by absorbance at 600 nm. The most active extract was selected to perform scanning electron microscopy (SEM).

**Results.** The aqueous extract from seeds (AQS) significantly inhibited the biofilm of *S. epidermidis* and *P. aeruginosa*. The dose-response curve showed that AQS, in a concentration of 4 mg/mL, was able to inhibit in 80% and 60% *S. epidermidis* and *P. aeruginosa* biofilm, respectively. Interestingly, AQS did not inhibit the growth of these bacteria, indicating that the inhibition of biofilm is independent of bacterial cell death. However, aqs was not active against the biofilm of other models tested. The images of sem corroborated the results obtained by crystal violet method. In samples treated with AQS, only small clusters or individual bacterial cells were visualized.

**Conclusions.** This study shows that *C. baccatum* represents a promising source of active compounds. AQS is being submitted to various chromatographic separations for the purpose of isolation and elucidation of the antibiofilm compound.

### TLP-456. Inoculantes microbianos agrícolas: una fase preliminar de pruebas para la eficiencia microbiana en cultivos de albahaca

Gustavo Eugenio Echeverri J.\*, Karina Andrea Rios M.\*

\*Universidad San Buenaventura - Cartagena, Colombia.

**Introducción.** Las bacterias benefician suelos agrícolas con efectos solubilizadores y productores fitohormonas-antagonistas, aumentando crecimiento y producción vegetal. Con suelos-albahaca, se probaron condiciones para protocolo preliminar en obtención de inóculo; se mostraron mejoras de crecimiento frente a tipo de medio y tiempo de

crecimiento. Morfología por gram y pruebas de eficiencia de germinación, buscando tiempos menores y longitudes mayores (radículas-hipocótilos). Estas técnicas llevan a mejora en eficiencia de inóculos y al desarrollo de biotecnología microbiana y agricultura sostenible. Probar condiciones microbiológicas para un protocolo preliminar en busca de eficiencia y productividad.

**Materiales y métodos.** Suelo de 5 cultivos, se probaron en medios Muller-MH, Waskman-W, Pikoskava K-PK, Pikoskava P-PP y ASHBY-A; se ensayaron crecimientos en caldos, para estandarizar preparación de muestras y cinética-520 nm; el tipo de microorganismos se verificó con gram; pruebas de germinación en cajas petri preparadas para inocular caldos en diferentes tiempos de crecimiento, generando tiempos de germinación y medidas de radículas (RD) e hipocótilos (HP).

**Resultados.** Hubo cambios turbidez-color en caldos día1; los medios W y PP con más carga y variedad morfológica de CB gram(-), B gram(+) y levaduras, comparado con PK y A. Absorbancias, mostraron altos crecimientos en MH, y menores en W, PK, PP y A. Las cinéticas en W revelaron fase exponencial día3. Hay tiempos de germinación y longitudes según suelo, siendo el pool el menor (W y PK). Germinación con inóculos en diferentes tiempos iniciaron día3 con tendencia al aumento hasta día15.

**Conclusiones.** Medio W, el mejor en cinéticas, mostrando que el día3 presenta fase logarítmica, con dominancia de CB gram(-) y B gram(+); menores tiempos en germinación del pool; medio a (3.27 d) con promedios generales menores. Al día3 se presentó germinación, igual que cinética. Mayores longitudes de HP que RD en forma general y promedios generales muestran tendencia al aumento hasta día15.

### TLP-457. Caracterização probiótica *in vitro* de lactobacilos isolados do ecossistema vaginal de Mulheres saudáveis para uso no tratamento de infecções vaginais

Carolina Maria De Araújo Dos S.\*<sup>1</sup>, Marisleydys Llanes R.\*<sup>2</sup>,  
Maria Cecília Viana Pires\*<sup>3</sup>, Lilian Sanchez M.\*<sup>4</sup>, Flaviano  
Dos Santos M.\*<sup>5</sup>, Jacques Robert Nicolli\*<sup>6</sup>

\*Laboratório De Ecologia E Fisiologia Microbiana, Departamento De Microbiologia, Instituto De Ciências Biológicas, Universidade Federal De Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. Centro Nacional De Sanidad Agropecuária (CENSA), Brasil.

**Introdução.** Os *Lactobacilos* são micro-organismos predominantes no trato vaginal de mulheres saudáveis em menacme e certas propriedades dessas bactérias são importantes para conferir proteção contra patógenos. A administração de probióticos que contenham linhagens selecionadas de *Lactobacillus* pode ser uma maneira efetiva na restauração da microbiota normal em caso de desequilíbrio, auxiliando na prevenção ou tratamento de infecções. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial probiótico *in vitro* de lactobacilos isolados do ecossistema vaginal de mulheres saudáveis para uso em vaginose bacteriana (VB) e candidíase vulvovaginal (CVV).

**Materiais e métodos.** Vinte e três linhagens de *Lactobacillus* sp. isoladas do trato vaginal de mulheres saudáveis pelo Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria de Cuba foram testadas quanto a atividade antagonista contra *Gardnerella vaginalis* (VB); *Candida albicans*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. tropicalis* e *C. glabrata* (CVV) pelo método de difusão em sobrecamada. As linhagens positivamente selecionadas foram testadas quanto a capacidade de acidificação do meio pela medida do pH, produção de peróxido de hidrogênio em ágar TMB-plus, adesão por formação de biofilme em microplacas de poliestireno, índice de coagregação com patógenos por observação em microscópio óptico e susceptibilidade a antimicrobianos por disco-difusão.

**Resultados.** Oito linhagens foram selecionadas com base em sua atividade antagonista contra *G. vaginalis* (2), *C. albicans* (4) ou ambas (2). Todas essas linhagens foram capazes de acidificar o meio, positivas para a produção de peróxido de hidrogênio e formação de biofilme e sensíveis a maioria dos antimicrobianos testados. O índice de coagregação foi variável, duas linhagens apresentaram um alto índice para *G. vaginalis*, três para *C. albicans* e três para ambas.

**Conclusões.** Nossos resultados sugerem que essas linhagens possuem um potencial probiótico promissor e serão posteriormente utilizadas em modelos *in vivo* para elaboração de formulações para uso em infecções vaginais.

### TLP-458. Polimorfismo de nucleótido simple explicaría diferencia transcripcional del gen RDL1 entre cepas vnicas Chilenas

Carlos Alberto Rosales V.\*<sup>1</sup>, Maria Angélica Ganga M.\*<sup>2</sup>,  
Claudio Andrés Martínez F.\*<sup>3</sup>

\*Laboratorio De Microbiología Aplicada Y Biotecnología,  
Departamento De Ciencia Y Tecnología De Alimentos,  
Universidad De Santiago De Chile (USACH). Chile.

**Introducción.** *Saccharomyces cerevisiae* es una levadura utilizada industrialmente en la fermentación de mosto de uva y las diferencias en el vino producido se deben a variaciones en el fenotipo de la cepa utilizada en la fermentación. Un estudio transcripcional entre cepas hermanas con diferencias en el consumo de nitrógeno, descendientes del cruce de dos cepas vnicas nativas de Chile, demostró que existen diferencias en los niveles de transcrito de varios genes, entre ellos RDL1. El objetivo de este trabajo es determinar las diferencias genómicas que puedan explicar las diferencias transcripcionales de RDL1.

**Materiales y métodos.** Análisis *in silico* del contexto genético del gen RDL1 utilizando un genoma de referencia como base y programas en línea para hacer la búsqueda predictiva de marcos de lectura abiertos, caja TATA, promotor y factores transcripcionales. Con el DNA genómico de las cepas hermanas AC19, AC114 y AC115, se realizó la secuenciación y el posterior alineamiento de los alelos *in silico*. Mediante extracción de RNA y QPCR se evaluaron los niveles de transcritos de RDL1 entre estas cepas hermanas en diferentes concentraciones de nitrógeno en el mosto.

**Resultados.** En la región intergénica se identificaron una caja TATA, una zona promotora y varios sitios de unión a factores transcripcionales. La secuenciación del gen en las cepas hermanas permitió determinar la presencia de varios polimorfismos en la región reguladora del gen y uno en el sitio de unión al factor transcripcional YAP1, ubicado río abajo de la caja TATA. Los mayores niveles de transcrito corresponden a la cepa con el alelo sin el sitio consenso YAP1. También se observó que la cantidad de transcrito RDL1 varía con la concentración de nitrógeno.

**Conclusiones.** El polimorfismo de nucleótido simple presente en el sitio de unión al factor transcripcional YAP1 en la región reguladora del gen RDL1, explicaría las diferencias transcripciones entre las cepas en estudio.

### TLP-459. Isolation and characterization of yeasts in mangrove sediments of the rio Formoso, Pernambuco

Daylin Rubio R.\*<sup>1</sup>, Deborah De Souza P.\*<sup>2</sup>, Rosileide Fontenele Da Silva\*<sup>3</sup>, Dayana Montero R.\*<sup>4</sup>, Goretti Sonia Silva\*<sup>5</sup>, Paulo Henrique Da Silva\*<sup>6</sup>, Thayse Alves De Lima E. Silva\*<sup>7</sup>

\*Center Of Biological Sciences, Federal University Of Pernambuco,  
Nucleus Of Research In Environmental Sciences And Biotechnology,  
Catholic University Of Pernambuco Brasil.

**Introduction.** In mangrove sediment communities, substantial fungal populations exist as part of the vast microbial diversity involved in detritus processing. Yeasts play a role in maintenance of soil, nutrient cycles and mineralization processes. For its great potential biotechnological applications, bioprospecting of yeast of genera candida in natural environments such as mangroves has been stimulated. The aims of this work were isolate and identify yeasts of the genera candida seeking knowledge of the microbiota of the mangrove sediments of the rio formoso (pernambuco) for its future biotechnological application.

**Materials and methods.** Samples were collected and subjected to isolation of yeasts using the method of serial dilution in sabouraud medium with chloramphenicol (0.01%), incubated at 28°C for 7 days, with observations every 24 h. After growing, yeast cells were transferred to petri dishes containing sabouraud medium in order to confirm purity of the cultures. The isolated microorganisms were preliminarily identified as genus, based on morphological and biochemical characteristics in medium chrom agar candida.

**Results.** Twenty yeast isolates were obtained from the isolation in sabouraud medium. *Candida* was found to be the major genera (75%) in growth on chrom agar.

**Conclusions.** Important studies like this are for the characterization of the microbiota in ecological environments, in order to identify local biodiversity and from there, determine the skills and biochemical and physiological potential of yeasts for application future.

### TLP-460. Identificación de bacteriocinas procedentes de bacterias lácticas con poder antagonista contra *Helicobacter pylori*

Melissa Portilla\*, Amalia Muñoz-Gómez\*, Elizabeth Escobar\*, Mauricio Corredor\*

\*Grupo Genética y Bioquímica De Microorganismo (Gebiomic), Instituto De Biología, Facultad De Ciencias Exactas y Naturales, Universidad De Antioquia Colombia.

**Introducción.** Las bacterias lácticas tienen la capacidad de producir sustancias como las bacteriocinas, estas son proteínas normalmente de bajo peso molecular y con un alto carácter antibacterial. Se ha demostrado la actividad antibiótica de las bacteriocinas sobre bacterias patógenas como *H. pylori*. La purificación por cromatografía es un proceso eficiente para fraccionar las proteínas de bajo peso molecular como las bacteriocinas. Por otra parte el secuenciamiento de genomas bacterianos completos ha acelerado la búsqueda de bacteriocinas. Objetivo: determinar, identificar y aislar bacteriocinas (bacteriostáticas o bactericidas) producidas por bacterias lácticas, antagonistas de *Helicobacter pylori*.

**Materiales y métodos.** Se realizaron antagonismos de bacterias lácticas con *H. pylori*, usando cepas *Lactobacillus casei* UNCIB001, *Lb. paracasei* UNCIB002, *Lb. cellobiosus* UNCIB003, *Lb. casei* ssp UNCIB004, *Lb. salivarius* UNCIB005 y *Leuconostoc mesenteroides* GBM001. Se realizaron igualmente antagonismos de extractos proteicos de bajo peso molecular. Las bacteriocinas fueron aisladas de extractos de proteínas, las cuales fueron sometidas a electroforesis para conocer sus pesos moleculares y fraccionadas por cromatografía en columna sephadex. Las proteínas purificadas fueron probadas con *H. pylori* en medio agar sangre. En el genoma completo de la cepa *L. mesenteroides* GBM001 se corroboraron más de 30 diferentes bacteriocinas del banco bagle, base de datos de Holanda.

**Resultados.** Se ha observado que las cepas UNCIB001, UNCIB002, UNCIB003, UNCIB004, UNCIB005 y GBM001 presentan un efecto inhibitorio sobre *H. pylori*, mostrando halos de inhibición. En las fracciones y extractos de proteínas obtenidos de las cepas anteriores, encontramos que solo UNCIB002, UNCIB003, UNCIB004 y GBM001 formaron halos de inhibición contra *H. pylori*. Los geles SDS-page permitieron observar proteínas de bajo peso molecular. El secuenciamiento del genoma de GBM001 permitió detectar genes de varias bacteriocinas y sus respectivos pesos moleculares.

**Conclusiones.** Se lograron identificar bacteriocinas y sus genes codificantes, logrando además determinar el efecto bacteriocinogénico de éstas.

### TLP-461. Biorremediación de lodos contaminados con lindano por un consorcio definido de actinobacterias. Efecto de la estimulación con medios de cultivos complejos

María Soledad Fuentes\*, Juliana María Saez\*, Enzo Emanuel Raimondo\*, Alvaro Juarez Cortes\*, Verónica Leticia Colin\*, Marta Alejandra Polti\*, Claudia Susana Benimeli\*, María Julia Amoroso\*

\*Planta Piloto De Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI) Argentina.

**Introducción.** Lindano fue uno de los plaguicidas organoclorados más utilizados en el pasado y aunque actualmente su uso está prohibido y/o restringido aún se encuentran sus residuos contaminando diferentes ambientes, debido a sus características recalcitrantes, por lo que resulta fundamental la remediación de sitios contaminados. El uso de consorcios de actinobacterias en sistemas de lodos representa una tecnología promisoría de biorremediación *ex-situ*. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad de un consorcio de actinobacterias para biorremediar lodos contaminados con lindano, en sistemas de cultivo en lote con y sin estimulación.

**Materiales y métodos.** El consorcio *Streptomyces* A2-A5-A11-M7 fue inoculado en lodos formulados con suelo-H<sub>2</sub>O (sin estimular) o suelo-TSB (estimulado), contaminados con lindano (1,66 mg L<sup>-1</sup>). En todos los casos se determinó crecimiento microbiano (UFC mL<sup>-1</sup>), tiempo de duplicación (TD), concentración de lindano residual (mgL<sup>-1</sup>), liberación de iones Cl<sup>-</sup> (%) y variación de pH.

**Resultados.** En lodos sin estimular, el crecimiento microbiano y el TD no presentaron diferencias significativas en presencia o ausencia de lindano. En los lodos contaminados se detectó un 21,3% de remoción del

plaguicida, un incremento de iones Cl<sup>-</sup> y un descenso del pH asociado a la degradación del mismo. En lodos estimulados con TSB el crecimiento microbiano fue similar en presencia o ausencia del plaguicida hasta las 72 h de incubación, luego continuó incrementando en los lodos sin contaminar. El TD en presencia o ausencia del plaguicida no presentó diferencias significativas. Sin embargo no se observó remoción de lindano, liberación de iones Cl<sup>-</sup> ni variaciones en el pH del lodo.

**Conclusiones.** La remoción de lindano por el consorcio de actinobacterias se ve favorecida en sistemas de lodos sin estimulación. Estos resultados podrían generar ventajas económicas ya que al emplear un consorcio sin requerimientos adicionales de nutrientes para remover lindano, se disminuirían los costos del proceso de remediación.

### TLP-462. Estudio de la diversidad genética y las capacidades metabólicas de un consorcio degradador de fenantreno inoculado con una cepa competitiva

Marianela Macchi\*, Sabrina Festa\*, Morelli Irma\*, Coppotelli Bibiana\*

\*CINDEFI UNLP-CONICET Argentina.

**Introducción.** El estudio de consorcios microbianos, permite mejorar las estrategias para monitorear, descubrir e identificar nuevas bacterias o genes catabólicos involucrados en la degradación de xenobióticos. Este trabajo estudia la efectividad de un consorcio para degradar PAH y los cambios producidos en su estructura y composición cuando este se inocula con una cepa competitiva.

**Materiales y métodos.** El consorcio (CON) se obtuvo de suelo crónicamente contaminado con PAH y se inoculó con la cepa *Sphingomonas paucimobilis* 20006FA capaz de degradar un amplio rango de PAH, generando CON+I. En trabajos previos se observó que CON+I degrada una significativamente mayor cantidad de fenantreno que CON. Se analizó la composición filogenética de con y CON+I mediante pirosecuenciación de fragmentos del gen 16S rRNA y se compararon cultivos creciendo en distintos PAH (antraceno, dibenzotiofeno, fluoreno, pireno), a nivel del perfil degradativo y la estructura (PCR-DGGE).

**Resultados.** Los perfiles degradativos de PAH fueron diferenciales, siendo más amplio el de CON+I. La estructura genética de con fue diferente de la de CON+I en todos los PAH ensayados, indicando que la inoculación modula la dinámica de CON y la cepa introducida representa un componente significativo en CON+I. La composición relativa de CON a nivel de género reveló la presencia de inquilinos 1,1%, *Achromobacter* 2,9%, *Sphingobium* 87,7%, *Pseudomonas* 0,5%, *Luteibacter* 0,6%, *Enterobacter* 6,6% y *Sphingomonas* 0,5%. En CON+I se observó un significativo cambio en *Achromobacter* 12.2% y *Pseudomonas* 1.7%, mientras que los géneros pertenecientes a la familia *Sphingomonadaceae* se mantuvieron constantes.

**Conclusiones.** La composición relativa de los géneros bacterianos dentro de con se vieron fuertemente afectados por la introducción del inoculante competitivo y la abundancia de géneros se asoció con diferentes contaminantes. Existen interacciones complejas entre las especies bacterianas y las condiciones del medio que influyen en la capacidad de biodegradación.

### TLP-463. Evaluación de la capacidad reductora de cromo (VI) por *Bacillus cereus* B1 en aguas residuales de una industria galvánica

Jennifer Andrea Moreno B.\*, Neyla Benítez C.\*, Enrique Javier Peña S.\*

\*Universidad Del Valle, Colombia.

**Introducción.** Las industrias galvánicas son reconocidas mundialmente por estar entre las más contaminantes, debido a que generan descargas de agua con metales pesados que resultan ser tóxicos para el ambiente. Evaluar la capacidad de reducción de CR(VI) por parte de la cepa nativa *B. cereus* B1, en aguas residuales generadas en una industria galvánica.

**Materiales y métodos.** Se realizaron ensayos de biorreducción de CR(VI), por triplicado, empleando agua residual real (ARR) de una galvanoplastia y agua residual artificial (ARA), con y sin glucosa. El agua artificial se preparó a partir de 14.11 mg/l de [NiSO<sub>4</sub>•7H<sub>2</sub>O], 0.07 mg/l de [ZnSO<sub>4</sub>•7H<sub>2</sub>O], 0.15 mg/l de [CuSO<sub>4</sub>•5H<sub>2</sub>O], 0.2 mg/l de Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> y 5.25 mg/l de [K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>], simulando la concentración del ARR. Se monitoreó la concentración de cromo y crecimiento celular tres veces al

día por cinco días. Además, se evaluaron los efectos tóxicos del agua residual, sobre la morfología de *B. cereus* B1, por medio de microscopía electrónica de barrido.

**Resultados.** En el agua residual artificial se alcanzaron porcentajes de reducción de CR(VI) de 100% y 71%, mientras que en el agua residual industrial la remoción fue de 75,6% y 31,7%, en los experimentos con y sin glucosa respectivamente. A pesar del bajo porcentaje de reducción en el ARR, se alcanzaron concentraciones de CR(VI) de  $\pm 0.14$  mg/l, valor dentro de los límites permisibles (0.5 mg/l). La microscopía mostró alteraciones en la pared celular y disminución del tamaño, principalmente en las bacterias expuestas al ARR.

**Conclusiones.** En la presente investigación, se reporta la capacidad de *B. cereus* B1, para reducir CR(VI) presente en aguas residuales de una galvanoplastia, a pesar de la toxicidad que representó este tipo de efluentes. Lo que permite proponer a *B. cereus* B1, como un microorganismo promisorio para la biorremediación de efluentes industriales contaminados con CR(VI).

#### TLP-464. Secuenciación del genoma de *Delftia* sp. JD2, una bacteria resistente a CR(VI)

María A. Morel\*, Eugenio Jara\*, Andrés Iriarte\*, Héctor Romero\*, Héctor Musto\*, Susana Castro-Sowinski\*

\*Facultad De Ciencias, Universidad De La República Uruguay.

**Introducción.** *Delftia* sp. JD2 es una bacteria capaz de reducir el CR(VI) a CR(III), producir la fitohormona ácido indol-3-acético (AIA) y sideróforos, y promover la asociación simbiótica entre plantas de leguminosas con sus respectivos rizobios fijadores de nitrógeno. Por estas características, se ha propuesto a JD2 como una bacteria con potencial en el desarrollo de nuevos inoculantes para leguminosas, así como para la biorremediación de metales pesados. El objetivo de este trabajo fue analizar los elementos moleculares involucrados en la resistencia a CR, la producción de AIA y sideróforos.

**Materiales y métodos.** La secuenciación del genoma se realizó en el servicio de secuenciación de genomas de macrogen. La notación y análisis primario se realizó utilizando el servidor RAST y las plataformas uniprotkb.

**Resultados.** JD2 posee un genoma de 6.76 mb, con un contenido G+C de 66,4%, y una identidad nucleotídica del 98% con *D. acidovorans* SPH-1 y *Delftia* sp. CS1-4. Se encontraron las vías de síntesis y degradación de triptófano (TRP), el precursor de la síntesis de AIA. Sin embargo, los resultados sugieren que JD2 sintetizaría aia por una ruta independiente de TRP y a través de la degradación de TRP a antranilato. Se asignaron CDSS relacionadas con la síntesis de sideróforos (pioverdinas, pioquelinas y enterobactinas), subsistemas de adquisición de fe, toma y utilización de grupos hemo y heminas, y sistemas de transporte de tipo TON y TOL. Se identificaron genes de resistencia a colicinas, cobre, cadmio y arsénico. Se identificaron cuatro CDSS relacionadas con la resistencia a CR(VI), formando una grupamiento co-lineal (CHRB, CHRA, CHRC, CHRF), no presentes en los genomas de SPH-1 y CS1-4.

**Conclusiones.** Los resultados han permitido identificar algunos genes relacionados con las propiedades bioquímicas y fisiológicas conocidas de JD2. Queda pendiente el estudio de la potencial adquisición de los genes de resistencia a cromo por transferencia horizontal. Agradecimientos: ANII, pedeciba.

#### TLP-465. Genes asociados a la biodegradación aeróbica de los isómeros del hexaclorociclohexano por *Streptomyces* sp. M7

Pedro Sineli\*, Marta Polti\*, Analía Alvarez\*, Daniel Aparicio\*, Mariana Atjian\*, José Dávila C.\*, Zoleica Simón Solá\*, Sergio Cuozzo\*

\*PROIMI-CONICET, Argentina.

**Introducción.** El isómero  $\gamma$  del hexaclorociclohexano ( $\gamma$ -HCH, lindano) posee propiedades insecticidas, su producción involucra la formación de ocho isómeros que carecen de esta propiedad, y que representan el 85-86% del total de la mezcla producida, de los cuales, los isómeros más abundantes son:  $\alpha$ -HCH (65-70%),  $\beta$ -HCH (7-10%),  $\delta$ -HCH (7%),  $\epsilon$ -HCH (1-2%). *Streptomyces* sp. M7 demostró capacidad para degradar los isómeros  $\alpha$ ,  $\beta$ , y  $\gamma$ -HCH. El objetivo del presente trabajo fue determinar los genes asociados con la degradación aeróbica de los isómeros del HCH en *Streptomyces* sp. M7.

**Materiales y métodos.** Se realizó la secuenciación completa del genoma de la *Actinobacteria streptomyces* sp. M7, mediante shotgun sequencing del ADN total, que incluyó el aislamiento y purificación del ADN genómico, fragmentación y posterior purificación. Se realizaron alineamientos entre el genoma y las secuencias ya descritas de las enzimas involucradas en la degradación de lindano.

**Resultados.** Se encontró la presencia del gen LINB. En el análisis de la secuencia se detectó que el gen LINB corresponde a una alfa/beta hidrolasa (EC number 3.8.1.5) de 288 AA, esencial para los primeros pasos de la dechlorinación. El análisis comparativo dio como resultado un 37% de identidad con la hidrolasa YP\_704381.1 de *Rhodococcus jostii* RHA1 y un 81% con la hidrolasa NP\_628564.1 de *Streptomyces coelicolor* A3(2), mientras que no mostró similitud con la dehalogenasa presente en *Sphingobium japonicum* UT26. No se obtuvieron alineamientos positivos para las otras enzimas de la vía de degradación.

**Conclusiones.** Estos resultados sugieren que el gen LINB de *Streptomyces* sp. M7 codifica para una nueva proteína con la misma actividad dechlorinasa, e incluso podría tratarse de una nueva vía degradativa.

#### TLP-466. Avaliação da atividade microbiana pelo método de hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) com aplicação de ametrina e biofertilizante

Ana Paula Justiniano Régo\*, Cassiana MR. Coneglian\*, Jaqueline Matos C.\*, Ederio Dino Bidoia\*

\*Universidade Estadual Paulista "Julio De Mesquita Filho" - UNESP Brasil.

**Introdução.** Os biofertilizantes são compostos orgânicos ricos, tornando-se uma alternativa para o uso na degradação de substâncias no solo. O herbicida ametrina é um potente contaminante de ecossistemas terrestres e aquáticos, sendo aplicado em culturas de cana de açúcar. Este trabalho teve o objetivo de avaliar a atividade microbiana após ensaio de biodegradação, que continham solo com adição de ametrina e biofertilizante.

**Materiais e métodos.** A atividade microbiana total do solo foi avaliada pelo método da hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA), em que consiste na quantificação da hidrólise de diacetato de fluoresceína no solo. A concentração de FDA foi determinada com auxílio da curva padrão por meio da correlação com a absorbância lida na amostra e o FDA hidrolisado. Para a análise foram colocadas as amostras de solo e solução de tampão de fosfato de potássio 60 mm. A reação foi iniciada pela adição de solução de FDA e interrompida pela adição de acetona P.A. as amostras de solo analisadas estavam incubadas à 28°C, durante 104 dias. Os tratamentos utilizados foram solo controle, solo com 12  $\mu$ g/l de ametrina com 1% biofertilizante, solo com 12  $\mu$ g/L de ametrina e solo com 1% biofertilizante.

**Resultados.** O solo controle apresentou 26,2  $\mu$ g FDA. O tratamento que obteve maior atividade microbiana foi o solo com 1% de biofertilizante, com 47,93  $\mu$ g FDA. Em seguida, o tratamento com ametrina e adição de biofertilizante, apresentou 17,46  $\mu$ g FDA. O tratamento com solo e ametrina apresentou redução na atividade microbiana, resultando em 12,76  $\mu$ g FDA, em decorrência da presença da ametrina.

**Conclusões.** A presença da ametrina reduziu a atividade microbiana no solo, devido difícil a sua biodegradação. Contudo ao adicionar biofertilizante ao solo com o herbicida, resultou em aumento da atividade microbiana. Portanto, o biofertilizante favoreceu a microbiota do solo, mesmo com a aplicação da ametrina.

#### TLP-467. Bioaumentación con un consorcio bacteriano y bioestimulación con alasan de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo (bioaugmentation with bacterial consortium and biostimulation with alasan of crude oil contaminated soils)

Patricia Aguila\*, Claudio Bravo\*, Luis Ovando\*, Paulina Vega\*, Myriam Gonzalez\*, Sebastian Fuentes\*, Michaelseeeger\*

\*Laboratorio Microbiología Molecular Y Biotecnología Ambiental, Depto. De Química & Center For Nanotechnology And Systems Biology Chile.

**Introducción.** Los hidrocarburos (HC) de petróleo son contaminantes relevantes del medio ambiente, debido a su persistencia y alta toxi-

cidad para los sistemas biológicos. La biodisponibilidad es un factor limitante para la biodegradación de los HC debido a su baja solubilidad en agua. Los microorganismos degradadores de HC producen biosurfactantes (BS), que son compuestos amfífilas que presentan propiedades emulsificantes y tensoactivas. El objetivo de este trabajo fue evaluar la biorremediación en suelos contaminados con HC de petróleo mediante la bioestimulación con un bs y mediante la bioaumentación con un consorcio de bacterias nativas.

**Materiales y métodos.** Se caracterizaron bacterias aisladas desde la desembocadura del río Aconcagua (Valparaíso, Chile) y se seleccionaron cepas degradadoras de HC y una cepa productora de BS para el consorcio. La cepa DD78 sintetizó un BS que se purificó y caracterizó.

**Resultados.** Se identificaron los genes ALNA, ALNB y ALNC, que codifican para las proteínas que conforman ALASAN. El consorcio bacteriano se estableció con *Acinetobacter* sp. AF53, *Acinetobacter* sp. AA64, *Acinetobacter* sp. DD78, *Pseudomonas* sp. DN34 y *Pseudomonas* sp. DN36. Las cepas *Acinetobacter* degradan HC alifáticos mientras que las cepas *Pseudomonas* son capaces de degradar HC aromáticos. Se estudió el efecto del BS y del consorcio bacteriano nativo sobre la degradación de HC en ensayos de microcosmos de suelo. Se observó que la adición del biosurfactante estimuló la degradación de HC alifáticos (66%) en microcosmos de suelo durante la primera semana. La adición del consorcio de bacterias nativas incrementó un 85% la degradación de HC alifáticos en suelo.

**Conclusiones.** Este trabajo demostró que tanto la adición de un BS como la adición de un consorcio degradador de HC y productor de un biosurfactante incrementó la biorremediación de HC en suelo. Agradecimientos: becas MECESUP FMS0710 (PA) y de apoyo de tesis conicyt 24110124 (PA), fondecyt 1110992 (MS), USM 131342 (MS, MG) y CN&SB.

### TLP-468. Actividad de la comunidad anaeróbica en sistemas difusivos durante el tratamiento de drenaje ácido de minas

Norma Raquel Pérez P.\*, Alex Otto Schwarz K.\*, Homero Urrutia B.\*

\*Centro De Recursos Hídricos Para La Agricultura Y Minería (Crhiam).  
Universidad De Concepción. Chile.

**Introducción.** El drenaje ácido de minas es un problema de contaminación que afecta la minería, y para su remediación se utilizan tratamientos químicos y biológicos. Nuestro grupo trabaja en el desarrollo del sistema biológico difusivo que incorpora el principio de difusión transversal; en éste predomina la reducción de sulfato que genera alcalinidad, remueve sulfato y precipita metales. Los sustratos orgánicos usados deben proporcionar materia orgánica que promueva el desarrollo de un consorcio anaeróbico. El conocimiento de la actividad microbiana permitirá optimizar el prototipo y determinar efectos tóxicos en los microorganismos. Para generar un prototipo, trabajamos generando una mezcla óptima, y finalmente, ejecutamos pruebas con 1 prototipo. Se conoció la actividad de las bacterias celulolíticas, fermentadoras, acetogénicas y reductoras durante el tratamiento de drenajes tóxicos.

**Materiales y métodos.** Se evaluaron 3 mezclas con 3 distintos sustratos celulósicos, los ensayos se monitorearon durante 49 días. El prototipo fue alimentado con drenaje muy ácido (pH= 2) y alta carga de metales. Semanalmente se midió el pH y las concentraciones de hierro, sulfato y sulfuro. Al final de los experimentos (BATCH y prototipos), se realizaron recuentos de los microorganismos (QPCR para bacterias reductoras de sulfato, acetogénicas, fermentadoras y celulolíticas) y se analizaron los precipitados usando DRX.

**Resultados.** Se obtuvieron tasas de reducción de sulfato entre los 700 y 1500 mmol/m<sup>3</sup>/día. La mezcla con fibras presentó una de las tasas más altas, mayor concentración de sulfuro, eliminación total del hierro y mayor recuento microbiano. El prototipo durante 1 año mostró tasas de reducción constantes y se obtuvo un efluente con eliminación completa de zinc, cobre y níquel y aumento de pH a 7,0.

**Conclusiones.** Incorporar la mezcla con fibras en el reactor permitirá aumentar la duración y disminuir el tamaño del sistema de tratamiento, ya que tendrá mayor capacidad de carga por m<sup>3</sup> que los sistemas actualmente usados.

### TLP-469. Exploración de la microcalorimetría de inmersión como método de evaluación de la remoción de fenol por hongos filamentosos

Claudia Johanna Sandoval L.\*, Martha Josefina Vives F.\*,  
Juan Carlos Moreno\*

\*Universidad De Los Andes Colombia.

**Introducción.** El fenol es considerado uno de los principales hidrocarburos aromáticos presentes en sitios contaminados. Una de las tecnologías usadas para su remoción es la biodegradación empleando hongos. Sin embargo, no existen reportes sobre su remoción usando hongos a través de microcalorimetría en biodegradación. Esta técnica aparece como una opción para monitorear en tiempo real la actividad microbiana durante la remoción de un contaminante (en términos de calor disipado), lo que representa una ventaja significativa frente a otros metodologías. Objetivo general evaluar la remoción de fenol por *Aspergillus terreus* y *Scedosporium apiospermum* inmovilizados en carbón activado empleando microcalorimetría de inmersión.

**Materiales y métodos.** El fenol (100 mg/L) se usó como única fuente de carbono, energía y como contaminante modelo. Los hongos *Aspergillus terreus* 3064 y *Scedosporium apiospermum* HDO1 fueron inmovilizados en carbón activado granular (CAG). La determinación se realizó en un microcalorímetro de conducción de calor isotérmico. Todas las actividades fueron monitoreadas por duplicado. Al final de cada ensayo se determinó la presencia o ausencia de contaminación.

**Resultados.** Los registros calorimétricos de los efectos térmicos generados por los hongos filamentosos adheridos al carbón activado durante la remoción de fenol, presentaron diferencias en las magnitudes de los picos entálpicos, las cuales se relacionaron de forma consistente con el grado de remoción de cada cepa. Los termogramas reflejaron las diferentes propiedades termodinámicas de crecimiento de cada hongo, demostrando de esta manera que la calorimetría es una herramienta útil para la diferenciación de los hongos, es decir, que bajo las mismas condiciones experimentales, generan un efecto térmico diferente, único y distinguible para cada cepa.

**Conclusiones.** Existe correlación entre las entalpías obtenidas por los hongos filamentosos y la remoción de fenol. Estas características indican que la técnica calorimétrica puede ser aplicada para evaluar el nivel de crecimiento *in situ* de hongos filamentosos durante la remoción de un contaminante.

### TLP-470. Biotransformação e detoxificação de xenobióticos por microrganismos endofíticos

Josiane Angélica Mesquini J.\*, Elizabeta Horvat\*,  
Valéria Maia De Oliveira\*, Alexandra Christine Sawaya\*,  
Natalia Reiko Sato Miyasaka\*

\*Universidade São Francisco Brasil.

**Introdução.** Microrganismos endofíticos são encontrados em todas as espécies vegetais e colonizam tecidos internos das plantas e podem produzir também uma série de compostos de interesse biotecnológico. Das 300.000 espécies de plantas descritas, apenas algumas tem sido estudadas quanto aos microrganismos endofíticos relacionados. Consequentemente, existe uma grande oportunidade de se encontrar microrganismos endofíticos novos e benéficos para o homem. Objetivos. Realizar a prospecção de microrganismos endofíticos com potencial para a degradação do herbicida atrazina, muito utilizado na cultura canavieira. **Materiais e métodos.** Microrganismos endofíticos foram isolados de folhas de cana-de açúcar e identificados pelo sequenciamento do gene 16s rRNA. A eficiência do processo de biodegradação e a presença de possíveis sub-produtos resultantes da ação dos microrganismos foram avaliadas por HPLC e LC-MS/MS.

**Resultados.** Entre os microrganismos endofíticos isolados, as bactérias *Streptomyces* sp., *Paracoccus* sp., *Pantoea stewartii* e *Burkholderia* sp. Apresentaram grande potencial para a biodegradação de atrazina (2-cloro-4-etilamina-6-isopropilamina-s-triazina). Observou-se a redução progressiva da concentração de atrazina no meio de cultura, em caldo nutriente, sendo que após 24 dias, em aerobiose, a atrazina (massa de 216 m/z) não foi mais detectada em HPLC. Através de análises em cromatografia líquida associada à espectrometria de massas (LC-MS/MS) foi detectado um produto da biotransformação da atrazina com massa 311 m/z, sendo que testes de ecotoxicidade com o microcrus-

táceo daphnia similis mostraram ausência total de toxicidade após a transformação da atrazina pelos endófitos.

**Conclusões.** Foram encontrados microrganismos endófitos com grande potencial para a detoxificação da atrazina, através da biotransformação do herbicida.

### TLP-471. Biological treatment of wastewater laundry for removal of color and reduction of turbidity

André Felipe Santos L.\* , Paulo Henrique Da S.\* , Marcos Antônio Cavalcanti L.\* , Tadashi Ohashi\* , Sergio Carvalho De P.\* , Galba Maria De Campos Takaki\*

\*Universidade Católica De Pernambuco Brasil.

**Introduction.** The generation of effluent color from the textile industry may cause significant environmental impacts affecting photosynthesis and consequent imbalance in the trophic chain, furthermore, the dyes used are usually toxic and can be harmful to human health. Treatment for discoloration of wastewater by biological techniques with use of biological components (biomass) as adsorbents has been very promising and efficient alternative in environmental decontamination. The aim of this study was investigate the physical and chemical characteristics of an industrial laundry effluent, for biological treatment with albumin, sugarcane bagasse and fungal biomass for removal color and decrease turbidity.

**Materials and methods.** Accordingly, it was evaluated the potential of albumin in the process of color removal, followed by a post-treatment (polishing) using sugarcane bagasse, live and inactivated fungus *Cunninghamella echinulata* biomass in static conditions and under agitation (150 rpm) at 28°C, for 30, 60, 90 and 120 minutes.

**Results.** The effluent studied showed high rates of turbidity, total solids, cod and bod, and intense staining. The treatment of the effluent with albumin removed 62.8% of color. The post-treatment using crushed sugarcane bagasse with live and inactivated biomass, static and shaken at 150 rpm fungal biomass showed efficient removal of color, both as sugarcane bagasse with fungal biomass in the different conditions used. However, there is polishing with inactivated fungal biomass and under stirring with 98.3% for color removal and 85% for the reduction of turbidity with 90 minutes treatment. Note also compared the times post-treatment, 30 min with both sugarcane bagasse as the fungal biomass showed maximum color removal of 86.5% for cane sugar and 98.1% for inactivated biomass, respectively.

**Conclusions.** Therefore, the results obtained demonstrate the biotechnological potential of biosorbents (albumin, sugar cane and fungal biomass) in the treatment of wastewater from industrial laundry process.

### TLP-472. Collection of fungi with potential for bioremediation of oil contaminated sites

Ayumi De Aquino Otsuka\* , Juliane Cristina Miranda\* , Dejanira De Franceschi De Angelis\* , Derlene Attili De Angelis\*

\*Universidade Estadual Paulista "Julio De Mesquita Filho" Brasil.

**Introduction.** During oil production chain, spills cause serious contamination of different environments due to the toxicity of the occurring aromatic hydrocarbons. Toluene stands out for being aggressive to the nervous system and a teratogenic agent, with high mobility and solubility in water, which facilitates environmental impact. Studies show that fungi are potential assimilators of aromatic compounds, encouraging researches on their use to remediate contaminated sites. Microbial culture collections aim the preservation of genetic resources and provide associated information and authenticated material that may have application on agriculture, industry and medicine. The objective of this work was to isolate and characterize fungi from environments associated with petroleum and then test their ability to assimilate toluene, so the information is used to build a database of a fungal collection of interest for oil, gas and biofuels.

**Materials and methods.** The method used for isolation was oil flotation. Later on isolates were identified by its sequencing, characterized morphologically and preserved in ultra-freezers at -80oc and in water by castellani method. The ability of degradation was assessed quantitatively by dry biomass measurement, in order to evaluate fungal growth with toluene as sole carbon source.

**Results.** Currently, the collection holds approximately 500 isolates of which 26% are identified, 80% preserved, and 23% were already tested

for degradation. From these, 60% showed positive results, with greater biomass production than the average 15 mg.

**Conclusions.** This outcome testifies to the capability of some fungi to tolerate the toxic condition and to assimilate the hydrocarbon to produce biomass, demonstrating potential for bioremediation, a technique of great interest because of its low cost, for allowing located treatment and for reducing the waste to acceptable levels. The results obtained are of great importance, since the collection, supported by quality management system, allows appropriate maintenance of the isolates of interest, resulting in reliability for industrial uses.

### TLP-473. Avaliação do potencial biotecnológico de fungos marinhos: produção de lacases

Aline Mayumi Da Silva Y.\* , Lara Durães Sette\*

\*Universidade Estadual Paulista "Júlio De Mesquita Filho" - UNESP Brasil.

**Introdução.** Os fungos marinhos representam um grupo de organismos ainda poucos explorados do ponto de vista ecológico e biotecnológico, mas com grandes vantagens para aplicações em ambientes ou processos salinos. Pertencentes ao grupo das oxidases e peroxidases, e pouco específicas em relação ao substrato, as enzimas ligninolíticas podem atuar na degradação de diversos compostos poluentes ambientais, incluindo os corantes têxteis e os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAS) derivados do petróleo. Avaliar a produção da enzima ligninolítica lacase (LAC) por 78 fungos filamentosos recuperados de amostras marinhas (esponjas, ouriços, algas e sedimentos) visando agregar valor à coleção de fungos marinhos da central de recursos microbianos da UNESP (CRM-UNESP).

**Materiais e métodos.** A seleção e quantificação da produção de lacase pelos fungos marinhos foi realizada em meio líquido com crescimento de guaiaacol. A quantificação da lacase foi feita por espectrofotometria utilizando abts como substrato. Uma unidade da enzima (u) foi definida como a capacidade de oxidação de 1µmol do substrato por minuto e expressa em u/l.

**Resultados.** Do total de fungos estudados, 29 apresentaram resultado positivo para a produção de lacase, enquanto 49 apresentaram resultado negativo. Os isolados que se destacaram na produção de lacase foram lamai 659 (68,89 ui/l), lamai 653 (34,92 ui/l), lamai 646 (23,97 ui/l) e lamai 658 (14,12 ui/l). Análises macroscópicas preliminares demonstraram que esses 4 isolados apresentam semelhanças morfológicas.

**Conclusões.** Os resultados obtidos demonstram o potencial de fungos marinhos para a produção de enzima de interesse ambiental e industrial. O planejamento experimental será aplicado aos fungos selecionados visando avaliação de diferentes fatores na produção da enzima e otimização da produção.

### TLP-474. Biodegradação do herbicida mesotrione por linhagens de *Bacillus megaterium*

Tatiane Dobrzanski\* , Luiz Ricardo Olchanheski\* , Flávio Luís Beltrame\* , Ricardo Sprenger\* , Jesiane Stefania Da Silva B.\* , Sônia Alvim Veiga Pileggi\* , Marcos Pileggi\*

\*Departamento De Biologia Estrutural, Molecular E Genética, Universidade Estadual De Ponta Grossa Brasil.

**Introdução.** Os últimos anos da agricultura foram marcados pela ampliação da produção agrícola, acrescido de contaminação ambiental e humana, com o intenso uso de agrotóxicos. Uma das metodologias utilizadas para o tratamento de áreas contaminadas é a biorremediação, que consiste na inoculação de microrganismos capazes de degradar contaminantes em compostos menos nocivos. O mesotrione, princípio ativo do herbicida callisto, é utilizado no controle pré e pós-emergente de ervas daninhas de folha larga em culturas de milho. Objetivo: este trabalho procurou analisar os subprodutos da degradação do mesotrione por duas linhagens de *Bacillus megaterium*, isoladas de um açude próximo a plantações de milho pulverizadas com mesotrione, na fazenda capão do cipó, Castro, Paraná, Brasil.

**Materiais e métodos.** As bactérias foram incubadas em meio mineral com 0,04 mm de mesotrione (syngenta), a 30°C. Foram coletadas amostras em 0 e 24 h de exposição ao herbicida, para análise da degradação por HPLC. Os metabólitos da degradação foram analisados em LC-MS/MS.

**Resultados.** As duas linhagens mostraram-se capazes de degradar 100% do mesotrione em até 24 h. Outros autores relataram que os

principais subprodutos encontrados da biodegradação do mesotrione por *Bacillus* sp. Foram as moléculas amba (ácido 2-amino-4-metilsulfonil-benzóico) e mnba (ácido 4-metilsulfonil-2-nitrobenzóico), ambas mais tóxicas que o próprio herbicida. Um estudo realizado em nosso laboratório demonstrou que *Pantoea ananatis* degradou mesotrione em compostos menos nocivos. Neste trabalho, encontraram-se espectros de alta intensidade, cujas massas/cargas indicam metabólitos diferentes das moléculas amba e mnba para as linhagens de *Bacillus* sp.

**Conclusões.** Sugerem-se novas rotas metabólicas, ainda não descritas na literatura, para as linhagens de *Bacillus megaterium* isoladas neste estudo, indicando uma diversidade de estratégias adaptativas para xenobióticos deste gênero bacteriano. A produção de produtos menos tóxicos do que o mesotrione sugere que estas linhagens podem ser utilizadas em processos de biorremediação.

### TLP-475. Degradación *in vitro* de cianuro por cianobacterias aisladas de un ecosistema léntico urbano tropical

Mauricio Rivera-Jaramillo\*, Daniel Alejandro B. Ocampo\*, Diego F. Chávez-Henao\*, Gabriel E. Bautista-Peñaloza\*, Mauricio Corredo\*

\*Grupo Genética y Bioquímica de Microorganismos (Gebiom), Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia, Otros Países.

**Introducción.** El cianuro es potencialmente letal para muchos organismos, actuando como tóxico a través de la inhibición del complejo citocromo C oxidasa, bloqueando la cadena transportadora de electrones, el proceso de respiración celular, causando una baja en la producción de ATP intracelular e impidiendo así la homeostasis de las células. Las cianobacterias, además de realizar fotosíntesis oxigénica, sobreviven en ambientes extremos, siendo esta capacidad la que ha hecho que ocupen con gran éxito nichos ecológicos diversos. Proliferar cianobacterias en soluciones cianogénicas e identificar los géneros de éstas capaces de degradar el cianuro.

**Materiales y métodos.** Al medio sintético salino, específico para cianobacterias, se le adicionó fecn y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a una concentración entre 20 mm y 70 mm. Se inocularon poblaciones de cianobacterias, géneros unicelulares como *Chroococcus*, *Microcystis*, *Gloeocapsa*, *Dermocarpa* y filamentosas como *Anabaena* y *Nostoc*, y se cultivaron por 72 h en agitación constante, proporcionado luz artificial (lux.m<sup>2</sup> = 1650 lumens) durante los tres días. Se hicieron pruebas de hipótesis para evaluar crecimiento de cianobacterias en los diferentes medios y se calculó abundancia y variabilidad.

**Resultados.** Todas las cepas de cianobacterias proliferaron en el medio sintético sin fecn ni H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. En disoluciones de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, no se observó proliferación de ninguna cepa. Aunque el fecn es tóxico para muchos microorganismos, en disoluciones de éste en el medio sintético se observó proliferación de unicelulares mucilaginosas *Chroococcus* y *Microcystis*. Esto puede ser debido a que utilizan como fuente de nitrógeno el cianuro férrico, lo cual ya se había observado en otra bacteria: *Pseudomonas pseudoalcaligenes* (CECT5344).

**Conclusiones.** Todas las cepas crecieron en el medio sintético salino. Fue posible propagar cianobacterias en disoluciones de fecn, sin que el cianuro representara toxicidad para ellas. Ninguna de las cepas fue viable en disoluciones de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Se considera importante identificar las enzimas que intervienen en la degradación de cianuro.

### TLP-476. GST activity and membrane lipid saturation specific responses to mesotrione herbicide treatment in *Pantoea ananatis* bacterium

Lilian Prione\*, Luiz Olchanheski\*, Leandro Tullio\*, Paula Martins\*, Giselle Carvalho\*, Acácio Zielinski\*, Ivo Demiate\*, Sônia Pileggi\*, Manuella Dourado\*, Ricardo Azevedo\*

\*Departamento De Biologia Estrutural, Molecular E Genética, Universidade Estadual De Ponta Grossa Brasil.

**Introduction.** Herbicides are widely used to increase crop production and account for 35% of all agrochemicals applied annually. They can remain in the soil as hazardous residues, affecting local

ecosystem, most directly the soil and water microbiota. Mesotrione (2-[4-methylsulfonyl-2-nitrobenzoyl]1,3-cyclohexanedione) is the active ingredient of callisto, an herbicide commonly used in corn. It has been previously related that bacteria can degrade this herbicide, as the strain *Pantoea ananatis* CCT 7673, an enterobacteria isolated from water in Brazil. Objectives: the aim of this study was to evaluate the influence of mesotrione and the commercial product, callisto, as a stress source for *P. ananatis* CCT 7673 metabolism, during mesotrione degradation, and also the capacity of this bacterium for tolerating an oxidative stress condition.

**Materials and methods.** SOD, CAT, GR and GST enzymatic activities were evaluated in non-denaturing page and spectrophotometer. In addition, the rates of malonaldehyde (MDA) and peroxide hydrogen (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) were measured in a spectrophotometer. Minimal medium with no herbicide (mm) was used as control. Lipid peroxidation, peroxide hydrogen and SOD, CAT, GR and GST activities were analyzed before and after degradation of mesotrione by *P. ananatis* CCT 7673.

**Results.** The herbicide proved to cause oxidative stress in this bacterial strain, according to peroxide hydrogen data. Unexpectedly, the rates of lipid peroxidation (mda) and gr showed to be lower in the presence of the herbicide, when compared to the control, with no changes in bacterial growth. Gst activity was higher in mesotrione treatment when compared to control and treatment with callisto, during and after degradation.

**Conclusions.** These results suggest that this enzyme may be related to mesotrione degradation process, probably by cometabolism, consequently decreasing oxidative stress rates and their effects on bacterial metabolism and membrane structure.

### TLP-477. Biorremediación de aguas contaminadas de ecosistema léntico urbano usando cianobacterias

Daniel Alejandro B. Ocampo\*, Mauricio Rivera-Jaramillo\*, Diego F. Chávez-Henao\*, Carlos A. López-Ramírez\*, Santiago A. Sánchez\*, Gabriel E. Bautista-Peñaloza\*, Mauricio Corredor\*

\*Grupo Genética Y Bioquímica De Microorganismos (Gebiom), Instituto De Biología, Facultad De Ciencias Exactas Y Naturales, Universidad De Antioquia Colombia.

**Introducción.** La biorremediación con cianobacterias se plantea como una alternativa promisoría para recuperar ecosistemas contaminados. Las cianobacterias (bacterias fotosintéticas) se destacan por su potencial bioinmovilizador de metales pesados, degradador de tóxicos orgánicos y competidor de patógenos en el agua. Actualmente muchos ríos presentan niveles alarmantes de contaminación. Las soluciones para su limpieza son costosas por los montajes de biodigestores u otros sistemas. Es necesaria la implementación de alternativas eficientes y más económicas para recuperar sistemas lénticos contaminados. Objetivo: propagar cianobacterias en muestras de río o afluente contaminado y evaluar las condiciones fisicoquímicas y microbiológicas, y mantener especies de vertebrados e invertebrados en las aguas tratadas.

**Materiales y métodos.** El muestreo se realizó por triplicado en varios puntos determinados por GPS. Se midieron variables físico-químicas y microbiológicas antes y después de tratar el agua mediante técnicas de análisis químico, medios microbiológicos diferenciales y microscopía óptica. Se inocularon las muestras con cianobacterias previamente cultivadas. Luego se monitoreó la propagación de cianobacterias y especies de vertebrados e invertebrados en el agua tratada, durante ocho semanas. Se realizaron pruebas estadísticas y análisis de varianza.

**Resultados.** Se observó propagación de cianobacterias y saturación a las 24 h de inoculada el agua contaminada. Los vertebrados e invertebrados se mantuvieron vivos hasta el término del experimento sin agregar agua y alimento, a diferencia del control donde no hubo supervivencia. La concentración de varios tipos de bacterias, como coliformes y otras, se vio diezmada después del tratamiento.

**Conclusiones.** La biorremediación con cianobacterias mostró ser rápida, económica y efectiva para recuperar un ecosistema léntico de agua dulce. La viabilidad de los vertebrados e invertebrados es un indicador potencial de la reducción significativa de los contaminantes del ecosistema. Acorde a estos resultados el experimento se escalará con mayor cantidad de puntos y a un nivel fisicoquímico y microbiológico mayor.



### TLP-478. Estimulación de la degradación aerobia de toxafeno a partir de cultivos de enriquecimiento con camfor como análogo estructural

Iván Ricardo Prieto O.\*, Ziv Arbeli\*, Fabio Roldán\*

\*Universidad Javeriana Sede Bogotá Colombia.

**Introducción.** El toxafeno es un insecticida caracterizado por contener más de 200 compuestos policlorados y pertenece al grupo de contaminantes orgánicos persistentes (COP). En el país este insecticida se aplicó ampliamente en cultivos de algodón y al prohibirse su uso, fue almacenado inadecuadamente generando contaminación de suelos y agua subterránea. Por su alto grado de cloración, los estudios sobre la biodegradación se han centrado en condiciones anaerobias, y no se conoce el alcance de la degradación en condiciones aerobias. Objetivo general. Estimular la biodegradación aeróbica de toxafeno con camfor (una molécula no halogenada similar estructuralmente al toxafeno).

**Materiales y métodos.** Se establecieron 2 cultivos de enriquecimiento: 1) a partir de suelos contaminados con toxafeno (del municipio el Coppey) y 2) a partir de biosólidos provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales el salitre. Los suelos o biosólidos fueron inoculados en medio mineral con camfor como única fuente de carbono (500 mg/L), monitoreando su concentración durante cuatro pases sucesivos por 1 mes (GC-FID). Seguido a esto, durante 21 días se evaluó la degradación de toxafeno (25 mg/L) por GC-ECD en medio mineral con los siguientes tratamientos por triplicado: toxafeno como única fuente de carbono, toxafeno con camfor y toxafeno con glucosa.

**Resultados.** Los cultivos enriquecidos mostraron degradación de camfor y al ser inoculados con toxafeno, después de 21 días se observó que los cultivos enriquecidos a partir de biosólidos, degradaron toxafeno solo en presencia de camfor.

**Conclusiones.** Este es el primer estudio que indica que el camfor puede estimular la degradación aerobia de toxafeno, probablemente por procesos cometabólicos. Los resultados amplían nuestro conocimiento sobre el destino ambiental de este insecticida y señala nuevas opciones para su remediación.

### TLP-479. Degradación enzimática de una solución acuosa de gentamicina

Laura Pramparo\*, Andrés Chaparro\*, Diego Moncayo\*

\*Universidad Militar Nueva Granada Colombia.

**Introducción.** Los compuestos farmacéuticos (clasificados como contaminantes emergentes) presentes en los medios acuáticos, y entre ellos, los antibióticos aminoglucósidos, producen efectos negativos sobre la salud humana y los ecosistemas. La remoción de estos contaminantes no se realiza de forma adecuada mediante los tratamientos convencionales en las depuradoras y, por ello, se hace necesario desarrollar tratamientos alternativos, como los procesos enzimáticos, que permitan su remoción. El objetivo del presente trabajo es estudiar la factibilidad de tratar una solución acuosa conteniendo un antibiótico aminoglucósido (gentamicina) utilizando la enzima horseradish peroxidase (HRP).

**Materiales y métodos.** Se utilizó gentamicina en su presentación comercial tipo ampolla. Diferentes diluciones del compuesto fueron analizadas a pH 7. Se ensayaron diversas concentraciones de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, HRP y el compuesto en estudio. El seguimiento de la reacción se llevó a cabo con la medición de la absorbancia, a 254 nm, y de d<sub>50</sub> para determinar el porcentaje de remoción. La reacción fue optimizada para obtener la mejor relación de eliminación.

**Resultados.** Se obtuvieron remociones cercanas al 45% de gentamicina utilizando una relación equimolar de peróxido de hidrógeno, después de 120 minutos de reacción.

**Conclusiones.** El proceso de eliminación de un antibiótico por actividad enzimática surge como una alternativa para el tratamiento de aguas residuales conteniendo este tipo de compuestos. En este trabajo se mostró una eficiente degradación de la gentamicina presente en el agua tratada con la enzima HRP y peróxido de hidrógeno. Los resultados obtenidos son prometedores debido a la falta de evidencia en el uso de esta tecnología tratando compuestos farmacéuticos, los cuales se encuentran frecuentemente en aguas residuales y son difíciles de remover debido a su alta persistencia.

### TLP-480. Caracterização de *Aspergillus* sp. quanto a capacidade de degradação de óleo diesel

Diana Duarte L.\*, Flávia Virgínia Ferreira De A.\*, Erik Jonne Vieira De M.\*, Pérsio Alexandre Silva\*, Maria José S. Fernandes\*, Cristina Maria De Souza M.\*, Norma Buarque De G.\*

\*Universidade Federal De Pernambuco Brasil.

**Introdução.** A taxonomia clássica de fungos filamentosos é baseada em observações de características fenotípicas, no entanto, há casos em que não ocorre a produção destas estruturas, sendo necessário o uso de outras ferramentas, isto é a inclusão de outras características biotecnológicas. Este trabalho teve como objetivo identificar por taxonomia clássica 23 espécies de *Aspergillus* e avaliar a potencialidade de degradação de diesel.

**Materiais e métodos.** Para taxonomia clássica foram utilizados meios diferenciais. Após a identificação foi realizado o teste com o indicador 2,6 diclofenolindolfenol, e selecionados os que apresentaram mudança da coloração do indicador até 24 horas após inoculação. As linhagens selecionadas foram submetidas aos ensaios de aclimação, otimização das condições nutricionais do meio de cultivo e toxicidade dos subprodutos provenientes do biotratamento utilizando o índice de germinação o qual analisa a geminação e crescimento médio de sementes vegetais. Para otimização de ensaio de degradação foi utilizado o planejamento experimental delineamento composto central com três variáveis independentes: nitrogênio, fósforo e magnésio.

**Resultados.** Foram identificadas as espécies *Aspergillus flavus*(06), *Aspergillus aculeatus*(08), *Aspergillus terreus*(01), *Aspergillus awamori*(02), *Aspergillus tamarii*(01), *Aspergillus japonicus*(03), *Aspergillus niger*(02). Oito linhagens apresentaram viragem da coloração azul para incolor em 24 h, mas o *Aspergillus flavus* (Af159) foi selecionado para todos os testes por apresentar 80% de degradação. A linhagem submetida ao ensaio de otimização apresentou o índice de germinação com valores próximos a 100% crescimento da raiz e eficiência de degradação (E.D%) do óleo diesel próximo a 100% para o hidrocarboneto nonano, ausência de picos entre decano e hexadecano, e a partir de heptadecano até heneicosano as porcentagens variaram entre 20,85% e 37,11%.

**Conclusões.** O tratamento de óleo diesel utilizando as linhagens de *Aspergillus* mostrou-se eficiente para degradação de cadeias de hidrocarbonetos maiores apresentando baixa toxicidade para o nível trófico utilizado para o ensaio.

### TLP-481. Bactérias endofíticas aumentam os teores de solutos orgânicos envolvidos no ajuste osmótico em plantas de girassol submetidas ao déficit hídrico

Juliana F. Dos Santos\*, Bárbara L. Do Sacramento\*, Leonardo De O. Barbosa\*, Margarida V. Santana\*, Valter C. Magalhães\*, Adriana de O. Neves\*, Phellippe A.S. Marbach, Jorge T. De Souza\*, André D. De Azevedo\*

\*Universidade Federal Do Recôncavo Da Bahia Brasil.

**Introduction.** The intracellular accumulation of organic solutes osmotically active in response to a low water availability conditions is an important mechanism developed by plants that exhibit tolerance to drought. The present study evaluated the ability of two endophytic bacteria in inducing sunflower plants, under water deficit, to increase the organic solutes levels involved in osmotic adjustment.

**Materials and methods.** Two endophytic bacteria, *Bacillus* sp. and enterobacter cloacae were tested. The experiment was conducted in a completely randomized design in a factorial arrangement 2 (100% pot capacity; 30% pot capacity (CP)) x 4 (without bacteria; *Bacillus* sp.; *Enterobacter cloacae*; *Enterobacter cloacae* + *Bacillus* sp.), with six replications. At 35 days after emergence, leaf and root samples were collected, frozen, lyophilized in liquid nitrogen and used for biochemical analysis: soluble carbohydrates, free proline, free amino acids and soluble proteins.

**Results.** The soluble carbohydrates, free amino acids, proline and soluble proteins levels decreased an average 58, 69, 72 and 44%, respectively in roots of the inoculated plants and grown in 100%. In leaves, there is an average 33% reduction in soluble proteins levels in plants these treatments. Substantial changes were not observed in the other organic solutes levels in leaves of the inoculated plants and grown to 100% CP. The water deficit of 30% CP significantly reduced the soluble carbohydrates (31%), free amino acids (44%), proline (39%) and soluble proteins (64%) levels in the roots, but increased the free amino acid

(64%), proline (84%) and soluble proteins (60%) in the leaves of plants not inoculated.

**Conclusions.** The presence of endophytic bacteria increased the capacity of plants under water stress to perform osmotic adjustment by greater accumulation of compatible organic solutes.

### TLP-482. Biorremediación de cipermetrina por mohos

Laura Noemí Frisón\*, Juan José De Jesús\*

\*Cátedra De Microbiología – Dpto. Ingeniería En Alimentos.  
Laboratorio Central De Análisis Analíticos. Facultad De Ingeniería  
Química, Universidad Nacional Del Litoral, Santa Fe, Argentina.

**Introducción.** La biorremediación es una tecnología que utiliza el potencial metabólico de los microorganismos para transformar contaminantes orgánicos en compuestos más simples. Constituye una herramienta muy útil para reducir el impacto ambiental ya que se han aislado y caracterizado un gran número de microorganismos del suelo y del agua, capaces de degradar un amplio rango de compuestos orgánicos. Se propuso estudiar a escala de laboratorio la biorremediación de cipermetrina por acción de mohos presentes en baños para la eliminación de las garrapatas en el ganado vacuno.

**Materiales y métodos.** Se aislaron e identificaron los mohos presentes en estos baños mediante características macro y microscópicas de acuerdo a Pitt J. y Hocking A. Se inocularon minireactores de 50 mL con cada una de las cepas aisladas que contenían como único componente activo cipermetrina. La evolución de los microorganismos se siguió por recuentos microbiológicos cada 24 h hasta 96 h. La concentración de cipermetrina se determinó por cromatografía líquida UVD. Se determinó el porcentaje de biodegradación del compuesto por la diferencia entre la concentración inicial y final después del contacto con los mohos.

**Resultados.** Se aislaron: *Talaromyces stipitatus*, *Talaromyces macrosporus*, *Eupenicillium javanicum* y *Cladosporium cladosporioides*. Con estas cepas se obtuvieron los siguientes porcentajes de biodegradación: *Eupenicillium javanicum*: 11,22 %, *Talaromyces stipitatus* 12,84 %, *Cladosporium cladosporioides* 13,58 % y *Talaromyces macrosporus* 16,93 %. Con *Talaromyces macrosporus* se obtuvo el mayor porcentaje. Los recuentos microbianos de todas las cepas se mantuvieron constantes a lo largo del ensayo.

**Conclusiones.** Resulta promisorio la utilización de estas cepas para la degradación de este compuesto.

### TLP-483. Resistencia a $\beta$ -lactámicos y clonalidad de aislados clínicos de *Acinetobacter baumannii* obtenidos de pacientes con infecciones intrahospitalarias en el estado de Durango México

Norma Urtiz E.\*, Paloma Del Consuelo Montoya Z.\*, Juan Carlos Tinoco F.\*, Patricia Lozano Z.\*, Francisco Luna Martínez\*, Ma. Dolores Alcántar C.\*, Juan Antonio Rojas C.\*, Aurora Martínez\*

\*Universidad Juárez Del Estado De Durango, Mexico.

**Introducción.** *Acinetobacter baumannii* es un patógeno oportunista asociado principalmente a infecciones adquiridas en el hospital. La aparición de cepas multidrogo-resistentes (MDRO) se ha convertido en un problema prioritario para el sector salud, dado que en la actualidad son pocas las alternativas de antibioterapia para el tratamiento de este patógeno, elevando así las tasas de mortalidad en las unidades intrahospitalarias. Objetivo: determinar los fenotipos y genotipos de resistencia a  $\beta$ -lactámicos y clonalidad de los aislados clínicos de *Acinetobacter baumannii* obtenidos de pacientes con infecciones intrahospitalarias

**Materiales y métodos.** 110 aislados clínicos de *A. baumannii* fueron colectados de pacientes con infección intrahospitalaria en el hospital general de Durango. Los fenotipos de susceptibilidad fueron evaluados de acuerdo a lo que establece el CLSI (2012), los genotipos para los aislados clínicos productores de  $\beta$ -lactamasas se realizaron mediante PCR de los marcadores blaTEM, blaSHV, blaOXA-2 y blaPER, por otra parte se obtuvo la huella genética de 92 aislados clínicos por PFGE (con la enzima de restricción APAI), generando un dendrograma empleando el método (UPGMA) en el NTSYSPC versión 2.11t.

**Resultados.** Todos los aislados clínicos fueron identificados como *Acinetobacter baumannii* de los cuales el 69% de fueron multidrogo-resistentes (MDRO) mostrando resistencias a  $\beta$ -lactámicos arriba del 50%,

los resultados obtenidos de los genotipos nos indican que la resistencia es debido a la presencia de los genes TEM y OXA ya que amplificaron en un 89% (49/55) y 23.6% (13/55) de los aislados clínicos MDRO. Por otra parte el análisis epidemiológico por medio de PFGE mostró que el 45% de los aislamientos clínicos de *A. baumannii*, tienen una diversidad genética elevada ya que solamente se identificaron 38 clonas con características genéticas bien definidas.

**Conclusiones.** El 69% de los aislados clínicos de *A. baumannii* resultaron MDRO, identificándose 4 agrupaciones clonales con características bien definidas.

### TLP-484. Clonagem, expressão e purificação da adesina etpa de *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC)

Helber Abellini Astolpho\*, Luis André Morais M.\*,  
Patrícia Puccinelli Orlandi N.\*

\*Fundação Oswaldo Cruz - Centro De Pesquisa  
Leônidas E Maria Deane – Am Brasil.

**Introdução.** A diarreia afeta milhões de pessoas todos os anos contribuindo com o aumento das taxas de morbimortalidade. Entre os agentes patogênicos bacterianos, a linhagem de *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) é considerada como um dos principais agentes causadores dessa doença. Atualmente ainda não existem métodos apropriados para a identificação rápida e específica de ETEC nos países em desenvolvimento. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi clonar, expressar e purificar a proteína recombinante etpa que posteriormente será utilizada como ferramenta para a obtenção de anticorpos policlonais e desenvolvimento de um teste rápido e específico para detecção de ETEC.

**Materiais e métodos.** Inicialmente foi realizado o desenho da sequência gênica correspondente à proteína etpa com base nas sequências depositadas no banco de dados do genbank. Foram realizadas as análises *in silico* de predição da acessibilidade à superfície proteica (netsurfpr ver.1.1), predição da desordem proteica (iupred.enzim.hu) e a predição do peso molecular (expasy-protparam). Após as análises, a sequência foi sintetizada e clonada no vetor pGEM-t easy. A subclonagem do gene foi realizada no vetor de expressão pRSET-A e a indução da expressão em *E. coli* (BL21-DE3-PLYSS). A confirmação da expressão foi por meio da técnica de western blot e a purificação da proteína foi realizada em colunas anti-HIS-TAG.

**Resultados.** A clonagem do gene (ETPA) foi confirmada com a digestão do vetor pGEM-T easy utilizando as enzimas de restrição BamHI e EcoRI. O fragmento liberado foi de 500 pb, tamanho igual ao da sequência sintetizada. A subclonagem no vetor de expressão pRSET-A foi confirmada por PCR que produziu um amplicon do mesmo tamanho (500 pb). O peso molecular da proteína recombinante etpa após a sua expressão e purificação foi de 16 kDa.

**Conclusões.** Portanto, confirmou-se a expressão e purificação da proteína recombinante ETPA que será utilizada nos experimentos futuros para a detecção de ETEC.

### TLP-485. Localización y entorno genético del gen BLAKPC en enterobacterias recuperadas en hospitales Chilenos

Carla Verónica Barría L.\*, Helia Magaly Bello T.\*, Andrea Belén Pincheira D.\*, Mario Andrés Quezada A.\*, Alejandra Franczy Vera L.\*, Mariana Patricia Domínguez Y.\*, Pamela Araya R.\*

\*Universidad De Concepción Chile.

**Introducción.** La importancia clínica de las enterobacterias radica en su multiresistencia a los antibióticos, por lo que habitualmente las infecciones que producen son tratadas con carbapenémicos. Sin embargo, esto ha facilitado la selección de cepas resistentes a estos compuestos, cuyo principal mecanismo es la síntesis de carbapenemasas. KPC es una de las carbapenemasas más diseminadas a nivel mundial y partir de marzo de 2012, se comienzan a aislar enterobacterias productoras de KPC en hospitales de Chile. Esta enzima es codificada por BLAKPC, inserto en TN4401, mayoritariamente localizado en plásmidos conjugativos o no conjugativos. En la actualidad se han descrito ambientes genéticos que difieren de TN4401, debido a rearrreglos genéticos, como la plataforma china y la plataforma argentina. El objetivo de este trabajo fue determinar la localización y el entorno genético de BLAKPC en aislados

clínicos chilenos de enterobacterias y su capacidad de diseminación a cepas susceptibles.

**Materiales y métodos.** Por PCR y secuenciación se caracterizó el entorno genético de BLAKPC en 20 aislados clínicos multiresistentes. Además, en 7 cepas, seleccionadas de acuerdo a su secuenciotipo y pulstotipo se realizó ensayos de curación plasmídica y conjugación.

**Resultados.** En todas las cepas ensayadas se curó el gen BLAKPC, indicando una localización únicamente plasmídica; sin embargo, en los experimentos de conjugación no se detectó transconjugantes, sugiriendo que se localizaría en plásmidos no conjugativos. El estudio del entorno genético evidenció que BLAKPC está inserto en el transposón TN4401A, en 6 cepas y en otras 14 en la variante 1a argentina.

**Conclusiones.** En las cepas chilenas productoras de KPC, BLAKPC se encuentra localizado en plásmidos no conjugativos y, en la mayoría de ellas, en la plataforma genética variante 1a argentina. Financiamiento: proyecto fondecyt 1130838 y beca conicyt 22121342.

### TLP-486. Caracterização fenotípica Doença meningocócica

Elisabete Cardiga\*, Denise Fusco\*, Otávia Afonso\*, Ana Paula Silva de\*, Nayadi Komo\*, Marcella Kelvy, Ivete A. Zago Castanheira\*

\*Instituto Adolfo Lutz- S.J. Rio Preto, Brasil  
E Instituto Adolfo Lutz - S. Paulo, Brasi.

**Introdução.** A Doença meningocócica (DM) é um sério problema de saúde pública em todo mundo, pela alta letalidade e elevada incidência em faixas etárias menores. É causada pela neisseria meningitidis que está classificada em 13 sorogrupos, cujos principais são: A, B, C, W135 e y. objetivo: avaliar a caracterização fenotípica das cepas de *N. meningitidis* isoladas no centro de laboratório regional do instituto adolfo lutz de são josé do rio preto (CLR-IAL-SJRP-X), localizado na região noroeste do estado de São Paulo, Brasil, no período de Janeiro de 2000 a dezembro de 2013.

**Materiais e métodos.** Foram analisadas amostras de líquido e sangue de pacientes com suspeita clínica de meningite na região de abrangência do CLR-IAL-SJRP-X, com finalidade de vigilância epidemiológica. O diagnóstico laboratorial compreendeu os exames de bacterioscopia, cultura, contraímunoelctroforese e reação de polimerização em cadeia, realizados segundo as normas técnicas do instituto Adolfo Lutz - Centro de referência Nacional para Meningites do Ministério da Saúde, Brasil. A caracterização final dos isolados de *N. meningitidis* foi realizada no laboratório central do ial.

**Resultados.** No referido período foram isoladas e caracterizadas 150 cepas de *N. meningitidis*, sendo que destas, 100 (66,7%) pertenciam ao sorogrupo c, 40 (26,7%) ao b, 8 (5,3%) ao w135 e 2 (1,3%) ao sorogrupo y. Entre os isolados do sorogrupo c houve predomínio do fenótipo c:23:p1.14,6 em 60,0% delas.

**Concluíões.** Foi observada a circulação de quatro sorogrupos, B, C, W135 e y, com predomínio, nos últimos anos, do sorogrupo C e diminuição do sorogrupo B, coincidente com o perfil epidemiológico do estado de São Paulo e região sudeste do Brasil. Nesta região, a doença pode ser caracterizada como endêmica, com ocorrências de surtos esporádicos. Apesar das novas técnicas de diagnóstico como as de biologia molecular, a cultura é imprescindível para caracterização da dm nos estudos epidemiológicos e produção de vacinas.

### TLP-487. Anti-infective effects of Brazilian Caatinga plants against pathogenic bacterial biofilm formation

Laura Nunes S.\*, Danielle Silva T.\*, Karine Rigon Z.\*, Janine Treter\*, Clara Lia Costa B.\*, Amanda Picolli F.\*, Tiana Tasca\*, Alexandre Gomes Da S.\*, Marcia Vanusa Da S.\*

\*Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul Brasil.

**Introduction.** In recent years, biofilms have been attracted a lot of attention especially for its enormous impact on medicine and public health. In brazilian caatinga biome, located in northeast region, medicinal plants are an important social and cultural component. Since plants produce chemical defenses against environmental microbes and they constitute a therapeutic alternative as primary health attention, the pressure to find antibacterials with new modes of action, including antibiofilm compounds, drives the search for antimicrobials from vegetal sources.

**Materials and methods.** This study screened 23 aqueous plant extracts against two well-known models of biofilm-forming bacteria: *Sta-*

*phylococcus epidermidis* and *pseudomonas aeruginosa*. crystal violet assay and scanning electron microscopy (SEM) were used to evaluate the effect of extracts on biofilm formation and measurements of the absorbance at 600 nm to assess bacterial growth. Selected extracts were investigated regarding the cytotoxicity by MTT assay using mammal cells and the qualitative phytochemical fingerprint by thin layer chromatography.

**Results.** *Harpochilus neesianus* leaves, apuleia leiocarpa and *Poinciana-lla microphylla* fruits showed non-biocidal antibiofilm action against *S. epidermidis* with activities of 69%, 52% and 63%, respectively. Sem confirmed that biofilm structure was strongly prevented and that extracts promoted overproduction of the matrix and/or bacterial morphology modification. *P. microphylla* demonstrated toxicity at 4.0 mg/mL and 2.0 mg/mL, *A. leiocarpa* presented toxicity only at 4.0 mg/mL whereas *H. neesianus* presented absence of toxicity against vero cell line. Preliminary phytochemical analysis revealed the presence of flavonoids, terpenoids, steroids, amines and polyphenols.

**Conclusions.** This work provides a scientific basis which may justify the ethnopharmacological use of the plants herein studied, indicating extracts that possess limited mammal cytotoxicity *in vitro* and a high potential as source of antibiofilm drugs prototypes.

### TLP-488. Identificación y distribución de un nuevo antígeno de membrana externa asociado a cepas de *Escherichia coli* productor de shigatoxina negativas para el locus de borrado del enterocito

David A. Montero\*, Felipe del Canto\*  
Juan C. Salazar\*, Roberto Vidal\*

\*Programa de Microbiología y Micología.  
Facultad de Medicina. Universidad de Chile. Chile.

**Introducción.** *Escherichia coli* productor de shigatoxina (STEC) es agente etiológico de diarrea aguda, disentería y/o síndrome hemolítico urémico (SHU). Los serogrupos o26, o103 y o157 son causantes de la mayoría de los brotes producidos por STEC y poseen una isla de patogenicidad denominada locus de borrado del enterocito (LEE). No obstante, cepas STEC que carecen de esta isla (LEE-negativo) también se han asociado a enfermedad severa en humanos. Este estudio reporta la identificación de un nuevo antígeno de membrana externa presente en una cepa STEC o113 LEE-negativo aislada desde un paciente con SHU.

**Materiales y métodos.** Se analizó extractos de proteínas de membrana externa de una cepa STEC o113 mediante inmunoproteómica (SDS-page-2D, western blot usando sueros de pacientes con SHU y malditof/TOF-TOF). Análisis bioinformáticos y de PCR se usaron para determinar la distribución del antígeno en *E. coli*.

**Resultados.** Se identificó un antígeno con un peso molecular de 22 kda y punto isoelectrico 5.0. Análisis bioinformáticos indicaron que la proteína está codificada en el genoma de la cepa STEC o91:h21 LEE-negativo B2F1 (genbank: AFDQ01000026.1) y tiene 89% y 86% de identidad con las proteínas HRA1 (heat-resistant agglutinin 1 de *E. coli* O42) y HEK (*Hae-magglutinin* de *E. coli* K1), respectivamente. Se diseñó partidores que amplifican el gen completo y se analizó su distribución en 170 aislados de STEC y 11 cepas comensales fecales de *E. coli*. Notablemente, el gen estuvo presente en 63% (32/51) de las cepas STEC LEE-negativo y ausente en las STEC LEE-positivo (0/119) y comensales. Adicionalmente, la secuenciación de los productos de PCR indicó que el gen es altamente conservado.

**Conclusiones.** Nuestros resultados sugieren que el antígeno identificado está asociado a un subgrupo de cepas STEC LEE-negativo. Estudios adicionales son necesarios para determinar la participación de esta proteína en la patogenicidad de STEC y su uso como blanco para el desarrollo de vacunas.

### TLP-489. Diversidade clonal de *Staphylococcus aureus* entre idosos de instituições de longa permanência no Brasil

Camila Sena Martins S.\*, Monica Silveira\*, Danilo Flavio Moraes R.\*, Carlos Magno Castelo B.\*, Maria De Lourdes Ribeiro De S.\*

\*Universidade Paulista Júlio De Mesquita Filho Brasil.

**Introdução.** Atualmente a atenção tem se voltado ao aumento da incidência de *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (MRSA) de

origem comunitária e sua introdução em espaços de assistência, diante disso, as casas de repouso representam espaços de especial interesse, já que são instituições intermediárias entre a comunidade e serviços de saúde. Objetivo. Detectar os isolados resistentes a meticilina, caracterizar o cassete cromossômico estafilocócico MEC (SCCmec), avaliar a similaridade genética entre 50 isolados de *S. aureus* de idosos residentes em casas de repouso em uma cidade do interior do estado de São Paulo, Brasil.

**Materials and methods.** O gene de resistência a oxacilina (MECA) e a caracterização do SCCmec foi realizada através da polymerase chain reaction (PCR), triagem dos isolados foi realizada pelo pulsed field gel electrophoresis (PFGE) e tipagem dos isolados resistentes pelos métodos de multilocus sequence typing (MLST) e SPA typing.

**Resultados.** Entre os isolados, 22% (11) carregavam o gene MECA, onde seis isolados apresentaram SCCmec tipo II, dois apresentaram o tipo IV e três não foram tipados pelo método utilizado. No PFGE dos isolados sensíveis foi possível observar 4 clusters. Entre os resistentes foi observado 3 clusters majoritários. As técnicas de MLST e SPA typing mostraram quatro sequence type (ST 105, 1176, 2594, 2599) e apenas um SPA type (T002).

**Conclusões.** Apesar dos STs diferentes, todos pertencem ao mesmo complexo clonal 5 e SPA type, sugerindo origem comum. Outro fato relevante é a presença de SCCmec característicos de ambientes de assistência à saúde e comunidade, que podem ser pelo fato dessas instituições manterem uma dinâmica de atendimento semelhante a hospitais. Além disso, os idosos são suscetíveis à infecção, e representam um grupo em que a colonização é de grande risco para a ocorrência de infecções e disseminação desses patógenos não somente nas casas de repouso, mas também na comunidade.

### TLP-490. Caracterização da resistência a antimicrobianos e da formação de biofilme em amostras clínicas de *Acinetobacter baumannii* em Belo Horizonte, MG, Brasil

Rafaela França\*, Fernanda Braga\*, Guilherme Milanez\*, Maria Auxiliadora Carvalho\*, Luiz Farias\*, Vandack Nobre Jr.\*, Simone Santos\*

\*Universidade Federal De Minas Gerais Brasil.

**Introdução.** A rápida expansão de amostras de acinetobacter baumannii multirresistentes a antimicrobianos na última década configura um cenário preocupante para a saúde mundial. Seu sucesso como patógeno nosocomial pode ser atribuído, também, à sua habilidade em formar biofilme, resultando em maior capacidade de resistência e sobrevivência no ambiente. Os objetivos deste estudo foram caracterizar, utilizando-se métodos fenotípicos e genotípicos, o perfil de resistência a antimicrobianos e de formação de biofilme de amostras clínicas de *A. baumannii*.

**Materiais e métodos.** Um total de 64 amostras de *A. baumannii* foi avaliado quanto à susceptibilidade a meropenem, gentamicina, polimixina, ceftazidima, ampicilina-sulbactam e tigeciclina, pelo Etest®. Os genes que codificam resistência a antimicrobianos - BLAOXA23, BLAOXA24, BLAOXA51, BLAOXA58, BLAOXA143, ISA-BA1 e BLAVIM-1 e formação de biofilme - ompa e csue, foram pesquisados por PCR. Para a caracterização do biofilme, foram realizados ensaios em microplacas de poliestireno, em diferentes tempos e temperaturas.

**Resultados.** As taxas de resistência a meropenem, ceftazidima, ampicilina-sulbactam, tigeciclina e gentamicina foram de 90,3%, 71,0%, 61,3%, 48,4% e 25,8%, respectivamente. Nenhuma amostra foi resistente a polimixina. Todas as amostras albergavam BLAOXA23 e BLAOXA51 e nenhuma BLAOXA24, BLAOXA58 e BLAOXA143. O gene BLAVIM-1 foi encontrado em 83,9% das amostras e isab1 em 90,3%. Quanto a biofilme, csue foi detectado em 43,5% das amostras e ompa em 53,2% das mesmas. Observou-se formação de biofilme nas seguintes condições de incubação 4 h/37°C, 24 h/37°C, 24 h/25°C e 48 h/25°C para 96,7%, 95,1%, 96,8% e 98,4% das amostras, respectivamente.

**Conclusões.** Os altos índices de resistência a antimicrobianos de escolha terapêutica, a capacidade de formar biofilme em diferentes condições e a detecção de importantes genes associados a resistência e biofilme corroboram a literatura e consolidam *A. baumannii* como um adversário versátil, de difícil controle e eliminação. Apoio: fapemig, CNPQ, capes e PRPQ/UFMG.

### TLP-491. Actividad antibacteriana de extractos de líquenes antárticos contra cepas multiresistentes de *Acinetobacter baumannii*

Xabier Andoni Villanueva M.\*, Angélica Casanova Katny\*, Sergio Triviño Matus\*, Claudia Pérez M.\*, Gerardo González R.\*

\*Laboratorio De Investigación En Agentes Antibacterianos, Depto. De Microbiología, Facultad De Ciencias Biológicas, Universidad De Concepción Chile.

**Introducción.** Las infecciones causadas por *A. baumannii* son un importante problema a nivel hospitalario, ya que corresponden a infecciones con gran morbimortalidad en unidades de paciente crítico, y difíciles de tratar por ser causadas por cepas multiresistentes a antibióticos y de gran sobrevivencia en el ambiente hospitalario por formar biopelículas. Por lo anterior es necesario buscar mecanismos eficientes de control de esta especie. El objetivo de este trabajo fue identificar un extracto de líquen antártico con actividad inhibitoria sobre cepas de *A. baumannii* multiresistentes aisladas en hospitales chilenos, identificando además su fracción más activa.

**Materiales y métodos.** Se realizó ensayos en triplicado de difusión en agar con discos de papel filtro de 6 mm de diámetro conteniendo 4,5 mg de extracto total de los líquenes CONC-F 1257, CONC-F 1260 y CONC-F 1266, además de las fracciones metanólica y acetónica de dichos extractos totales. Estos discos se ensayaron contra cepas de *A. baumannii* resistentes a carbapenémicos y sobre la cepa *A. baumannii* ATCC 19606.

**Resultados.** La fracción metanólica de CONC-F 1260 presentó actividad tanto sobre la cepa ATCC (halo promedio 15,3 mm) como las cepas clínicas (halo promedio 13,3 mm), lo mismo para la fracción metanólica de CONC-F 1266 contra la cepa de colección (halo promedio 17 mm) y contra las cepas clínicas (halo promedio 12,7 mm). Las fracciones acetónicas de CONC-F 1260 y CONC-F 1266 ni ninguna de las fracciones de CONC-F 1257 presentaron actividad sobre las cepas ensayadas.

**Conclusiones.** Se concluye que el extracto total y la fracción metanólica de los líquenes antárticos CONC-F 1260 y CONC-F 1266 poseen actividad contra cepas clínicas multiresistentes de *A. baumannii*, constituyendo la base para generar nuevos biocidas que controlen el crecimiento de este importante patógeno hospitalarios.

### TLP-492. A c-type lectin from *Bothrops jararacussu* venom disrupts staphylococcal biofilms

Raphael Contelli Klein\*, Mary Hellen Fabres Klein\*, Leandro Licursi De Oliveira\*, Renato Neves Feio\*, Hilário Cuquetto Mantovani\*, François Malouin\*, Andréa De Oliveira Barros Ribon\*

\*Universidade Federal De Viçosa, Brasil.

**Introduction.** Bovine mastitis is a major threat to animal health and the dairy industry. *Staphylococcus aureus* is a contagious pathogen that is usually associated with persistent intramammary infections, and biofilm formation is a relevant aspect of the outcome of these infections. Several biological activities have been described for snake venoms, which led us to screen secretions of bothrops jararacussu for antibiofilm activity against *S. aureus*. Aim: this study aimed to explore the activity of proteases from bothrops jararacussu against staphylococcal biofilms.

**Material and methods.** Crude venom was fractionated by size-exclusion chromatography, and the fractions were tested against *S. aureus*. Biofilm growth, but not bacterial growth, was affected by several fractions. Two fractions (15 and 16) showed the best activities and were also assayed against *Staphylococcus epidermidis* NRS101. Fraction 15 was identified by maldi-tof mass spectrometry as a galactose-binding C-type lectin with a molecular weight of 14.4 kDa. The lectin was purified from the crude venom by D-galactose affinity chromatography, and only one peak was observed.

**Results.** This pure lectin was able to inhibit 75% and 80% of *S. aureus* and *S. epidermidis* biofilms, respectively, without affecting bacterial cell viability. The lectin also exhibited a dose-dependent inhibitory effect on both bacterial biofilms. The antibiofilm activity was confirmed using scanning electron microscopy. A pre-formed *S. epidermidis* biofilm was significantly disrupted by the C-type lectin in a time-dependent manner. Additionally, the lectin demonstrated the ability to inhibit biofilm formation by several mastitis pathogens, including different field strains of *S. aureus*, *S. hyicus*, *S. chromogenes*, *Streptococcus agalactiae*, and *Escherichia coli*.

**Conclusion.** These findings reveal a new activity for C-type lectins. Studies are underway to evaluate the biological activity of these lectins in a mouse mastitis model.

### TLP-493. Correlation of class 1 integron, transposon 21 and extended spectrum $\beta$ -lactamases genes in uropathogenic *Escherichia coli* strains from Mexico city

Laura Belmont M.\*, Gerardo Aparicio O.\*,  
Rosa María Ribas A.\*, Edgar González V.\*

\*Escuela Nacional De Ciencias Biológicas, IPN, Hospital Infantil De México "Federico Gómez", Facultad De Medicina, UNAM. México.

**Introduction.** Integrons are able to capture, integrate and express gene cassettes encoding proteins associated with antimicrobial resistance. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) are produced by Gram-negative bacilli that mediate resistance to different antimicrobials and are commonly recognized in *Escherichia coli* strains. Aim: investigate the correlation of class 1 integrons (INT1) with ESBLs and transposon 21 (TN21) genes in multidrug-resistant *E. coli* isolates from adults with community acquired urinary tract infections.

**Materials and methods.** The resistance to antimicrobials was determined by the disk-diffusion method. The INT1, ESBLs and TN21 genes were identified by PCR and DNA sequencing.

**Results.** Fourteen (17%) out of 81 strains were positive to TN21 genes, TNPA, TNPR and TNPM; meanwhile 41 (51%) were positive to one or two TN21 genes. However, only 28 (35%) correlated the presence of int1 and TN21 genes. None strain was positive to class 2 or class 3 integrons. Seventeen upec strains presented gene cassettes in INT1 variable region, where 9 (11%) strains showed DFRA17-AADA5 that confer resistance to aminoglycosides and trimethoprim. Twenty nine strains (36%) were positive at least to one ESBLs gene (BLATEM, BLAOXA1, BLACTX-M, or BLASHV). The blatem gene was detected in 20 strains (25%), followed by BLAOXA1 and BLACTX-M in 8 (10%) and 7 (9%) strains respectively.

**Conclusions.** The results showed that 35% of UPEC strains presented a correlation between INT1, TN21 genes, and ESBLs which can promote the spread of resistance gene by horizontal transfer.

### TLP-494. *Staphylococcus coagulase negativa* isolados em hemoculturas de pacientes internados em unidades de terapia intensiva no Brasil: identificação manual, automatizada e genotípica

Aydir Cecília Marinho M.\*, Carlos Magno Castelo B.\*,  
Adriano Martison F.\*, Ricardo De Souza C.\*, Wivian Caroline Ramos\*, Alessandro Lia M.\*, Maria De Lourdes Ribeiro De Souza\*

\*Universidade Estadual Paulista - UNESP, Brasil.

**Introdução.** A detecção de bacteremias através de hemoculturas é uma importante função do laboratório clínico, pois esclarece a etiologia de doenças e orienta a terapia antimicrobiana do paciente. Mesmo com a automação, a detecção e identificação de micro-organismos no sangue ainda são processos demorados. O sistema automatizado Vitek 2® é aparentemente promissor na realização da identificação bacteriana de forma rápida e precisa, de acordo com os dados publicados. Este estudo objetivou comparar os sistemas de identificação de espécies (manual e automatizado) na identificação de micro-organismos isolados a partir de hemoculturas.

**Materiais e métodos.** 356 amostras de sangue positivas coletadas de 220 pacientes internados em unidades de terapia intensiva do hospital das clínicas de Botucatu, São Paulo, Brasil, durante 18 meses, foram submetidas às identificações bioquímicas manuais convencionais, através de coloração de gram, isolamento em placas com meios específicos e submetidos às provas bioquímicas convencionais; identificação pelo sistema automatizado Vitek 2® através de um inóculo padrão seguindo instruções do fabricante; e identificação genotípica através da técnica de PCR para a confirmação das espécies de *Staphylococcus coagulase negativa* (ECN).

**Resultados.** Os micro-organismos isolados e identificados apresentaram concordância de 93% entre o sistema automatizado Vitek 2® e os demais métodos de identificação. A concordância na identificação de micro-organismos Gram negativos foi de 99,4% e de Gram positivos foi de 93,3%. Entre os ecn ocorreram a maior e a menor concordância, respectivamente, nas espécies *S. hominis* (100%) e *S. saprophyticus* (50%).

**Conclusões.** Nosso estudo observou maior eficiência do sistema automatizado Vitek 2® na identificação de micro-organismos Gram negativos em relação aos Gram positivos. Fato observado em estudos similares com equipamentos automatizados e explicado pela dificuldade de identificação das espécies de ecn que expressam características fenotípicas detectadas em diferentes períodos de incubação e dependentes da concentração do substrato, diminuindo assim a sensibilidade do equipamento.

### TLP-495. Polyphosphate kinase 1 from *Pseudomonas aeruginosa* pao1 as a target for novel anti-virulence molecules

Javiera A. Álvarez M.\*, Francisca Campos\*, Rodrigo Muñoz\*,  
Ricardo Cabrera\*, Carlos A. Lagos\*, Macarena Varas\*,  
Javiera Ortiz S.\*, Francisco P. Chávez\*

\*Universidad De Chile, Chile.

**Introduction.** Inorganic polyphosphate (POLYP) is essential for cell responses to stresses and stringencies, and the virulence of pathogens. Mutants lacking polyphosphate kinase 1 (PPK1) in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, responsible for polyp synthesis, are defective in motility, quorum sensing, biofilm formation, and virulence. The fact that PPK1 is not essential but affect bacterial pathogenesis and antibiotic susceptibility, highlight the importance of polyp synthesis, and particularly PPK1, as a good target for designing novel anti-virulence molecules. The aim of this work is to clone, express and purify the PPK1 enzyme from *P. aeruginosa* PAO1 to quantify the inhibitory activity of molecules that were designed to bind the active site of the enzyme.

**Materials and methods.** The PPK1 gene of *P. aeruginosa* PAO1 was synthesized with adapted codon usage from *E. coli*. The synthetic gene was cloned under the control of T7 promoter and fused to a tail of 6 histidines (H6). The protein was overexpressed in *E. coli* strain BL21-AI and was purified by affinity chromatography (ni-sepharose). The kinetic parameters of the purified enzyme were established by using a fluorescence assay with dapi (4',6'-diamino-2-phenylindole). Finally, through *in silico* drug design using a model of the PPK1 enzyme from *P. aeruginosa* PAO1, we have acquired the top 40 molecules from the library diversity set II (national cancer institute) with the highest PPK1 inhibitory potential to test the inhibitory capacity of these compounds.

**Results.** PPK1 from *P. aeruginosa* PAO1 was successfully cloned and purified from *E. coli*. Finally, we obtained several PPK1 inhibitors that will be tested in upcoming *in vivo* virulence assays.

**Conclusions.** A throughput screening was developed for testing inhibitors with putative anti-virulence molecules targeting POLYP synthesis in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1.

### TLP-496. Effect of silver nanoparticles on *S. aureus* strains: a new strategy for treatment of infection diseases?

Thais Graziela Donegá F.\*, Katheryne Martins B.\*, Sofia Fernanda Gonçalves Zorzella-Pezavento\*, Fernanda Chiuso-Minicucci\*, Larissa Lumi Watanabe I.\*, Luiza Ayumi Nishiyama M.\*, Thais Fernanda de Campos F.\*

\*Universidade Estadual Paulista, Brasil.

**Introduction.** Silver nanoparticles (AGNPS) has been widely used in many areas, including food industry, cosmetics and also medical devices. However, little is known about their toxic or beneficial effects on human health. Medical devices infections are frequently associated to *Staphylococcus aureus* that are able to produce biofilm, which is an important virulence factor. This study aimed to evaluate the effect of agnps on the biofilm production of different *S. aureus* strains. We also evaluate the cytotoxicity effect of these particles *in vitro*, using murine macrophages and lymphocytes.

**Materials and methods.** Two *S. aureus* strains were used: a positive control (ATCC 19095) and a clinical isolate obtained from a septic arthritis patient undergoing treatment at the São Paulo State University, Botucatu, São Paulo, Brazil (h-7214/10). First, the concentration of *S. aureus* strains were adjusted to 10(8) CFU/mL, which corresponds to 0.5 in the mcfarland scale. The strains were then incubated in TSB medium containing agnps for 24 h, at 37°C. The biofilm formation was investigated by bacterial adherence to polystyrene plates. To evaluate the cytotoxicity, nitric oxide (NO) production was quantified in macrophages.

ge cultures by using the griess method. The secretion of IFN-gamma, TNF-alpha, IL-6, IL-17 and IL-10 was evaluated in lymphocyte cultures by enzyme-linked immunoassay.

**Results.** AGNPS drastically reduced the biofilm formation by the *S. aureus* strains. The cytotoxic effect of AGNPS was observed on both macrophage and lymphocyte cultures. After agnps addition, murine macrophages did not produce no and lymphocytes produced lower cytokine levels.

**Conclusions.** These results demonstrated an important antimicrobial activity of AGNPS. However, cytotoxicity was also observed *in vitro*. More studies are necessary to improve the protective effect and to evaluate the toxicity of these nanoparticles *in vivo*. Financial support: 2013/09738-2, São Paulo research foundation (FAPESP).

### TLP-497. Enteroinvasive *Escherichia coli* induce autophagy in Hela cells in a process independently of ICSB

Hadassa CAS. Santos\*, Renato M. Massaro\*, Ana Carolina R. Moreno\*, Lucas G. Ferreira\*, Marina B. Martinez\*

\*Faculdade De Ciências Farmacêuticas, USP Brasil.

**Introduction.** Autophagy is an important intracellular catabolic process required for the elimination of protein aggregates and damaged organelles during a variety of conditions. As a key innate immune response, autophagy has been described as an intrinsic host defense system for recognizing and eliminating intracellular-invading bacterial pathogens. ICSB, an effector protein secreted by intracellular *Shigella*, has been shown to play a pivotal role in escape from autophagy. EIEC are closely related to *Shigella*, showing remarkable phenotypic and genotypic similarities. However, the disease induced by eiec is generally less severe than that induced by *Shigella* spp. Since eiec express much less ICSB than *S. flexneri*, our hypothesis is that EIEC are being efficiently recognized and eliminated by the host cell autophagic process. Moreover, we examined the role of ICSB in this process.

**Materials and methods.** We generate an ICSB EIEC mutant by pgem-t easy vector system, PJP5603 plasmid and DH5-APIR system. Hela cells were challenged with wild type EIEC and EIECICSB for different time points. The delipidation of LC3B were analyzed by western blot. Bafilomycin was used as a positive autophagy control.

**Results.** EIEC induce autophagy in hela cells. The delipidation of LC3B was dependent on the time point of infection, which we observed a higher LC3B-I TO LC3B-II at 2 and 4 h of bacterial dissemination. Surprisingly, EIECICSB did not increase the autophagic process and, as observed for the wild type, the autophagic process is intensified at longer times of bacterial dissemination.

**Conclusions.** Differently from *Shigella*, EIEC induce autophagy in hela cells and this process seems to be independently of ICSB. Our results suggest that other virulence factors than ICSB are involved in the autophagic process induced by EIEC and that ICSB seems to not be a mechanism of EIEC camouflage against autophagic recognition.

### TLP-498. Detection of TPEL and NETB genes in *Clostridium perfringens* isolated from healthy children

Aline Ignacio\*, Miriam Rodrigues F.\*, Mario Julio Avila-Campos\*, Viviane Nakano\*

\*Universidade De São Paulo Brasil.

**Introduction.** *Clostridium perfringens* is a constituent of the human and animal intestinal microbiota. This microorganism produces enteritis and enterotoxaemia in chickens, calves and goats, and it causes serious economic losses worldwide. *Clostridium perfringens* is able to produce several toxins, such as B-toxin and B-toxin. Toxin *Clostridium perfringens* large cytotoxin (TPEL) and necrotic enteritis toxin b-like (NETB) have also been described in isolates obtained from animal feces. In this study, the presence of tpeL and netb genes in *C. perfringens* isolated from healthy children was determined.

**Materials and methods.** Fifty five strains were previously identified as *C. perfringens* type A. bacterial growth in BHI (anaerobiosis, 48 h) was harvested by centrifugation, and DNA was extracted by using a phenol-chloroform method. The detection of genes TPEL and netb was performed by PCR.

**Results.** Of the 55 *C. perfringens*, 5 (9.1%) harbored the gene TPEL and 7 (12.7%) the gene NETB. All the 12 PCR products were purified and sequenced by using a sanger method and all of them showed, respectively, 99% of identity by comparing with data of the genbank.

**Conclusions.** Our results suggest that healthy children may act as asymptomatic reservoirs of *C. perfringens* harboring both analyzed genes, and to our knowledge this is the first report in literature of the presence of these genes in humans. Furthermore, other assays might be done to confirm the toxin synthesis and the cell cytotoxicity. Financial support: FAPESP PROC. No. 2012/10659-7, CNPQ No. 158799/2012-7 and capes. E-mail: aline.ignacio@usp.br, vivinkn@usp.br; mariojac@usp.br

### TLP-499. Efeitos de compostos de coordenação de prata em diferentes processos biológicos de *Pseudomonas aeruginosa*

Anna Clara Milesi G.\*, Lívia Vigan Da Silva\*, Andrew Kellet, Malachy Mccann\*, Ana Paula Ferreira Nunes\*, Kátia Regina Santos\*, Cátia Lacerda Sodré\*, Marta Helena Brantinha\*, André Luis Souza Dos Santos\*

\*Universidade Federal Do Rio De Janeiro Brasil.

**Introdução.** *Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria multiresistente, agente de infecções graves em pacientes imunocomprometidos. Este patógeno produz diversos fatores de virulência, destacando-se a secreção de proteases, piocianina e biofilme. Na busca de novos compostos antibacterianos, mais efetivos e com menos efeitos colaterais, verificou-se que 1,10-fenantrolina e seus derivados alteram o funcionamento de vários sistemas biológicos. No presente trabalho, foram avaliados os efeitos de compostos de coordenação de prata derivados da 1,10-fenantrolina, [AG2(3,6,9-TDDA)(PHEN)4]ETOH (PMCC75) e [AG2(3,6,9-TDDA)(PHEN)3(H<sub>2</sub>O)2]ETOH (PMCC77), sobre eventos cruciais à fisiopatologia de *P. aeruginosa*.

**Materiais e métodos.** O efeito dos compostos PMCC75 e PMCC77 no crescimento planctônico de *P. aeruginosa* foi avaliado em placas de microdiluição de acordo com clsi. Os efeitos dos compostos sobre a formação do biofilme foram analisados em dois momentos distintos: formação e desarticulação do biofilme maduro, através da incorporação de cristal violeta e redução do XTT. Para avaliar a produção de piocianina, as amostras bacterianas foram incubadas com concentrações subinibitórias dos compostos por 24 h e, em seguida, realizou-se extração orgânica do pigmento e quantificou-se por espectrofotometria.

**Resultados.** Valores médios da CMI, para os compostos PMCC75 e PMCC77, foram de 4,42 e 7,01 nm, respectivamente. Ambos compostos foram eficazes na inibição da formação do biofilme, reduzindo significativamente a biomassa e a atividade metabólica após 24 h de tratamento com concentrações de ½ e ¼ da CMI, bem como foram eficazes na desarticulação do biofilme maduro. Os compostos PMCC75 e PMCC77 também foram eficientes em bloquear a produção de piocianina, inibindo sua secreção em aproximadamente 62,5% e 48,3%, respectivamente.

**Conclusões.** Os compostos de coordenação de prata derivados da 1,10-fenantrolina foram eficientes na inibição do crescimento bacteriano bem como na atenuação de importantes fatores de virulência em *P. aeruginosa*.

### TLP-500. Distribución y susceptibilidad de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de cinco comunidades, 2013. Bogotá, Colombia

Diego Fabian Holguin\*, Francisco Javier Africano\*, Iván Alberto Méndez\*, Diana Patricia Pachón\*, Nydia Alexandra Rojas\*, Iván Mauricio González\*

\*Facultad De Medicina Universidad Militar Colombia.

**Introducción.** *Staphylococcus aureus* ha sido reconocido como un patógeno con impacto en infecciones adquiridas en la comunidad, altas tasas de mortalidad y resistencia a los antimicrobianos. El presente estudio pretende identificar el perfil de resistencia a la meticilina y vancomicina en aislamientos de *Staphylococcus aureus* provenientes de personas de diferentes comunidades en Bogotá D.C., Colombia.

**Materiales y métodos.** En 5 diferentes comunidades fueron tomadas mediante hisopado nasal 150 muestras y cultivadas en agar sangre.

Las colonias de cocos Gram positivos beta hemolíticas se les realizó la prueba de catalasa, las colonias positivas se cultivaron en agar salado manitol y se les efectuó la prueba de coagulasa. La susceptibilidad del *S. aureus* a cefoxitina, oxacilina, linezolid, clindamicina y trimetoprim sulfamethoxazol fue realizada por Kirby Bauer; la resistencia a la vancomicina se evaluó mediante e-test (biomerieux). Todas las pruebas se incubaron a 35°C y 5% de CO<sub>2</sub> durante 24 h. En algunos casos se hizo serotipificación con antisuero comercial (staphytest oxid).

**Resultados.** En cinco comunidades se aislaron 43 cepas de *S. aureus*, 25 en mujeres (58%) y 18 en hombres (42%): 88,4% (38) se tipificaron como meticilino sensibles (SAMS) y 11,6% (5) como SAMR, todas a partir de mujeres. 4 de 5 (80%) cepas de SAMR se obtuvieron de personas que viven con niños. Respecto al perfil de susceptibilidad antimicrobiana, se encontró resistencia a la clindamicina en casi un 28% para los SAMS y 60% para los SAMR; al linezolid un 44% de resistencia en los SAMS y 80% para los SAMR y para el trimetoprim sulfamethoxazol un 16% para los SAMS y 60% para los SAMR.

**Conclusiones.** Nuestros resultados muestran en las comunidades evaluadas una baja prevalencia de SAMS (25,3%) al igual para SAMR (3,3%), en contraste a estudios en trabajadores de la salud o estudiantes de medicina (prevalencia de un 30%).

### TLP-501. Incidence of colonization by Gram positive microorganisms in newborns admitted to the neonatal intensive care unit in Brazil

Thaís Alves Barbosa\*, Maria Regina Bentlin\*, Adriano Martison F.\*, Felipe Moretti C.\*, Danilo Flávio Moraes R.\*, Lígia Maria Abraão\*, Katherlyne Benini M.\*, Aydir Cecília Monteiro\*, Ana C\*

\*Department Of Tropical Diseases – Botucatu Medical School, UNESP. Microbiology And Immunology Department – Botucatu Bioscience Institute – UNESP. Brasil.

**Introduction.** The long stay in the neonatal intensive care unit (NICU) represents one of the main factors for colonization and infection by microorganisms. Newborns (neonates) undergoing intensive care have increased predisposition to infection after colonization. Objective: assess colonization by Gram positive microorganisms in neonates admitted to the NICU in hospital das clínicas (HC) of botucatu medical school - UNESP, sp, Brazil, to determine the incidence of colonization.

**Materials and methods.** The prospective study design (COHORT) included all newborns admitted to the NICU born at HC, FMB, from november 2013 to november 2014, without clinical manifestations of bacterial infections on admission. Samples were collected using sterile swabs of nasal, tracheal aspirate and anal sites and the neonates were monitored to the final outcome. The samples were subjected to gram staining and catalase test to differentiate the genres *Staphylococcus*, *Streptococcus*, and *Enterococcus* and to determine the groups *coagulase positive* and *coagulase negative*.

**Results.** 821 isolates were obtained from 161 RNS, with a total Gram-positive pathogens rate of 57.3%, with an incidence of 5.1 and it was higher in the nasal mucosa (3.0). We identified 700 (85.3%) *Staphylococcus*: 27 *Staphylococcus aureus* isolates from nasal mucosa, 2 from the anal mucosa and 1 from tracheal aspirate. The incidence analysis revealed higher rates of colonization by coagulase-negative staphylococci (CNS), with an incidence of colonization of 4.16; the largest colonization observed was on the nasal mucosa (2.68) and the lowest one was (0,12) in tracheal aspirate.

**Conclusions.** By determining the colonization of newborns, high incidence of colonization within 8 days of admission could be observed. Through the analyzes performed it is assumed that the colonization serves as a potential source of infection and accounts for the ecn prevalent infections in neonates in NICU.

### TLP-502. Biological activities of PIC from atypical enteropathogenic *Escherichia coli*

Afonso G. Abreu\*, Roberto Nepomuceno\*, Fernando Navarro-García\*, Angela S. Barbosa\*, Roxane M.F. Piazza\*, Waldir P. Elias\*

\*Instituto Butantan, Brasil.

**Introduction.** PIC is an autotransporter serine protease produced by shigella flexneri 2a, uropathogenic and enteroaggregative (EAEC) *Es-*

*cherichia coli*. Biological activities of PIC have been characterized using the prototype EAEC strain 042, showing roles in mouse intestinal colonization and resistance against serum bactericidal activity. Recently, our group detected PIC in atypical enteropathogenic *E. coli* (AEPEC). However, the attributes of pic in AEPEC are unclear. In order to evaluate that, PIC was purified from AEPEC strain BA589 and its encoding gene was deleted. Both purified pic589 and BA589ΔPIC were examined regarding the cleavage of key complement molecules, hemagglutination and mucinolytic activities.

**Materials and methods.** PIC589 was purified from concentrate culture supernatants by gel filtration. AEPEC BA589 was mutagenized by the λ Red system generating the mutant BA589ΔPIC. BA589 and BA589ΔPIC were incubated with purified complement proteins (C1Q, C2, C3 or C4) and cleavage products were analyzed by western blot. To evaluate mucinolytic effects, PIC589 and BA589ΔPIC were incubated with bovine submaxillary mucine on agarose surfaces. Mucin degradation was visualized by amido black staining. Also, PIC589 and BA589ΔPIC were incubated with rabbit erythrocytes for hemagglutination detection.

**Results.** PIC promoted direct cleavage of C3, a central molecule of the complement cascade, as well as proteins from the classical and lectin pathways, such as C4 and C2. Mucinolytic effects were detected indicating that this protease is capable of cleaving mucin. Furthermore, PIC589 presented hemagglutination activity, which was inhibited by pic antiserum preincubation.

**Conclusions.** Our data showed that PIC from AEPEC promotes mucin degradation, hemagglutination activity, and suggest that PIC may contribute to immune evasion of EPEC systemic infections by inactivating key complement molecules. So, these functions contribute to EPEC pathogenesis, increasing the severity of mucosal infection and eventually systemic disorders.

### TLP-503. Identification of the bacterial microflora of the anorectal region of *Streptococcus agalactiae* of infected pregnant women through the construction of genomic libraries using 16s rRNA gene

Fernanda De Almeida B.\*, Caroline Batista Nobre Da C.\*, Carlos Henrique Esteves F.\*, Paulo Afonso Nogueira\*, Patrícia Puccinelli O.\*

\*Federal University Of Amazonas Brasil.

**Introduction.** *Streptococcus agalactiae* (GBS) is a Gram-positive diplococcus and is present in the human gastrointestinal tract and genitourinary tract. However, when affected during pregnancy maternal infections are occurring type cystitis, pyelonephritis, endocarditis, endometritis and maternal sepsis, besides causing abortion, chorioamnionitis, premature rupture of the membranes, premature birth, and intrauterine death lethal. Perinatal disease caused by gbs is one of the emerging problems in the care of pregnant women and new borns around the world. About 70% of deaths of new borns were secondary to preventable causes, such as lack of proper care for women during pregnancy, contamination beyond the self, the vaginal region for anorectal. Thus it is necessary to describe and understand the bacteria present in this region anorectal and vaginal these patients.

**Materials and methods.** Therefore, an extraction of total DNA from EACH patient, amplification of 16s rRNA gene, with subsequent purification of the fragment and ligation in top gem-teasy vector was performed; transformation of the strain *E. coli* clones (TOP 10) and selection of recombinant clones grown on LB agar/ampicillin (100 µg/mL), IPTG (800 mcg/mL) and XGAL (80 mg/mL) at 37°C/18-20 h. 96 clones were sequenced, yielding 86 sequences (phred/phrap) viable for analysis ≥95% similarity.

**Results.** Data were compared on the bench blast data, resulting in the predominant presence of Lactobacillaceae family (50.6%), followed by *Enterobacteriaceae* (23.6%), *Bacteroidaceae* (12.4%), *Streptococcaceae* family (6.7%), *Staphylococcaceae* (2.2%), *Clostridiaceae* (2.2%), *Fusobacteriales* (1.1%) and *Bifidobacteriaceae* (1.1%).

**Conclusions.** Thus, we observed a variety of bacterial species found in the anorectal region of the pregnant woman, demonstrating that the study is crucial in order to identify this diversity in anorectal microbiota and these data contribute to the improvement of clinical diagnosis, prevention of contamination of self pregnant women.

### TLP-504. Fenotipos de resistencia y producción de biofilm de *Staphylococcus haemolyticus* productores de bacteriemias en niños en Tabasco, México

Leova Pacheco Gil\*, Flor Del Pilar Cornelio Geronimo\*, Xavier M. Bolfo L. \*, Edgardo S. Acevedo C.\*

\*Universidad Juárez Autónoma De Tabasco/  
Hospital El Niño Tabasco México.

**Introducción.** *S. haemolyticus* es la segunda especie de *Staphylococcus* coagulasa negativa en frecuencia en aislamientos recuperados de hemocultivos, causando septicemias sobretodo en pacientes sometidos a procedimientos invasivos. Tienden a ser multiresistentes y con la capacidad de producir biofilms. Objetivo. Caracterizar los perfiles de resistencia a antibióticos y la producción de biofilms de *S. haemolyticus* aislados de hemocultivos en niños.

**Materiales y métodos.** Se obtuvieron los perfiles de resistencia a antibióticos de cepas de *S. haemolyticus* recuperadas de diciembre de 2013 a junio de 2014 de niños menores de dos años, por difusión en disco de acuerdo a la CLSI, y se determinó la capacidad de producción de biofilm por la técnica de microplaca

**Resultados.** Se recuperaron 18 cepas de *S. haemolyticus*, 89 % de los pacientes eran menores de 6 meses de edad, y 90% de las cepas mostraron resistencia a la meticilina, 66% la eritromicina y clindamicina 50 % resistencia o sensibilidad intermedia a teicoplanina, no se encontraron cepas resistentes a la vancomicina. Solo el 28 % de ellos produjo biofilms.

**Conclusiones.** La identificación hasta especies de *Staphylococcus* coagulasa negativa y la caracterización de sus perfiles de resistencia así como la diversidad en cuanto su capacidad de producir biofilms, muestran a *Staphylococcus hemoliticus* como una especie emergente relacionada con las infecciones nosocomiales en pacientes menores de un años que se han sometido a procedimientos invasivos durante su hospitalización.

### TLP-505. Estudo da prevalência de bactérias resistentes a antimicrobianos na microbiota intestinal de indivíduos saudáveis

Katya Da Silva P.\*, Rosa Maria Silva\*, Antonio Carlos Campos P.\*

\*Universidade Federal De São Paulo - UNIFESP Brasil.

**Introdução.** Grande parte das bactérias envolvidas nas infecções associadas aos cuidados com a saúde habita o trato intestinal, destacando-se os bacilos Gram-negativos. O conhecimento sobre resistência bacteriana advém, geralmente, de estudos com isolados de processos infecciosos, sendo raros os trabalhos que enfocam os possíveis reservatórios destas bactérias. Objetivos. Avaliar a prevalência de bactérias Gram-negativas resistentes às quinolonas e aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos nas fezes de indivíduos saudáveis.

**Materiais e métodos.** Material fecal foi coletado de 137 doadores (0-90 anos; 67 do sexo masculino, 70 do sexo feminino) residentes na cidade de São Paulo. O isolamento foi realizado em placas com MacConkey e ácido nalidixico (50  $\mu$ g/mL); Chromagar™ ESBL; Chromagar™ KPC; MacConkey e imipenem (1  $\mu$ g/mL) e MacConkey e discos contendo carbapenems (10  $\mu$ g). A identificação e a avaliação do perfil de sensibilidade foram realizadas em sistema BD Phoenix.

**Resultados.** Foram isolados 173 (58,8%) enterobactérias e 121 (41,2%) não fermentadores de glicose, com prevalência de *Escherichia coli* (74 - 25,2%) e *Pseudomonas aeruginosa* (81 - 27,6%). Verificou-se bactérias resistentes à ciprofloxacina em 42 (30,7%) amostras, com *E. coli* resistente a este antimicrobiano em 32 (23,4%). Bactérias positivas para ESBL foram obtidas de 17 (12,4%) amostras (12 *E. coli*, 4 *Klebsiella pneumoniae* ssp. *pneumoniae* e 2 *K. pneumoniae* ssp. *Ozaenae*). Foram encontradas 19 bactérias resistentes aos carbapenems, sendo 13 resistentes ao imipenem (9 *P. aeruginosa*, 1 *K. pneumoniae* ssp. *Ozaenae*, 1 *Morganella morganii*, 1 *Proteus vulgaris*, 1 *Providencia rettgeri*), 3 resistentes ao meropenem (2 *Pseudomonas putida*, 1 *Pseudomonas* spp.) E 3 resistentes ao ertapenem (*E. coli*, *K. pneumoniae* ssp. *Ozaenae*, *K. pneumoniae* ssp. *pneumoniae*).

**Conclusões.** Os resultados demonstraram alta frequência de resistência aos antimicrobianos pesquisados, principalmente às quinolonas, sendo o trato intestinal de indivíduos saudáveis um reservatório de bactérias resistentes aos antibióticos de uso corrente.

### TLP-506. Synergistic antimicrobial activities of *Origanum vulgare* essential oil with chitosan against food pathogenic bacterial

Carla Bismarck Lopes\*, Michelle Galindo De Oliveira\*, Jessica Rodrigues DC. Da Silva\*, Mikaela Carla França C.\*, Cleide Miranda\*, Tânia Lúcia Montenegro S.\*, Thayza Christina Montenegro S.\*

\*University Federal Of Pernambuco Brasil.

**Introduction.** The production of safe and high quality food products, along with recent consumer demand for natural preservatives is challenging. Natural products, as chitosan and plant-derived essential oils, have shown antimicrobial activity. The present study evaluated the antimicrobial activity of chitosan (CHI) and *Origanum vulgare* essential oil (OVEO), separate and associates, against foodborne pathogenic bacteria.

**Materials and methods.** Inoculum of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enterica*, adjusted to  $5 \times 10^8$  colony forming units/mL, were used as test microorganisms. Chitosan with low and high molecular weight (1:1w/w), from Sigma, were solubilized in 1% acetic acid (20 mg/mL). Oveo from Ferquima, was soluble (10  $\mu$ l/mL) in BHI broth containing bacteriological agar as a stabilizing agent. The pHs of solutions were adjusted for 5.8 using NaOH. The antimicrobial assays were carried out by microdilution method in BHI broth, and subsequent incubation in BHI agar without substance test, to determine the minimum inhibitory concentration (MIC), and the minimum bactericidal concentration (MBC), respectively. Bacteria were incubated at 37°C/24 h. To MIC was used resazurin staining, as a bacterial growth. The concentration of substance test varied: CHI (600- 50  $\mu$ l), OVEO (1,0-0.005  $\mu$ l).

**Results.** Chitosan solution demonstrated MIC and MBC: 300  $\mu$ l/mL and 400  $\mu$ l/mL to *E. coli* and *S. enterica*; 200  $\mu$ l/mL and 300  $\mu$ l/mL to *S. aureus* and *I. monocytogenes*, respectively. Oveo showed MIC and MBC: 0.2  $\mu$ l/mL and 0.15  $\mu$ l/mL to *E. coli*, *S. enterica* and *S. aureus*; 0.3  $\mu$ l/mL and 0.2  $\mu$ l/mL to *I. monocytogenes*, respectively. The association of CHI and OVEO exhibited a synergistic effect by enhancing the antimicrobial activities of the oil (MIC 0.1  $\mu$ l/mL and MBC 0.15  $\mu$ l/mL for all bacteria tested).

**Conclusions.** This study demonstrates the antimicrobial activity of CHI and OVEO and the synergistic effect. This potential should be further evaluated for application in biomedical and food industry.

### TLP-507. Diseño *in silico* de una proteína quimérica de *Escherichia coli* uropatogénica y su potencial en la generación de una vacuna contra infecciones del tracto urinario

Juan Xicohtencatl Cortes\*, Victor Luna Pineda\*, Sara A. Ochoa P.\*, Ariadna Cruz C.\*

\*Hospital Infantil De México Federico Gómez, México.

**Introducción.** Cepas clínicas de *Escherichia coli* uropatogénica (UPEC) son las causantes del 90% de las infecciones del tracto urinario (ITU), asociadas a la multiresistencia. Objetivo. Diseñar *in silico* una proteína quimérica basada en las adhesinas FIMH, PAPG y CSGA de UPEC para implementar una vacuna potencial.

**Materiales y métodos.** Para este estudio, se realizaron análisis *in silico* de expresión, estructura secundaria y terciaria, parámetros fisicoquímicos y de la respuesta inmune.

**Resultados.** La proteína quimérica-FPC se generó, utilizando a FIMH+PAPG+CSGA unidas por el péptido EAAAK. Análisis de estructura secundaria-terciaria de la proteína-FPC, mostró altos contenidos de estructura beta-plegada y el péptido una alfa-hélice rígida. La proteína-FPC optimizada con ciclos de refinamiento y minimización, mostró un  $\Delta G = -13866.6$  kcal/mol. La gráfica de Ramachandran, reveló que 92.5% de aminoácidos de FPC, se localizaron en regiones permitidas mostrando un valor  $Z = -10.66$  que corresponde a estructuras resueltas con rayos-x. La predicción de estructura secundaria del ARNM, reveló una conformación ideal en la región 5' y una  $\Delta G = -844.9$  kcal/mol indicando la estabilidad del ARNM en solución acuosa. Se determinaron 22 péptidos lineales de la proteína-FPC con un valor  $\geq 0.8$  que corresponde a epítopos reconocidos por el receptor de células-B. La predicción de epítopos discontinuos a células-B, mostró 8 regiones conformacionales: una en el dominio lectina de FIMH, dos en los dominios de la pilina y lectina de PAPG, y cuatro en las vueltas beta de CSGA. La proteína-FPC mostró, 25 péptidos con alta afinidad al MHC II. La predicción de proteínas alergénicas y el mapeo de epítopos IGE, reveló a FPC como una proteína no alergénica.



**Conclusiones.** La proteína-FCP puede expresarse y purificarse *in vitro* utilizando a *E. coli* como un modelo ideal y ser considerada como un blanco potencial para la generación de una vacuna contra las ITU por UPEC.

### TLP-508. Perfil plasmidial e de resistência a antimicrobianos de isolados clínicos de *Enterobacter aerogenes* e *Enterobacter cloacae* provenientes de Recife-PE

Ana Catarina Souza L.\*, Adriane Borges C.\*, Maria Amélia Vieira M.\*, Marcelo Maranhão A.\*, Josineide Ferreira B.\*, Célia Maria Machado B. Castro\*

\*Universidade Federal De Pernambuco, Brasil.

**Introdução.** *Enterobacter* spp. têm sido responsáveis por uma alta ocorrência de infecções em um hospital público de Recife-PE, Brasil. Portanto, o objetivo desse trabalho foi caracterizar isolados clínicos de *Enterobacter aerogenes* e *Enterobacter cloacae* através do perfil de susceptibilidade a antimicrobianos e perfil plasmidial.

**Materiais e métodos.** Trinta e quatro isolados clínicos de *E. aerogenes* e 17 de *E. cloacae*, provenientes de um hospital público de Recife, foram analisados quanto ao perfil de susceptibilidade a diferentes antimicrobianos pelo método de concentração inibitória mínima. A extração de DNA plasmidial foi realizada através de "kit" comercializável e o número de plasmídeos foi visualizado em gel de agarose. O peso molecular de cada plasmídeo foi determinado por comparação com plasmídeos de tamanhos conhecidos.

**Resultados.** Os resultados mostraram que quanto ao perfil de susceptibilidade a antimicrobianos, os isolados de *E. aerogenes* e *E. cloacae*, foram classificados, respectivamente, em quatro (R1, R2, R3 e R4) e dois grupos principais (R5 e R6). Os antimicrobianos que apresentaram melhor atividade para *E. aerogenes* foram: amicacina, tobramicina, gentamicina e trimetoprim-sulfametaxazol; e para *E. cloacae*: amicacina, levofloxacina, carbapenênicos e piperacilina-tazobactam. Em relação ao perfil plasmidial, isolados de *E. aerogenes* apresentaram três perfis principais (P1, P2 e P3) e os isolados de *E. cloacae* dois perfis (P4 e P5). *E. aerogenes* apresentaram de 4 a 10 plasmídeos de <12 kb a ≥150 kb e *E. cloacae* apresentaram de 1 a 4 plasmídeos de 12 kb a 90 kb.

**Conclusões.** A maioria dos isolados de cada espécie apresentou o mesmo perfil plasmidial, mas diferentes perfis de resistência, sugerindo que um plasmídeo de mesmo tamanho pode ser portador de diferentes genes de resistência. O grande número de plasmídeos detectados, inclusive de alto peso molecular, alertam para a necessidade de estabelecer métodos de controle de disseminação de cepas de *Enterobacter* spp. E plasmídeos no ambiente hospitalar.

### TLP-509. População bacteriana no sêmen de jundiá (*Rhamdia quelen*)

Alexandre Henrique Buzzi\*, Édela Marisa Dos Santos B.\*, Nyamien Yahaut Sébastien\*, Robie Allan Bombardelli\*, Sirlei Garcia M.\*, Cleide Viviane Buzanello M.\*

\*Universidade Estadual Do Oeste Do Paraná - Campus De Toledo Brasil.

**Introdução.** Os principais microrganismos envolvidos na contaminação de sêmen de peixes são bactérias, que estão associadas ao manejo inadequado dos animais e do sêmen, que podem ocorrer durante a coleta, armazenamento e transporte. Existe interesse em identificar as espécies que compõem a microbiota microbiana do sêmen de peixes, pois estudos tem demonstrado que algumas espécies de bactérias estão associadas a prejuízos reprodutivos, como a diminuição da motilidade espermática, alterações na morfologia dos espermatozoides e na diminuição da capacidade de fertilização, além da transmissão de doenças para os humanos, podendo ocasionar em infecções no trato urinário, biliar e na pele. O objetivo deste estudo foi determinar a população bacteriana em amostras de sêmen do peixe jundiá (*Rhamdia quelen*).

**Materiais e métodos.** Foram utilizados dez jundiás submetidos a manipulação hormonal. Para a coleta, as parcelas iniciais de sêmen foram despezadas para evitar contaminação com fezes, urina, sangue e muco do animal. Foram inoculados 10 µl de sêmen em meio SDA+cloranfenicol, MCA e BHIA. As amostras foram incubadas em estufa bacteriológica a 25°C. O número de unidades formadoras de colônias (UFC) foi determinado e as bactérias identificadas pelo método automatizado Vitek-2 compact, (Biomérieux®, Inc, Missouri, USA).

**Resultados.** A população bacteriana variou de 7,68x10<sup>2</sup>±8,02x10<sup>2</sup> UFC. As amostras foram representadas por 60% de bacilos Gram-negativos (*Raoultella planticola*, *Citrobacter freundii*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae*, *Enterobacter cloacae* spp. Cloacae, *Klebsiella oxytoca*, *Sphingomonas paucimobilis*), 5% de bacilos Gram-positivos (*granulicatella elegans*), 5% de cocos Gram-positivos (*Streptococcus thoraltensis*) e 30% cocos Gram-negativos (não identificados).

**Conclusões.** A identificação das bactérias que compõem a microbiota do sêmen, contribuirá com alternativas que possam reduzir os índices de contaminação do sêmen, como emprego de antibióticos ou soluções protetoras, quanto também, na proliferação de doenças entre os animais e humanos através de métodos profiláticos.

### TLP-510. Characterization of virulence profile and LUKSF-PV regulation in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) related to ST30 background

Mariana Severo Ramundo\*, Ana Maria Nunes B.\*, Leonardo Rocchetto C.\*, Maria Cícera Silva C.\*, Bernadete Teixeira Ferreira C.\*, Agnes Marie Sá Figueiredo\*

\*Universidade Federal Do Rio De Janeiro Brasil.

**Introduction.** A number of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineages, as ST30-SCCMCIV, have spread internationally, causing uncomplicated or severe infections, including necrotizing pneumonia. Generally, ST30 isolates carry LUKSF-PV genes, encoding for the panton-valentine leukocidin (PVL). However, studies on virulence profile and gene regulation of ST30 strains have not been fully explored. In this work we characterized the virulence profile of ST30 isolates from Brazil, analyzing especially some regulatory genes involved in the modulation of LUKSF-PV.

**Materials and methods.** We performed antimicrobial susceptibility tests, *in vitro* biofilm formation assay and genotyping techniques, including PFGE and PCR, for all 20 isolates. MLST was performed to confirm ST30. To gene expression analyses, we performed RT-QPCR.

**Results.** The isolates analyzed were susceptible to non-β-lactam antimicrobials. 90% of isolates harbored LUKSF-PV genes and 95% expressed AGR-RNAIII and were unable to form biofilm. In addition, all isolates carried the enterotoxin gene cluster (EGC). The gene expression study suggested that AGR-SARA double dysfunction increased LUKSF-PV expression. In contrast to the data observed for the USA300-0114 strain, the kinetic of LUKSF-PV expression in ST30 showed a negative correlation with the temporal expression of AGR-RNAIII. However, the LUKSF-PV increased expression observed in the RNAIII-complemented mutant derived from the AGR-dysfunctional ST30 isolate showed that PVL is up-regulated by AGR. Our studies with the mutant overexpressing RNAIII and those of saers-LUKSF-PV kinetics for ST30 and USA300 isolates suggested that a differential regulation of saer was likely to be responsible for the camouflage of the rnaIII-up-regulation of LUKSF-PV observed.

**Conclusions.** The ST30 isolates from Brazil showed similar resistance and virulence profile of ST30 isolates reported in other countries. The differential expression of LUKSF-PV detected is likely to be due to an inverted saer temporal expression in these CA-MRSA isolates. The consequences of the differential SAER-LUKSF-PV modulation on virulence properties of isolates possessing ST30 background remain to be defined.

### TLP-511. Enzymatic mechanism study from DI-adenylate cyclase responsible for the C-DI-AMP synthesis in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Nathalya Cristina De Moraes Roso Mesquita\*, Marcos Vicente Albuquerque Navarro\*

\*Universidade De São Paulo Brasil.

**Introduction.** Nucleotides are molecules essential to all living cells, as they are responsible for both the RNA and the DNA formation, sources of energy and have a key role in signalling for numerous cellular processes. The last identified and related to bacterial nucleotide signalling is C-DI-AMP, which is shown as the second cyclic nucleotide to be produced by bacteria after C-DI-GMP. The C-DI-AMP is produced from two molecules of ATP by DI-adenylate cyclase, which contains as an essential characteristic the presence of disa\_n domain, where occurs the synthesis of this molecule, and may be degraded to 5'-papa when in the presence of phosphodiesterases, thus controlling its intracellular level.

Numerous studies have shown the relevance of the C-DI-AMP existence within several human pathogens that highlights the need to identify cellular pathways that produce and regulated c-di-amp. The present work aims to contribute to C-DI-AMP biosynthesis molecular mechanisms understanding from *Staphylococcus aureus* DI-adenylate cyclase.

**Materials and methods.** Cloning techniques from genomic DNA was used. Purification protocol, crystallization assays, enzymatic assays, site directed mutations, fluorescence polarization assay, electron paramagnetic resonance assay was performed in order to obtain crystal structures and study the enzymatic mechanism for the nucleotide production.

**Results.** Initial results have led to large-scale purification of a soluble portion from sa\_daca and protein crystals were obtained under various conditions, with and without its ligands. The enzyme was active in enzyme assays, having manganese as a cofactor. Substrate binding and enzymatic activity assays with site directed mutations were used to analyze dimer interface, as well as the active site and MN2+ binding site for the purpose of studying these mechanism of action.

**Conclusions.** These results generated have allowed the development of a model of action mechanism and this protein mechanism as a basis for future development of new therapies against infection of super-resistant strains of *Staphylococcus aureus*.

### TLP-512. Detection of virulence and resistance genes among *S. aureus* isolated from nasal/oral carriage in indigenous populations of Brazil

Ligia Maria Abraão\*, Carlos MCB. Fortaleza\*, Thais Alves Barbosa\*, Ana Cláudia M. L. Dos Santos\*, Eliane Patrícia L. Pereira-Franchi\*, Rodrigo M. De Souza\*, Maria De Lourdes RS. Da Cunha\*

\*Department Of Tropical Diseases - Botucatu Medical School, UNESP. Department Of Microbiology And Immunology – Botucatu Bioscience Institute - UNESP. Department Of Nursing - Federal University Of Acre - UFAC. Brasil.

**Introduction.** The racial origin is a major determinant of the risk of colonization and infection by *Staphylococcus aureus*. Due to their peculiar habits, the indigenous peoples have been more prone to such risks. Objectives: identify the frequency of virulence factors in methicillin-sensitive and methicillin-resistant *S. aureus* isolates (MSSA and MRSA) by means of PCR-detection of encoding genes of the toxic-shock-syndrome toxin (TST), alpha hemolysins (HLA), panton-valentine leukocidin (LUKS-PV and LUKF-PV), and biofilm (ICAABCD operon) in nasopharynx and oral colonizing isolates from a distinct healthy indigenous population in the Amazon region in the country.

**Materials and methods.** 183 *S. aureus* samples were obtained from the 328 collections in the nasal and oral mucosa of healthy indigenous villages located in feijó and mão lima in acre state, both belonging to the Amazon region of Brazil. For testing the antimicrobial susceptibility, disk diffusion method with cefoxitin and oxacillin impregnated disks were used. For detection of the MECA gene and virulence genes the conventional pcr technique was applied. The characterization of the scmec was performed by the multiplex PCR technique.

**Results.** From 183 isolates nasal/oral colonizing *S. aureus*, one can identify a prevalence of 55.8% from the total samples analyzed, the mrsa prevalence was 0.6%, all of them harboring scmec type iv. Regarding the detection of virulence genes, 100% of the isolates harbored the hlgene, 9.2% LUKS-PV gene, 84.1% were carrying the ICAA gene, 0.5% ICAB, 5.4% ICAC, and 68.3% icad gene.

**Conclusions.** Such results evidence the pathogenic potential of *S. aureus* strains colonizing healthy indigenous. They also show the need for greater attention by the health services to the indigenous populations considering the risks they are exposed to.

### TLP-513. Mutaciones asociadas a la resistencia a claritromicina y tetraciclina de aislados clínicos de *Helicobacter pylori*

Norma Urtiz Estrada\*

\*Facultad De Ciencias Químicas UJED, Mexico.

**Introducción.** *Helicobacter pylori* es una bacteria Gram negativa que posee la capacidad de colonizar la mucosa gástrica humana. Actualmente los tratamientos de primera línea dirigidos contra *H. pylori* no han logrado la erradicación de este microorganismo, mostrando una falla terapéutica. Las causas de los fracasos en la terapia muchas veces no quedan claras, aunque

la resistencia a los antibióticos sería el principal factor explicativo. Objetivo: identificar mutaciones en los genes RRN23S y RRN16S de aislados clínicos de *H. pylori* asociados con la resistencia a claritromicina y tetraciclina.

**Materiales y métodos.** De 40 aislados clínicos de *H. pylori*, se obtuvo adn genómico, para el fenotipo de resistencia a los cultivos se les determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI). Se amplificó la región de los genes RRN23S y RRN16S mediante PCR de los aislados clínicos resistentes a claritromicina y tetraciclina. Los productos amplificados fueron secuenciados. Las secuencias obtenidas se analizaron mediante el programa informático Bioedit.

**Resultados.** Se recolectaron 372 muestras de biopsias gástricas, 249 se reportaron positivas y 123 negativas a *H. pylori* por análisis histológico. De las muestras de biopsias gástricas se recuperaron 40 cultivos de *H. pylori*. Se realizaron pruebas de susceptibilidad por triplicado a los 40 cultivos, de estos solo se obtuvo uno resistente a claritromicina (CMI 16 mg/mL), los demás fueron sensibles tanto para claritromicina como para tetraciclina. Al analizar la secuencia del fragmento de ADN del cultivo resistente a claritromicina, se determinó que poseía la mutación puntual a2143g.

**Conclusiones.** La mutación presente que confiere resistencia a claritromicina es a2143g.

### TLP-514. β-lactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* aisladas de agua de mar de Bahía Fildes, isla Rey Jorge, Antártica

Virginia Rabbia\*, Javiera Burgos\*, Natalie Castillo\*, Helia Bello\*, Mariana Domínguez\*, Luis Vergara\*, Nancy Calisto\*, Claudio Gómez-Fuentes\*, Gerardo González-Rocha\*

\*Facultad De Ciencias, Universidad De Concepción Chile.

**Introducción.** Las β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) son el mecanismo de resistencia más importante presentado por enterobacterias frente a cefalosporinas de tercera generación en ambientes hospitalarios. Por esta razón, su presencia en ambientes naturales puede ser considerada indicador de contaminación humana. Siendo Antártica uno de los últimos ambientes prístinos del planeta, es de vital importancia su preservación evitando la contaminación humana. Por ende, resulta interesante estudiar la presencia de BLEE en bacterias indicadoras de contaminación fecal aisladas en este ambiente remoto. Objetivo: identificar BLEE en cepas de *E. coli* aisladas de muestras de agua de mar de Bahía Fildes, Antártica.

**Materiales y métodos.** En enero de 2013 y 2014 se colectaron muestras de agua de mar frente a bases científicas o militares ubicadas en Bahía Fildes, isla Rey Jorge, archipiélago Shetland del sur. Se aisló 132 cepas de *E. coli* como indicador de contaminación fecal y se investigó su comportamiento frente a antibióticos β-lactámicos, quinolonas, aminoglucósidos, fenicoles, tetraciclinas y sulfonamida-trimetoprim. Además, se pesquisó genes de β-lactamasas de las familias SHV, TEM y CTX-M, en cepas con susceptibilidad disminuida o resistencia a cefotaxima y/o ceftazidima.

**Resultados.** Se observó resistencia a casi todos los grupos de antibióticos, excepto a carbapenémicos. Todas las cepas presentaron blatem, pero ninguna presentó BLASHV ni BLACTX-M grupo 2, 8 ni 25. En las muestras colectadas el 2013, frente al punto de descarga de desechos de la base China "Gran Muralla", se aislaron 2 cepas portadoras de BLACTX-M del grupo 1 y 9; y en el año 2014, en sitios muy cercanos a los anteriores, se aislaron 4 cepas portadoras de BLACTX-M grupo 9.

**Conclusiones.** Este es el primer reporte de la presencia y persistencia de BLACTX-M del grupo 9; y el segundo reporte de la presencia de BLACTX-M del grupo 1 en Antártica, sumándose al hallazgo de BLACTX-M-15 el año 2012.

### TLP-515. High prevalence of multidrug-resistance and class 1 integrons among high virulent phylogroup B2 APEC (avian pathogenic *Escherichia coli*) strains isolated from turkeys in Brazil

Cunha Marcos Paulo Vieira\*, Oliveira Maria Gabriela Xavier\*, Oliveira Mirela Caroline\*, Da Silva Ketrin Cristina\*, Lincopan Nilton\*, Moreno Andrea Micke\*, Knöbl Terezinha\*

\*Faculdade De Medicina Veterinária E Zootecnia, Universidade De São Paulo, Brasil.

**Introduction.** Extraintestinal *Escherichia coli* (EXPEC) is a heterogeneous class of pathogens involved in numerous disease processes in humans and

animals. Expec is subdivided into uropathogenic *E. coli*, neonatal meningitis causing *E. coli* and avian pathogenic *E. coli* (APEC). APEC pathotype lead economic losses for the poultry industry. Recently, several studies have shown that some apec clones are similar to extraintestinal pathotypes that affect humans, mostly clones assigned to the phylogenetic group B2. In addition to the economic losses and the risk of transmission to humans, apec strains have a high rate of antimicrobial resistance. The aim of this study was to characterize high virulent APEC strains isolated from turkeys with airsacculitis.

**Materials and methods.** Previously 112 B2 phylogenetic group strains (Clermont *et al.*, 2000) were investigated by disk diffusion method, according to CLSI (2009). The strains were subject to the ERIC-PCR for analysis of genetic diversity and class 1 integrons (INT1) to CS-PCR technique (conserved segment PCR) (Lévesque *et al.*, 1995).

**Results.** 85% of strains (95/112) presented MDR phenotype. The highest rates of resistance were to sulfamethazine 92.8% and tetracycline 75%. Among the  $\beta$ -lactam antibiotics, resistance to amoxicillin was more prevalent (46.5%), followed by cefotaxime (11.6%), cefoxitin (7%), and cefitofur (5.3%). Among the quinolones, nalidixic acid resistance was 44.5%, followed by enrofloxacin 9% and norfloxacin 3.5%. Resistant strains to streptomycin and gentamicin comprised 53.5% and 23.2%, respectively. The 112 strains showed a prevalence of 95.5% (107/112) class 1 integron, and 85% (91/107) was multiresistant. The characterization of the apec by ERIC-PCR generated 83 different profiles with less than 90% similarity, considered a multiclonal group.

**Conclusions.** Our results show a high level of *mdr* mediated by class 1 integrons associated with multiresistant strains. Fapesp: 2011/18204-6.

### TLP-516. Differential expression and production of *E. coli* common pilus in atypical enteropathogenic *E. coli*

Danielle Dias M.\*, Fernando Henrique Martins\*, Francielli Mahnic V.\*, Waldir Pereira Elias\*, Roxane Maria Fontes P.\*

\*Instituto Butantan Brasil.

**Introduction.** Atypical enteropathogenic *Escherichia coli* (AEPEC) is one of the most frequent pathotypes that causes diarrhea in infants. Distinctly of typical EPEC (TEPEC), AEPEC does not produce bundle-forming pilus (BFP). The absence of BFP indicates that other adhesins are important to adhere the intestinal mucosa. Among them, *E. coli* common pilus (ECP) has been involved in different pathogenic processes in enterobacteriaceae. Thus in this work we investigated the expression and production of *E. coli* common pilus in atypical EPEC.

**Materials and methods.** The presence of ECP operon, consisting of five genes (ECPA, ECPB, ECPC, ECPD and ECPE) and its regulatory gene (ECPR), was searched by pcr in four isolates of AEPEC presenting the localized adherence-like pattern (BA2103, BA3378, BA4132 and BA4147). After RNA extraction from each isolate, CDNA was obtained and the expression of these genes was evaluated. Fimbrial production was directly assessed from the bacterial culture employing colony immunoblot assay using rabbit polyclonal anti-ECPA antiserum.

**Results.** It was observed that all genes comprising the ECP operon were present in all isolates, but only the isolate BA2103 fully expressed the entire operon. Also, in isolate BA4147, ECPD, which encodes the putative ECP tip, was the only gene not expressed. In isolates BA3378 and BA4132, ECPC and ECPE, encoding an usher and a chaperone, respectively, were not expressed as well. Corroborating the PCR results, only BA2103 produced ECPA, suggesting ECP production by that isolate.

**Conclusions.** Adherence of AEPEC to the intestinal mucosa seems to be a multifactorial process. Our results demonstrated that ECP might be an accessory adhesin in AEPEC, working in synergism with intimin, *espa* and others. Also, the detection of genes responsible for ECP biogenesis may not warrant ECP production. The role of ECP in the Ia-I adherence pattern of AEPEC is under study by our group.

### TLP-517. Pyoverdine is an essential virulence factor to induce zebrafish lethality in *Pseudomonas aeruginosa* pao1 polyphosphate kinase 1 mutant (PPK1)

Javiera Ortiz S.\*, Constanza Lecaros\*, Francisco Días\*, Alberto Paradelo\*, Juan P. Albar\*, Miguel Allende\*, Francisco P. Chávez\*

\*Universidad De Chile, Chile.

**Introduction.** *Pseudomonas aeruginosa* is an opportunistic pathogen that infects plants and animals, including humans. *P. aeruginosa* PAO1

secretes different virulence factors involved in acute infection and host cell damage. Mutants in the polyphosphate (POLYP) kinase 1 are less virulent in numerous animal infection models, but the mechanisms that underlie this phenotype are unknown. Zebrafish (*Danio rerio*) has been established as a useful vertebrate model for studying molecular and cellular aspects of host-pathogen interactions. In this context we evaluated the role of polyphosphate kinase 1 insertional mutant in the secretion of distinct *P. aeruginosa* virulence factors. Particularly, we assess the importance of siderophore production in the survival of zebrafish larvae after incubation with different *P. aeruginosa* mutant strains.

**Materials and methods.** The production of secreted virulence factors (elastase, protease and rhamnolipid) were assessed using specific indicator agars. The production of pyocyanin, pyoverdine and pyochelin were quantified by measuring the absorbance. Comparative Q-proteomic analyses of the extracellular proteome were performed in the PPK1 mutant using itraq method. The survival of zebrafish larvae was measured after infection by immersion with different polyphosphate (PPK1) and siderophores (PVDF and PCHF) mutant strains.

**Results.** With the exception of the siderophore pyoverdine, PPK1 mutant presented similar patterns of virulence factor production comparing with the wild type strain. The decreased pyoverdine production in the PPK1 mutant was correlated with the extracellular proteomic analyses. Q-proteomics analysis also revealed novel virulence factors that were diminished in the PPK1 mutant. The importance of pyoverdine as a virulence factor in zebrafish was confirmed by the attenuated virulence of PVDF mutant.

**Conclusions.** The reduced lethality of *P. aeruginosa* PPK1 mutant in the zebrafish model could be explained by the decrease pyoverdine production. The zebrafish model is a simple and potent host to evaluate the virulence of different mutant strains of *P. aeruginosa*.

### TLP-518. Detecção molecular do gene BLAKPC em isolados clínicos de pacientes de hospitais de São Luís-MA

Patrícia Cristina Saldanha R.\*, Martina Márcia Melo C.\*, Sirlei Garcia M.\*, Andrea Souza M.\*, Maria Rosa Quaresma B.\*

\*Universidade Ceuma, Brasil.

**Introdução.** O uso indiscriminado de antimicrobianos na prática clínica hospitalar tem exercido uma forte pressão seletiva sobre os micro-organismos. Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi pesquisar a presença de carbapenemases tipo KPC em 297 isolados clínicos oriundos de pacientes de hospitais públicos e particulares de São Luís-MA.

**Materiais e métodos.** As amostras clínicas foram coletadas no período de junho de 2012 a julho de 2013. O perfil de suscetibilidade aos diferentes antimicrobianos e a identificação fenotípica dos isolados bacterianos foram analisados pelo sistema Vitek®2. Para a detecção do gene BLAKPC foi realizada a PCR convencional.

**Resultados.** Neste estudo, foram identificados de 10 gêneros bacterianos: *Acinetobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Serratia* spp., *Pantoea* spp., *Proteus* spp., *Escherichia* spp., *Raoultella* spp. e *Aeromonas* spp. Destes, os mais frequentes foram *Acinetobacter baumannii* 129 (43,4%), *K. pneumoniae* 75 (25,2%) e *P. aeruginosa* 42 (14,1%). Dentre os hospitais participantes do estudo, 14 pertenciam à rede pública apresentando um maior número de isolados 260 (87,20%) dos isolados. Os isolados de *Acinetobacter* spp. e de *K. pneumoniae* foram sensíveis a amicacina e tigeciclina e os de *Pseudomonas* spp. foram sensíveis a amicacina e a gentamicina. Todos os isolados foram sensíveis à polimixina B. Com relação à detecção do gene *blakpc* entre os 297 isolados avaliados obteve-se 100 (33,7%) de positividade, dentre os KPC positivos os micro-organismos com maior taxa, foram *K. pneumoniae* com 80% e *E. aerogenes* com 66,7%. Sendo, que *A. baumannii* foi portadora do gene BLAKPC. A taxa de similaridade genética variou entre 96 e 100% entre as sequências obtidas para os 100 isolados positivos para o gene BLAKPC e sequências existentes no genBANK.

**Conclusões.** Os resultados da epidemiologia molecular revelaram que as bactérias da família enterobacteriaceae continuam predominantes como portadoras do gene BLAKPC e da variante 2, KPC-2

### TLP-519. Detecção e caracterização de proteínas parasporina em isolados de *Bacillus thuringiensis* citotóxicas a células de câncer humano

Elias Ferreira Sabiá Júnior\*, Érica Soares Martins Queiroz\*, José Raimundo Corrêa\*, Rose Gomes Monnerat\*

\*Universidade De Brasília, Brasil.

**Introdução.** A bactéria Gram-positiva *Bacillus thuringiensis* (BT) é amplamente conhecida devido a sua grande importância no controle biológico, graças a sua capacidade de produzir inclusões cristalinas formadas por proteínas inseticidas (CRY e CYT), ativas contra algumas espécies de insetos. Recentemente, uma nova atividade, a citotoxicidade contra células cancerosas humanas foi relatada para cristais sem atividade inseticida. Essas proteínas citotóxicas, chamadas de parasporinas, não são hemolíticas e são estruturalmente diferentes das proteínas CRY e CYT. Esse trabalho teve como objetivo identificar genes da família de parasporina através de diferentes marcadores moleculares, analisar o perfil proteico dessas estirpes e avaliar sua toxicidade para linhagens de células tumorais.

**Materiais e métodos.** Foram desenhados iniciadores específicos para identificação dos genes dos grupos de parasporina a partir de dados depositados no genbank. O perfil proteico foi analisado através de SDS-page, e a toxicidade das proteínas foram analisadas através de ensaio de MTT.

**Resultados.** 270 estirpes foram selecionadas aleatoriamente do banco de bactérias entomopatogênicas da empresa recursos genéticos e biotecnologia. 36 estirpes apresentaram padrões de amplificação para os genes de parasporina 1 e 3. O perfil proteico sugere que as proteínas secretadas por algumas estirpes possuíam o tamanho esperado para o grupo de parasporina (aproximadamente 81 e 88 kDa). As proteínas das estirpes testadas não mostraram toxicidade contra as linhagens tumorais du-145 e hela. Proteínas de duas estirpes mostraram toxicidade a células tumorais de mama MCF-7.

**Conclusões.** Tanto as provas bioquímicas quanto moleculares mostraram a presença de estirpes de BT que possuem e expressam o gene de parasporina, o qual se mostraram tóxicos para linhagens específicas de câncer. A próxima etapa do trabalho inclui o sequenciamento do gene das proteínas parasporina, a purificação, avaliação do tipo de morte celular induzido por essas toxinas e a possível utilização como marcador tumoral.

### TLP-520. *Staphylococcus haemolyticus* recovered from bloodstream infections in a teaching hospital in southern Brazil: antimicrobial susceptibility profile, biofilm formation and detection of virulence encoded genes

Ana Paula Dier-Pereira\*, Renata Perugini Biasi-Garbin\*, Caio Ferreira De O.\*, Márcia Regina Eches P.\*, Lucy Megumi Yamauchi\*, Sueli Fumie Yamada-Ogatta\*

\*Universidade Estadual De Londrina Brasil.

**Introduction.** *Staphylococcus haemolyticus* are commensal bacteria of human skin. However, these coagulase negative bacteria have emerged as important pathogen, causing opportunistic infections in hospital settings. This species is considered the second most commonly isolated bacterium from bloodstream infections. *S. haemolyticus* present high rates of antimicrobial resistance and often exhibit reduced sensitivity to glycopeptides. Besides, this bacterium has the ability to form biofilms, an important feature associated with the medical device-related infections. In this study, *S. haemolyticus* isolates recovered from blood samples of inpatients at the University Hospital of Londrina, Paraná, Brazil, were characterized by phenotypic and molecular methods.

**Materials and methods.** Twelve clinical isolates of *S. haemolyticus* were included in this study (ethic committee/uel 186/09). The antimicrobial susceptibility profile was determined by disk-diffusion test. SCCMEC typing was performed by multiplex-PCR. Biofilm formation on polystyrene was evaluated using the crystal violet method. The presence of ICAA and TST genes was detected by PCR.

**Results.** All isolates were susceptible to teicoplanin and linezolid, and all isolates were resistant to oxacillin. Resistance to ciprofloxacin and erythromycin (90%), clindamycin (83%), gentamicin (67%), trimethoprim-sulfamethoxazole (58%), tetracycline (25%) and rifampicin (17%) was also observed. The MECA gene was detected in all isolates, which were clas-

sified as SCCMEC type II (one isolate) and type IV (two isolates), and nine were non-typable by the method employed. All isolates were able to form biofilms on the polystyrene surface, though none of them harbored the ICAA gene. The *tst* gene was also not detected in any isolate.

**Conclusions.** The results describe the presence of *S. haemolyticus* capable to form biofilm and resistant to several antimicrobials in the studied hospital, indicating the importance of continuous monitoring its antimicrobial susceptibility profile. In addition, they will contribute to improving strategies for controlling the use of antimicrobials for appropriate management of infections caused by this bacterium.

### TLP-521. *Porphyromonas* and *Prevotella* in the microflora of cattle with and without periodontal lesions

Ana Carolina Borsanelli\*, Elerson Gaetti-Jardim Júnior\*, Jürgen Döbereiner\*, Iveraldo Dos Santos Dutra\*

\*Universidade Estadual Paulista "Júlio De Mesquita Filho" (UNESP) Brasil.

**Introduction.** Bovine periodontitis ("swollen face") is a multifactorial disease characterized by an acute purulent progressive inflammatory process with consequent periostitis ossificans that begins between deciduous maxillary premolar teeth of cattle at the time of eruption. Anaerobic bacteria, Gram-negative, black pigmented belonging to the genera *Prevotella* and *Porphyromonas* are associated with periodontitis in humans and animals. In cattle, the black pigmented predominate in periodontitis lesions. In order to verify the presence of species of *Porphyromonas* and *Prevotella* in samples of subgingival biofilm and periodontal pocket samples were collected between the second and third maxillary premolar teeth of 9 cattle without periodontal lesions and from periodontal pockets of 20 cattle with periodontitis, all over the age of 12 months.

**Materials and methods.** The presence of the microorganisms was evaluated by culture-independent method, by polymerase chain reaction (PCR) with specific primers.

**Results.** Of the 20 animals with periodontal lesions, 12 (60%) harbored *Porphyromonas asaccharolytica*, 15 (75%) *P. endodontalis*, 11 (55%) *Prevotella buccae*, 13 (65%) *P. intermedia*, 10 (50%) *P. loescheii*, 16 (80%) *P. melaninogenica*, 6 (30%) *P. nigrescens* and 11 (55%) *P. oralis*. From the 9 cattle without periodontal lesions, 6 (66,7%) were positive for *Porphyromonas endodontalis*, 2 (22,2%) for *Prevotella intermedia*, 1 (11,1%) for *P. loescheii*, 5 (55,6%) for *P. melaninogenica* and 1 (11,1%) for *P. oralis*. *Porphyromonas gingivalis*, *P. gulae* and *Prevotella tanneriae* were not identified at none of the samples investigated.

**Conclusions.** The results show different species of the genera *Prevotella* and *Porphyromonas* in the microflora of cattle with and without periodontal lesions.

### TLP-522. Enterobacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido en muestra fecales de niños de una comunidad nativa de la selva del Perú

Edgar Gonzales\*, Fabiola Colquechagua\*, Miguel Angel Chavez\*, Carlo Briones\*

\*Instituto Nacional de Salud del Niño/Universidad Cayetano Heredia Perú.

**Introducción.** Tanto las infecciones adquiridas en la comunidad como la colonización fecal por enterobacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) representan un reservorio que es constantemente seleccionado en la comunidad. La microbiota fecal de los niños en la comunidad puede representar un reservorio de genes productores de BLEE que son localizados en plásmidos altamente transmisibles y la propagación de estos genes entre bacterias patógenas es preocupante. El objetivo del estudio fue determinar la frecuencia de portadores fecales por enterobacterias productora de BLEE en niños de la comunidad nativa "Awajun" Uracuzá en la selva de Perú.

**Materiales y métodos.** Se colectaron muestras de heces de 24 niños de la comunidad nativa Uracuzá, Amazonas - Perú, durante diciembre de 2013. Todas las muestras se sembraron en el medio Mac Conkey con cefotaxima (4 ug/mL) y se incubaron durante 24 h a 35°C. La detección fenotípica de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido se realizó de acuerdo con el método de Jarlier.

**Resultados.** De las 24 muestras, 75% (18/24) fueron productoras de BLEE, de ellos el 54% (13/24) fueron *E. coli* y el 21% (5/24) fueron *E. cloacae*. De las productoras de BLEE el 83% fue resistente a cotrimoxa-

zol, el 50% a ciprofloxacino y el 44% a gentamicina, además la amikacina y los carbapenémicos fueron sensibles.

**Conclusiones.** Esto implica firmemente que incluso con escasa exposición al antibiótico, el poco contacto que los habitantes de la comunidad han tenido con otras comunidades y la medicina alopática ha sido suficiente para permitir la adquisición de BLEE además de establecerse y persistir en su flora comensal. De este modo, este estudio hace hincapié en las dificultades que se espera en el control de la diseminación de la resistencia mediada por BLEE.

### TLP-523. Attenuated virulence of a polyphosphate kinase 1 null mutant of *Salmonella enterica*, Serovar typhimurium in *Dictyostelium discoideum* and *Danio Rerio*

Macarena Varas\*, Sebastian Riquelme\*, Catalina Bravo-Toncio\*, Camila Valenzuela\*, Miguel Allende\*, Carlos A. Santiviago\*, Francisco P. Chávez\*

\*Universidad de Chile, Chile.

**Introduction.** Inorganic polyphosphate (polyP) deficiency in enteropathogens reduces their ability to invade and establish systemic infections in different host cells. In *Salmonella enterica*, Serovar typhimurium (*S. typhimurium*) deletion of polyphosphate kinase 1 (PPK1) gene, coding the protein in charge of polyP synthesis, reduces invasiveness, growth and survival in epithelial cells and macrophages. *In vivo*, PPK1 mutants present a significant decrease in virulence in the murine infection model. However, the role of polyP in the virulence is not well understood. In recent years, new host-pathogen models have emerged to study bacterial virulence. Particularly in the social amoeba *dictyostelium discoideum* and the fish *Danio Rerio* (zebrafish), many cellular and molecular biology tools have been developed for *in vivo* imaging of the infection progress. The aim of this work was to determine whether a  $\Delta$ PPK1 mutant of *S. typhimurium* (STM $\Delta$ PPK1) affects the social development of *D. discoideum* cells, and establishes a persistent infection in *D. rerio*.

**Materials and methods.** STM $\Delta$ PPK1 strain was generated using the allelic replacement recombination method. *S. typhimurium* wild-type and  $\Delta$ PPK1 strains with a GFP fluorescence tag were obtained by transforming PDIGC plasmid. Social development and phagocytosis assays were performed with axenic *D. discoideum* AX4 cells. For zebrafish infection, tab5 and transgenic BACmpx::cherry lines were used in static immersion assays with 6 days post fertilization larvae.

**Results.** Contrary to the wild-type strain, STM $\Delta$ PPK1 was unable to survive intracellularly in *D. discoideum*. Accordingly, this mutant enables social development of the amoeba. Similar results were obtained in zebrafish larvae, where the wild-type strain was able to colonize the anterior intestine, whereas STM $\Delta$ PPK1 poorly colonizes the intestinal middle or posterior zone.

**Conclusions.** Novel infection assays for salmonella were developed in the fish *D. rerio* and in the social amoeba *D. discoideum*. The attenuated virulence of STM $\Delta$ PPK1 in these models is in agreement with previous murine infection studies.

### TLP-524. Aporte al diagnóstico de tuberculosis del sistema XPERT TB RIF® en Colombia

Claudia Llerena\*, Angie Zabaleta\*

\*Instituto Nacional De Salud Colombia.

**Introducción.** En el año 2012 Colombia reportó cerca de 2000 cartuchos del sistema XPERT adquiridos para diagnóstico de tuberculosis y tuberculosis resistente a rifampicina. Por la expansión progresiva del sistema en el país se hace necesario realizar un análisis para conocer el aporte al diagnóstico de tuberculosis con el fin de guiar una mayor expansión y garantizar el uso efectivo y eficiente de los recursos.

**Materiales y métodos.** Análisis descriptivo retrospectivo de 2392 muestras evaluadas por sistema XPERT en la red nacional de laboratorios de Colombia durante el año 2013, se evaluó proporción de pruebas realizadas por nivel de atención, tipo de muestras, comparación del resultado de XPERT con baciloscopia y cultivo, porcentaje de detección del complejo *M. tuberculosis*, resistencia a la rifampicina y aporte al diagnóstico.

**Resultados.** 415 muestras fueron positivas para complejo *M. tuberculosis* y en 36 se identificó resistencia a rifampicina; 65% de las pruebas se realizaron en instituciones de tercer nivel de atención; 81% correspondió a mues-

tras pulmonares y 48% eran recomendadas en la política de OMS. De las muestras positivas 36 fueron negativas por baciloscopia y cultivo aportando 8,6% al diagnóstico. De los 36 casos resistentes a rifampicina cuatro fueron baciloscopia y cultivo negativo y dos baciloscopia negativa cultivo positivo.

**Conclusiones.** El país debe encaminar sus esfuerzos en la priorización de grupos de riesgo a los cuales se les debe procesar muestras por ésta metodología, y conocer el aporte real que se logra al diagnóstico de tuberculosis, así mismo propender por la incorporación de estas pruebas de tamización.

### TLP-525. Caracterización clínica y molecular de *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenémicos en instituciones de alto nivel de complejidad de Medellín

Ana Maria Ocampo R.\*, Astrid Vanessa Cienfuegos G.\*, Erika Andrea Rodriguez T.\*, Gustavo Roncancio V.\*, Patricia Sierra V.\*, Sigifredo Ospina O.\*, Lina María Echeverri T.\*, Carlos Robledo\* Judy Natalia Jiménez\*

\*Universidad De Antioquia Colombia.

**Introducción.** Actualmente la emergencia y diseminación de patógenos nosocomiales resistentes a carbapenémicos como *Klebsiella pneumoniae* ha reducido las opciones terapéuticas causando mayor morbi-mortalidad. Este estudio se propone describir las características clínicas y moleculares de aislamientos provenientes de instituciones de alto nivel de complejidad de Medellín.

**Materiales y métodos.** Estudio observacional transversal realizado en cinco instituciones de Medellín que incluyó aislamientos de *K. pneumoniae* resistentes a carbapenémicos (julio 2012-febrero 2014). A partir de la historia clínica de los pacientes se obtuvo información clínico-epidemiológica. Se realizó identificación, antibiograma (Vitek2®) y detección de carbapenemasas mediante test tridimensional y PCR. La relación genética entre los aislamientos se evaluó mediante PFGE y MLST.

**Resultados.** Se incluyeron 166 pacientes, la mayoría adultos (85%), de sexo masculino (65%). El 26% de los pacientes provenían de UCI y 45% usaron previamente piperacilina/tazobactam y/o carbapenémicos. Las infecciones urinarias fueron las más frecuentes (35%). En general se observó alta resistencia a gentamicina y ciprofloxacina. (50% y 78% respectivamente). La carbapenemasa KPC fue detectada en el 82% (n=136) de los aislamientos. Se encontró que el 35% (n=57) de los aislamientos pertenecían al linaje mundialmente diseminado ST258, así mismo estos eran portadores de KPC-3, mientras que el 65% restante (n=108) no pertenecían a este linaje y eran portadores en su mayor parte de KPC-2, seguido por KPC-3. Adicionalmente, los aislamientos que sí pertenecían al ST258 provenían principalmente de pacientes hospitalizados en dos instituciones en las cuales se había reportado previamente ocurrencia de brotes ocasionados por cepas del ST258 productora de KPC3.

**Conclusiones.** Durante este periodo de dos años la emergencia de cepas productoras de KPC-3 que no pertenecen al ST258 indica que los genes BLAKPC-2 y 3 han penetrado eficientemente varios linajes favoreciendo la endemia.

### TLP-526. Cobalt complexes for tuberculosis: intracellular activity performed *in vitro* infection model

Paula Souza\*, Carolina Oliveira\*, Heloisa Barros\*, Pedro Maia\*, Victor Deflon\*, Clarice Leite\*, Fernando Pavan\*

\*Faculdade De Ciências Farmacêuticas De Araraquara- FCFAR/UNESP Brasil.

**Introduction.** Tuberculosis (TB) is an infection disease caused by mycobacterium tuberculosis (MTB). One of its ability is to remain viable within the macrophage. Most drugs can not eliminate the bacteria is this reservoir which strengthens our research of new drugs. Objective: determine the intracellular activity (IA) of cobalt (CO) complexes *in vitro*.

**Materials and methods.** Previously we determined the minimum inhibitory concentration (MIC) against mtb H37RV (ATCC 27294), and cytotoxicity index (IC50) in two cell lines (j774a.1 macrophages and epithelial cells vero) of the co complexes. Established the selectivity index (SI), given by the ratio between IC50 and MIC, the best compounds ([COIII(1)2] CL•MEOH (1) and [COIII(1)2] CL•2H2O (2) were evaluated for ia.

**Results.** Ia was performed at two different concentrations: MIC and 4 times less than MIC. Complex 1, the IA inhibitor in MIC (12.50 µg/ml) was 57.58% and when this concentration decreased 4 times was

23.38%. Complexe 2 showed similar activity in mic (12.50 µg/mL), 57.58% of IA. However, when decrease 4 times the ia was 6.03%.

**Conclusions.** Both complexes showed significantly intracellular activity, reducing more than 50% of intracellular infection in mic concentration. In this study we identify good lead compounds that are under further studies.

### TLP-527. Padronização de teste imunocromatográfico na detecção de ESPB para o diagnóstico de EPEC e EHEC

Bruna Alves C.\*, Camila Henrique P.\*,  
Roxane Maria Fontes P.\*, Leticia Barboza R.\*

\*Instituto Butantan Brasil.

**Introdução.** Cepas de *Escherichia coli* diarreioagênica são responsáveis por 30 a 40% dos casos de diarreia grave em países em desenvolvimento, dentre elas *E. coli* enteropatogênica (EPEC) e *E. coli* enterohemorrágica (EHEC). O diagnóstico é uma ferramenta fundamental para minimizar e controlar ocorrências de doenças. Testes imunocromatográficos (IC) apresentam-se como uma alternativa por serem testes rápidos, de fácil execução e baixo custo. A proteína ESPB é secretada pela bactéria formando um poro na membrana celular para a translocação do receptor de intimina para dentro da célula alvo, portanto um potencial alvo para o diagnóstico. Desenvolvimento e padronização de um teste diagnóstico imunocromatográfico, utilizando anticorpos monoclonais (MABS) e policlonais (PABS), para detecção da proteína ESPB em isolados de EPEC e EHEC.

**Materiais e métodos.** Os MABS IGG1 e IGG2B foram obtidos através da diluição limite do clone 4B4 e testados por ELISA quanto aos seus isotipos de imunoglobulinas, afinidade pelo antígeno e captura com os PABS. O mab 4D9 e o PAB já haviam sido obtidos previamente. Aminoácidos específicos de ESPB reconhecidos pelos MABS foram determinados através de peptide array. Foram testadas diferentes posições dos MABS e PAB, bem como diferentes concentrações dos anticorpos na linha teste. Para melhor fixação dos anticorpos na membrana de nitrocelulose soluções de metanol 5%, sacarose 5% e uma combinação dos dois reagentes foram testadas.

**Resultados.** Utilizando o mab anti-ESPB IGG1 conjugado a partícula de ouro coloidal na porção da fibra de vidro e mab anti-ESPB 4D9 em concentração 4 mg/mL fixado com metanol 5% na linha de captura, o teste detectou, após apenas 20 minutos, a presença da proteína ESPB.

**Conclusões.** A utilização de testes imunocromatográficos para detecção de ESPB é uma ferramenta alternativa aos métodos tradicionais para identificação de patógenos, apresentando características que condizem com a realidade social de muitos países em desenvolvimento.

### TLP-528. Delivery of bactericidal hydrophobic compounds using amphipathic nanoparticles

Francisco Montero-Silva\*, Marcelo Kogan\*, Michael Seeger\*

\*Universidad Técnica Federico Santa María, Chile.

**Introducción.** El ciprofloxacino es un antibiótico de amplio espectro que ejerce su actividad bactericida promoviendo la acumulación intracelular del agente oxidante radical hidroxilo. Sin embargo, la biodisponibilidad de este compuesto está limitada por su baja solubilidad en fase acuosa. Las nanopartículas de oro constituyen un potencial sistema de entrega de drogas de baja biodisponibilidad. El objetivo de este estudio es diseñar un sistema basado en nanopartículas anfipáticas de oro (AAUNPS) que permita la entrega de drogas hidrofóbicas en fase acuosa.

**Materiales y métodos.** Las AuNPs se obtuvieron mediante la reducción de sales de Au(III) con citrato. La viabilidad bacteriana se evaluó mediante el recuento de colonias en placa utilizando el método de la microgota. Las AAUNPS fueron expuestas a ciprofloxacino y se cargaron mediante difusión pasiva. Cultivos de *Escherichia coli* ΔsdAB se expusieron a muestras de aAuNPs cargadas con ciprofloxacino y muestras control. Se realizó el recuento de colonias en función del tiempo.

**Resultados.** Se determinó que el ciprofloxacino adsorbido sobre las AAUNPS es el compuesto que ejerce la actividad bactericida sobre la cepa ΔsdAB. Además se demostró que la forma química que ejerce el efecto bactericida es el ciprofloxacino adsorbido sobre las aAuNPs y no el ciprofloxacino libre en fase acuosa.

**Conclusiones.** Las aAuNPs son un sistema efectivo en la entrega de compuestos bioactivos hidrofóbicos. Se espera que este trabajo sea un aporte en el campo de la nanobiotecnología y farmacología antimicrobiana.

### TLP-529. Avaliação da suscetibilidade a agentes antimicrobianos da microbiota associada a infecções odontogênicas graves

Augusto Sette-Dias\*, Cássia Silva\*, Yameric Cardoso\*,  
Evandro Abdo\*, Evandro Aguiar\*, Maria Auxiliadora Carvalho\*,  
Paula Magalhães\*, Luiz Farias\*

\*Universidade Federal De Minas Gerais Brasil.

**Introdução.** Infecções odontogênicas são processos infecciosos originados nos tecidos dentais ou de suporte, que apresentam etiologia polimicrobiana e estão associadas ao desequilíbrio da microbiota indígena. A abordagem terapêutica do quadro inclui antibioticoterapia, estabelecida, via de regra, de forma empírica. A resistência a drogas antimicrobianas é um problema extremamente relevante para a área de saúde, inclusive para a odontologia. Considerando a escassez de dados referentes ao tema, propusemos o desenvolvimento deste estudo, que visou avaliar o perfil de suscetibilidade a antimicrobianos da microbiota associada a infecções odontogênicas graves.

**Materiais e métodos.** Foram incluídas no estudo 74 amostras de cocos Gram positivos anaeróbios facultativos (n = 46) e bactérias anaeróbias obrigatórias (n = 28), isoladas de 30 pacientes hospitalizados em decorrência da doença. Os antibiogramas foram realizados segundo protocolos estabelecidos pelo CLSI.

**Resultados.** Os resultados indicaram índice elevado de suscetibilidade às drogas antimicrobianas testadas. Frequências mais altas de resistência foram observadas para eritromicina (43,5%) e clindamicina (29,7%). No que se refere a *Staphylococcus*, destacam-se as taxas de resistência a penicilina (70,0%) e ampicilina (60,0%) e, em relação aos cocos Gram positivos catalase negativos, a eritromicina (44,1%). Relativo às bactérias anaeróbias obrigatórias, a frequência mais elevada de resistência foi detectada para metronidazol (43,8%).

**Conclusões.** Os dados gerados contribuem para o conhecimento referente ao perfil de suscetibilidade a antimicrobianos de bactérias possivelmente envolvidas na etiopatogenia de infecções odontogênicas graves, podendo, inclusive, fornecer suporte para o estabelecimento de um esquema de antibioticoterapia mais adequado. Apoio financeiro: fapemig, CNPQ, capes e PRPQ/UFMG.

### TLP-530. Detección de beta-lactamasas tipo TEM, SHV y CTX-M en aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* de pacientes pediátricos en un hospital de tercer nivel de la ciudad de México

Alejandra Aquino\*, Jocelin Merida\*, Gabriel Martínez\*,  
Loraine Martínez\*, Gerardo Aparicio\*, Yair Calderón\*,  
Patricia Arzate\*, Agustín De Colsa\*

\*Instituto Nacional De Pediatría Mexico.

**Introducción.** *Klebsiella pneumoniae* es un patógeno causante de infecciones hospitalarias y comunitarias. En los últimos años se ha observado un incremento de aislamientos multirresistentes, especialmente aquellos productores de β-lactamasas de espectro extendido (BLEES). La infección por éstos patógenos condicionan un incremento en los índices de morbilidad y mortalidad, estancia hospitalaria y costos globales de atención. Objetivo. Caracterizar β-lactamasas de espectro extendido tipo SHV, TEM y CTX-M en aislamientos de *K. pneumoniae* obtenidos en pacientes pediátricos.

**Materiales y métodos.** Se seleccionaron 55 aislamientos clínicos, no repetidos de *K. pneumoniae* en un periodo de 7 meses (febrero-agosto 2013). La identificación y perfil de susceptibilidad se realizó con el sistema Phoenix® BD. La producción de BLEES se confirmó utilizando el método de difusión en disco. Se determinó el subtipo de β-lactamasas a través de PCR, secuenciación y análisis bioinformático de los genes BLASHV, BLATEM y BLACTX-M. Se estableció la relación clonal por electroforesis en gel de campos pulsados.

**Resultados.** El perfil de resistencia de los aislamientos de *K. pneumoniae* fue el siguiente: ceftriaxona 100%, ceftazidima y aztreonam 96.3% y cefepime 89%. No se observó resistencia a carbapenémicos. Se confirmó fenotípicamente la producción de BLEES en los 55 aislamientos. El gen BLATEM se detectó en 80% de los aislamientos, el gen BLASHV en 73% y el gen BLACTX-M-1 en el 98%. El subtipo de BLEES más frecuente fue CTX-M-15 en el 81.8% de los aislamientos. Los aislamientos se agruparon en ocho clonas.

**Conclusiones.** La resistencia a antibióticos beta-lactámicos observada en los aislamientos de *K. pneumoniae* se relaciona con la presencia de la BLEE, CTX-M-15.

### TLP-531. Atividade antimicrobiana de actinobactérias frente a *Staphylococcus aureus* multirresistente isolado de mastite bovina

Silvia Katrine Silva Escher\*, Bárbara De Iansã Santos Viana\*, Layla Rodrigues Serique\*, José Jeosafá Vieira De Sousa Júnior\*, Janete Magali Araújo\*, Adriana Caroprezo Morini\*

\*Universidade Federal Do Oeste Do Pará Brasil.

**Introdução.** A mastite bovina é a inflamação da glândula mamária que envolve uma série de microrganismos onde merece destaque a bactéria *Staphylococcus aureus*. Esta bactéria vem apresentando resistência à maioria dos antibióticos utilizados na rotina clínica, sendo importante a prospecção de novos compostos antimicrobianos efetivos no seu controle. O grupo das actinobactérias vem sendo estudado devido o grande potencial biotecnológico na produção de compostos bioativos de extrema diversidade química e variada ação farmacológica, especialmente compostos antimicrobianos. O objetivo deste estudo foi avaliar a ação antimicrobiana de actinobactérias isoladas de solo rizosférico de aniba parviflora (macacaporanga) frente cepas de *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolados de mastite bovina.

**Materiais e métodos.** As linhagens de actinobactérias foram isoladas a partir da diluição de 10 g de solo, seguido de diluição seriada e semeadura das diluições 10<sup>-4</sup> e 10<sup>-5</sup> em meio ISP2. As placas foram incubadas à 30°C por 21 dias sendo efetuados os repiques para isolamento e caracterização cultural. Neste estudo foram escolhidas duas linhagens para avaliação da atividade antimicrobiana através do antagonismo direto pelo método do bloco de gelose frente à cepa de *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolado de mastite bovina.

**Resultados.** Foram isoladas 25 linhagens de actinobactérias, sendo avaliado o potencial antimicrobiano das linhagens MPO8 e MPO20. A linhagem MPO-8 descreveu maior atividade antimicrobiana com halo de inibição de crescimento acima de 17 mm, correspondendo à alta atividade antimicrobiana.

**Conclusões.** Os resultados obtidos neste ensaio comprovam o potencial deste grupo de bactérias na produção de compostos antimicrobianos com espectro de ação sobre bactéria Gram positivas multirresistente.

### TLP-532. Gen BLACTX-M en cepas de *E. coli* aisladas de pacientes con infección del tracto urinario adquiridas en la comunidad. Venezuela

Militza Guzmán\*, Vicmaris Cordero\*, Andreina Villanueva\*, Ana Karina Castro\*, Hectorina Rodulfo\*, Marcos De Donato\*, Elsa Salazar\*

\*Universidad de Oriente Venezuela.

**Introducción.** La infección urinaria es cuadro clínico frecuente en el ámbito comunitario, causado principalmente por *Escherichia coli*. Sin embargo, en las últimas décadas la aparición de cepas resistentes a las oximinocetolinas, debido a la presencia del gen BLACTX-M, ha provocado importantes cambios epidemiológicos. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la presencia del gen BLACTX-M en cepas de *E. coli* productoras de β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) causantes de infección del tracto urinario.

**Materiales y métodos.** Se evaluaron 103 cepas de *E. coli* recolectadas durante el periodo enero a julio de 2009 provenientes de pacientes con urocultivo positivo (≥105 UFC/mL). Se realizó pruebas de susceptibilidad antimicrobiana a través del método de difusión en agar, ensayos de conjugación para detectar la transferencia de determinantes de resistencia a los β-lactámicos y la realización de PCR para determinar genes codificantes de enzimas β-lactamasas. La identificación de los grupos CTX-M se detectó mediante la técnica de análisis polimórfico de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP).

**Resultados.** Los mayores porcentajes de resistencia fueron para ampicilina (96,09%), cefalotina (59,41%), trimetoprim/sulfametoxazol (39,60%) y ciprofloxacina (29,70%). Del total de cepas 25,24% fueron resistentes a las cefalosporinas de tercera generación y 20,38% fueron productoras de BLEE. Se encontró transferencia de determinantes de

resistencia a los β-lactámicos y a otros antimicrobianos. El 58,33% de las cepas resistentes a las cefalosporinas de tercera generación amplificaron para el gen BLATEM, 37,50% para BLACTX-M y 25,00% para BLASHV. Los tres tipos de genes fueron identificados en las cepas transconjugantes. El gen BLACTX-M solo se encontró en cepas de *E. coli* productoras de BLEE. Los genes BLACTX-M identificados pertenecían al grupo CTX-M-1 y CTX-M-2.

**Conclusiones.** Los resultados revelan presencia de cepas resistentes a las cefalosporinas de tercera generación y productoras de BLEE causantes de infecciones urinarias en la comunidad.

### TLP-533. Impact of carbapenem resistant enterobacteriaceae isolates and frequency of BLAKPC gene in university hospital in Brazil, between 2009 to 2013

Ana Paula Dier-Pereira\*, Maysa Chueiri M. \*, Deise Palazini A. \*, Talita Cristina G. \*, Fabiana Hiromi T. \*, Karina Campanharo \*, Amanda Cristina Ishioka de O. \*, Juliana Buck D. \*, Rafael Augusto Rafaelli\*, Márcia Regina Eches P. \*, Floristher Elaine Carrara-Marroni\*, Eliana Carolina Vespero\*

\*Departament Of Microbiology, State University Of Londrina, Londrina-Parana-Brazil.

**Introduction.** Carbapenem resistant enterobacteriaceae (CRE) can be caused by a variety of mechanisms, including serine-based or metallo-β-lactamases alone or in combination with porin protein reduction. *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) producing enterobacteriaceae have been increasingly detected in many countries worldwide and very common in our region. The aim of this study was to describe the dissemination of the BLAKPC gene between enterobacteriaceae members, in university hospital, between July 2009 and December 2013.

**Materials and methods.** The samples identified by the Vitek® 2 biomérieux system. Those that were resistant to carbapenems, as described by CLSI 2013, was evaluated phenotypic and genotypic tests. As modified hodge test (MHT), boronic acid test and edta 100 mm test and the research to BLAKPC gene by PCR with specific primers.

**Results.** During 54 months studied, 13,6%(2914/21326) consecutive enterobacteriaceae isolates were identified as being carbapenem non-susceptible. The MHT was positive in 91,1%(2654/2914) isolates producing CRE. However, the gene blakpc was detected in 10,6%(2271/21326) total species, 87%(2309/2654) of isolates MHT positive and 77,9% (2271/2914) of the cre isolates. *K. pneumoniae* was the most common microorganism producing BLAKPC gene 1836/2109(87,1%), followed by *E. cloacae* 211/321(65,7%), *E. aerogenes* 42/90(46,7%), *E. coli* 59/76 (77,6%), *S. marcescens* 40/101(39,6%), *C. freundii* 41/43(95,3%), *K. oxytoca* 14/18 (77,8%) and others microorganism 28/34(82,4%). KCP-positive showed the clinical material isolated were: swab culture of surveillance 1521/2914 (52,2%), respiratory tract 562/2914 (19,3%), urinary tract 527/2914 (18,1%), blood 152/2914(5,2%), skin and soft tissue 112/2914 (3,8%) and liquid 28/2914 (1%).

**Conclusions.** This study shows the rapid spread of BLAKPC gene among isolates of enterobacteriaceae in the hospital university. However, *K. pneumoniae* is still the most common organism producing this mechanism of resistance. Our findings highlight the urgent need to develop strategies for prevention, spread and infection control. Limiting use of certain antimicrobials may be an effective strategy.

### TLP-534. Synergistic activity of phenolic compounds from plants essential oils and antimicrobial drugs against *Staphylococcus aureus* MRSA and MSSA

Mariana Albano\*, Fernanda Cristina Bérnago Alves\*, Bruna Fernanda Murbach Teles De Andrade\*, Lidiane Nunes Barbosa\*, Fabiana Barcelos Furtado\*, Luciano Barbosa\*, Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha\*, Ary Fernandes Júnior\*

\*Universidade Estadual Paulista "Júlio De Mesquita Filho" - UNESP Brasil.

**Introduction.** An increasing number of *Staphylococcus aureus* strains present resistance to diverse antimicrobial drugs and are implicated as nosocomial infections causes. The combinatory effect between conventional antimicrobial drugs and phytochemical products can be an interesting strategy to increase the effectiveness of antimicrobial drugs. This study aimed to verify the possibility of synergism between pheno-

lic compounds present in essential oils and conventional antimicrobial drugs against *Staphylococcus aureus*.

**Materials and methods.** Five phenolic compounds (citronellol, geraniol, eugenol, terpineol and cinnamaldheyde) were tested using adapted methodology from Kirby & Bauer on 20 strains of *Staphylococcus aureus* (10 methicillin-resistant (MRSA) and 10 methicillin-sensitive (MSSA). Culture medium (Mueller-Hinton agar plus 0.5% tween 80) was mixed individually with the compounds in proportion of 1/4 of minimal inhibitory concentration (MIC90%), previously obtained. Discs of 9 drugs (oxacillin (1 µg), gentamicin (10 µg), erythromycin (15 µg), sulfazotrim (25 µg), vancomycin (30 µg), penicillin G (10 u) levofloxacin (5 µg), tetracycline (30 µg) and linezolid (30 µg)) were laid on culture medium inoculated with a standardized *S. aureus* culture. Assays were performed in duplicate and values of inhibitory zones (millimeters) for controls anti-biograms (without compounds) and treatments (with compounds) were recorded after incubation (37°C/24 h). Mann-Whitney test was used as statistical analysis.

**Results.** Synergistic effects were observed against MRSA: citronellol/gentamicin, citronellol/vancomycin, citronellol/levofloxacin, citronellol/linezolid, eugenol/gentamicin, eugenol/vancomycin, eugenol/linezolid and terpineol/linezolid. Against MSSA were: citronellol/gentamicin, citronellol/vancomycin, citronellol/levofloxacin, citronellol/linezolid, citronellol/sulfazotrim, citronellol/tetracycline, eugenol/gentamicin, terpineol/gentamicin, cinnamaldehyde/linezolid, cinnamaldehyde/gentamicin, cinnamaldehyde/erythromycin, cinnamaldehyde/sulfazotrim, cinnamaldehyde/vancomycin, cinnamaldehyde/levofloxacin and cinnamaldehyde/tetracycline. There was no synergism in any of associations with geraniol (MSSA and MRSA).

**Conclusions.** In recent years MRSA had a widespread occurrence in communities outside of hospital and has emerged as a major public health concern worldwide. Results showed a useful strategy with combining antimicrobials from different origins and it can be a promising way of treatment for diseases caused by MRSA and MSSA.

### TLP-535. Evaluation of the pathogenic potential of *Yersinia enterocolitica*-like strains by adhesion and invasion assays in Caco-2 and Hep-2 cells and electron microscopy

Priscilla Fernanda Martins I.\*, Jaqueline Passaglia, Roberto Antonio De Souza\*, Lenaldo Branco R.\*, Juliana Pfrimer F.\*

\*Faculdade De Ciências Farmacêuticas De Ribeirão Preto - USP Brasil.

**Introduction.** *Yersinia frederiksenii* (YF), *Yersinia intermedia* (YI) and *Yersinia kristensenii* (YK) among other *Yersinia enterocolitica*-like (YEL) species are considered non-pathogenic. However, some data suggested that strains of these species can cause disease. Objectives: to characterize the pathogenic potential of YF, YI and YK strains of diverse origins by adhesion and invasion assays in CACO-2 and Hep-2 cells and electron microscopy.

**Materials and methods.** Adhesion and invasion assays were performed for 50 YEL strains (20 YF, 20 YI and 10 YK) using CACO-2 cells after 24 h incubation on the culture plate. Furthermore, for six selected strains chosen for electron microscopy, comprising two YF (FCF461 and FCF379), two YI (FCF321 and IP8181) and two YK (FCF410 and FCF604), the following three additional conditions were performed: CACO-2 cells after five and 12 days incubation and hep-2 cells after 48 h incubation. *Y. enterocolitica* 8081 (YE8081) strain was used as positive control. Scanning and transmission electron microscopy were performed in a Zeiss DSM 940a and Zeiss EM108, respectively.

**Results.** All 50 YEL tested adhered to CACO-2 cells after 24 h incubation at lower levels than YE8081. Only 16 strains of YF, YI and YK invaded CACO-2 cells after 24 h incubation, but less than YE8081, except for the YF food strains that invaded in average 1.1x more than YE8081. For the six YEL selected strains using CACO-2 cells after five days incubation, YK FCF410 and YF FCF461 presented a high invasion percentage, 45x and 7.2x more than YE8081, respectively. Also, the same six YEL strains adhered and invaded CACO-2 cells after 12 days incubation and Hep-2 after 48 h incubation but at lower levels than YE8081. Electron microscopy allowed the visualization of adherent and internalized bacteria in the cells.

**Conclusions.** The pathogenicity of *Yersinia frederiksenii* and *Yersinia intermedia* may be strain-dependent.

### TLP-536. Diseño, síntesis química y caracterización de péptidos con posible actividad antimicrobiana

Estheban Osorio\*, Marcela Manrique\*, Fabiola Espejo\*, Edwin Patiño\*

\*Universidad De Antioquia Colombia.

**Introducción.** La generación de resistencia hacia algunos fármacos de uso convencional por parte de las bacterias es una problemática actual, en la cual se plantea como solución promisoría los péptidos antimicrobianos. Una interesante aproximación es la síntesis química de péptidos pequeños derivados de péptidos silvestres de mayor tamaño y con actividad antibacteriana reportada. El objetivo de este trabajo fue sintetizar péptidos compuestos de 15 residuos, con estructura helicoidal y evaluar su capacidad antibacteriana en cepas multirresistentes.

**Materiales y métodos.** El diseño racional de los péptidos se realizó por medio del software Protein Check. Parámetros tales como hidrofobicidad, carga y estructura de  $\alpha$ -hélice serán considerados en los péptidos ya que están asociados con la actividad antimicrobiana. Los mejores resultados computacionales se tuvieron en cuenta para la síntesis química en fase sólida. La actividad antimicrobiana en cepas multirresistentes se evaluó por el ensayo de microdilución en caldo con bacterias Gram positivas y Gram negativas para determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) y por la actividad ATPasa.

**Resultados.** Con ayuda del software se seleccionaron potenciales péptidos antimicrobianos, que fueron sintetizados por SPSS. Luego de la síntesis, se aisló el péptido por RP-HPLC y el análisis de masas confirmó los pesos moleculares de los péptidos sintetizados.

**Conclusiones.** Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran el potencial de las herramientas computacionales y la SPSS en el diseño y obtención de nuevos péptidos antimicrobianos con potencial uso terapéutico.

### TLP-537. La formación tardía de la lesión a/e causada por *E. coli* enteropatógena atípica depende de la expresión de proteínas codificadas en LEE y reguladas por PER

Vanessa Bueris\*, Jazmín Huerta-Cantillo\*, Renato Ruiz\*, Aurora Cianciarullo\*, Waldir Elias\*, Fernando Navarro-García\*

\*Department of Cell Biology, Centro De Investigación y De Estudios Avanzados Del IPN, Cinvestav-IPN Mexico.

**Introducción.** *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) esta clasificada como EPEC típica (TEPEC) o atípica (AEPEC) basado en la presencia o ausencia del plásmido llamado factor de adherencia de *E. coli* (PEAF), respectivamente. La distinción característica de la infección por EPEC es la formación de la lesión a/e (attaching and effacing) producido sobre la mucosa intestinal. Objetivo general. Elucidar los mecanismos diferenciales para la formación de las lesiones a/e inducidos por AEPEC y TEPEC.

**Materiales y métodos.** Comparamos las cinéticas de formación de la lesión a/e inducidas por AEPEC y TEPEC. Para lo cual se usaron ensayos de fas (fluorescent actin staining) y microscopía confocal, así como ensayos de detección de proteínas bacterianas en células epiteliales mediante inmunoblot y microscopía confocal.

**Resultados.** La examinación de células epiteliales infectadas claramente mostraron una formación tardía de la lesión a/e inducida por AEPEC en comparación con TEPEC. Este retardo fue asociado con la expresión de factores de virulencia codificados en LEE (locus of enterocyte effacement). De hecho, la inserción de un plásmido que contenía PERABC, un regulador transcripcional de los factores de virulencia involucrados en la formación de la lesión a/e, dentro de cepas de AEPEC incrementaron y aceleraron la formación de las lesiones a/e. Interesantemente, la expresión amplificada y la translocación de proteínas codificadas en LEE, tales como las expresadas en los operones LEE5 (intimina) y LEE4 (ESPD), en AEPEC (PERABC) fue independiente de la adhesión bacteriana. Las cinéticas de secreción de estas dos proteínas representantes de la expresión de LEE5 y LEE4 correlacionó con la formación de la lesión a/e.

**Conclusiones.** La ausencia de PER en la red de regulación de los genes de virulencia es uno de los factores principales que retardan el establecimiento de las lesiones a/e inducidas por cepas de AEPEC.



### TLP-538. Evaluation of antimicrobial and antibiofilm activities of aromatic hydrazones and hydrazines

Muriel Primon-Barros\*, Bruna Casanova\*,  
Simone Cristina Baggio G.\*, Alexandre José Macedo\*

\*Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul Brasil.

**Introduction.** About 80% of human infections are associated with bacterial biofilms, mainly those related to medical implants, such as catheters, implants and prostheses, being a constant cause of nosocomial infection. Among the strategies to combat biofilm formation on medical devices there is the search for new molecules with antimicrobial and/or antibiofilm action. Aromatic hydrazines and hydrazones are organic compounds which have R2C=N-NR2 and R2N-NR2 functional groups, respectively. Studies have demonstrated promising applications in pharmaceutical chemistry of some of these derivatives as effective organic compounds in a broad spectrum of biological activities including antibacterial activity. Objectives: the aims of this study were to evaluate the antimicrobial and antibiofilm activities of aromatic hydrazones and hydrazines.

**Materials and methods.** The experiments were performed using ATCC strains of *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Enterococcus fecalis*, *Keblisiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis*, which were incubated with 29 distinct molecules solutions in three different concentrations (100, 25 e 5 µm) for 24 h at 37°C and then antimicrobial and antibiofilm activities evaluated by reading at 600 nm and the crystal violet technique, respectively.

**Results.** The activities found in this study were specific to *E. coli* ATCC strain. For antimicrobial activity five molecules showed promising activity in all concentrations tested, with lower microbial growth 50% compared to the untreated control. For antibiofilm activity, five molecules showed promising activity in all tested concentrations and two molecules showed promising activity concentration of 100 µm, showing formation of biofilm to 50% lower compared to the untreated control.

**Conclusions.** The results obtained showed that aromatic hydrazines and hydrazones have potential antimicrobial and antibiofilm to *E. coli*. More studies are needed to verify the potential application of these molecules in the coating of surfaces of medical devices.

### TLP-539. Regulación de la jerarquía de secreción de sustratos a través del sistema de secreción tipo III de *Escherichia coli* enteropatógena

Meztli Ofelia Gaytán E.\*, Miguel Angel Díaz G.\*, Claudia Torres V.\*,  
Julia Mariana Benítez G.\*, Norma Espinosa S.\*, Bertha González P.\*

\*Universidad Nacional Autónoma de México.

**Introducción.** *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) es una de las principales causas de diarrea infantil en países en vías de desarrollo. EPEC emplea un sistema de secreción tipo III (SST3 o inyectisoma) para translocar proteínas de virulencia, o efectores, directamente al citoplasma de la célula hospedera. El ensamblaje del SST3 es un proceso altamente regulado que ocurre de manera secuencial. Los primeros sustratos en ser secretados a través del SST3 son los sustratos tempranos (subunidades del EJE y la aguja), posteriormente se secretan los sustratos intermedios o translocadores y al final los sustratos tardíos (efectores). Las proteínas SEPL y SEPD forman un complejo que regula el cambio en la especificidad de secreción de sustratos intermedios a tardíos. Sin embargo, aún se desconoce el mecanismo a través del cual este complejo regula la secreción diferencial de sustratos. Objetivo general: determinar el mecanismo a través del cual el complejo SEPL/SEPD regula la secreción de sustratos.

**Materiales y métodos.** Se evaluó la interacción de sepl con diversos componentes del SST3 a través de ensayos de copurificación tipo pull down. Adicionalmente se realizó fraccionamiento celular para determinar la localización de CESL.

**Resultados.** Demostramos que la proteína CESL interacciona con los componentes del complejo regulador SEPL/SEPD. Adicionalmente determinamos su localización y estabilidad en diversos fondos mutantes. También evaluamos la participación del calcio en la secreción diferencial de sustratos a través del SST3 de EPEC. Finalmente, demostramos que la proteína SEPL interacciona con diversos componentes del SST3: las proteínas translocadoras, la ATPASA y la proteína del EJE. Actualmente estamos estudiando la funcionalidad de las interacciones descritas.

**Conclusiones.** SEPL interacciona con múltiples componentes del SST3. Dichas interacciones son importantes para la regulación de la jerarquía de secreción de sustratos.

### TLP-540. Perfil de resistência de *Staphylococcus* spp. Isolados de trabalhadores da atenção básica de Saúde do Brasil

Mayara Regina Pereira\*, Marinésia Aparecida Prado-Palos\*, Lara Stefânia Netto De Oliveira Leão-Vasconcelos\*, Moisés Morais Inácio\*, Paula Cristina Da Mata Lopes\*, Marielle Sousa Vilela\*, Thaís Maitan Vieira\*, José Daniel Gonçalves V.\*, Maria Alves B.\*

\*Universidade Federal De Goiás Brasil.

**Introdução.** O potencial de disseminação de *Staphylococcus* spp. Multi-resistentes em estabelecimentos de saúde tem sido uma preocupação crescente por parte de gestores e trabalhadores em decorrência dos riscos de colonização e eventual infecção a que estão expostos diante das atividades laborais. Porém, no contexto da atenção básica pouco se conhece sobre o perfil fenotípico destas bactérias. Objetivo: determinar o perfil de resistência de *Staphylococcus* spp. Na cavidade bucal e mãos de trabalhadores atuantes nas salas de curativos da atenção básica.

**Materiais e métodos.** Trata-se de um estudo epidemiológico, do tipo transversal, realizado em cinco salas de curativos da atenção básica de saúde. Coletou-se uma amostra de saliva e swab das mãos de cada trabalhador, por meio de técnica padronizada. Os espécimes foram cultivados em meios de cultura seletivos e os isolados caracterizados por metodologia convencional.

**Resultados.** Participaram da investigação 15 trabalhadores, dos quais, analisou-se 15 amostras de saliva e 15 swabs de mãos. Sendo que, quatro (26,7%) das amostras de salivas foram positivas para *Staphylococcus* spp. Dos isolados três foram de *S. aureus* e um *Staphylococcus* coagulase-negativos (cons). Três (75,0%) destes isolados apresentaram resistência concomitante à penicilina e à eritromicina, um (25,0%) isolado apresentou resistência induzível à ao grupo MLSB e um (25,0%) resistência à mupirocina. Das 15 amostras obtidas das mãos dos participantes, sete (46,7%) apresentaram-se positivas para *Staphylococcus* spp., sendo isolado um *S. aureus* e seis cons. Quatro (57,1%) destes demonstraram resistência à metilina.

**Conclusões.** Conclui-se que tanto a cavidade bucal, como as mãos dos trabalhadores das salas de curativos da atenção básica encontram-se colonizados por bactérias virulentas, com perfil epidemiológico importante para a ocorrência de infecção. Esta realidade coloca esses trabalhadores como reservatórios e disseminadores em potencial desses micro-organismos. Recomendam-se investimentos urgentes na capacitação desses trabalhadores em conformidade com as diretrizes de segurança.

### TLP-541. Actividad antimicrobiana de posibles β-peptidos frente a *Escherichia coli* O157:H7 (EC O157:H7) y *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (SARM)

Andrés Mauricio Castañeda A.\*, Marlon Yesid Caceres O.\*,  
Rodrigo Gonzalo Torres S.\*, Claudia Cristina Ortiz L.\*

\*Universidad Industrial De Santander Colombia.

**Introducción.** La resistencia a antibióticos convencionales en microorganismos es un problema prioritario de salud pública a nivel global. En la búsqueda de alternativas para contrarrestar este alarmante panorama, uno de los candidatos más promisorios lo constituyen los péptidos antimicrobianos (PAMs), debido a que presentan un amplio espectro de acción antimicrobiano, y además, inducen poca o casi nula resistencia en microorganismos. Objetivo general: obtener posibles β-péptidos sintéticos con actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina (SARM) y *Escherichia coli* O157:H7 (EC O157:H7). **Materiales y métodos.** Se diseñaron las secuencias de los péptidos *in silico* empleando herramientas bioinformáticas y se obtuvieron por síntesis química en fase sólida empleando la estrategia FMOC. A continuación, los péptidos fueron caracterizados y purificados por cromatografía líquida de alta eficiencia en fase reversa (RP-HPLC), analizada su estructura secundaria (2D) por difracción circular y su ión molecular por espectrofotometría de masas (MALDI-TOF). El efecto inhibitorio de los péptidos se evaluó *in vitro* determinando la concentración mínima

inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) mediante microdilución en caldo frente a dos cepas de reconocida resistencia antibiótica como SARM resistente a oxacilina y penicilina en contraste con ec O157:H7 resistente a tetraciclina y cefalotina.

**Resultados.** De los 7 péptidos caracterizados, el péptido A1 fue superior en inhibir a SARM en una CMI de 25 µm, mientras que se requirió una CMI de 75 µm para inhibir EC O157:H7

**Conclusiones.** Los resultados obtenidos evidencian que los PAMS sintéticos podrían inhibir el crecimiento tanto bacterias Gram positivas y Gram negativas debido a su posible mecanismo de lisis y/o permeabilización de la membrana, del cual podría diferir su potencia antibacteriana según su secuencia peptídica.

#### TLP-542. Avaliação da atividade antimicrobiana de óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* sobre cepas de *Escherichia coli* isolados de infecção urinária

Everton Luiz Revers\*, Andressa Posser\*, Eliandra Mirlei Rossi\*

\*Universidade Do Oeste De Santa Catarina- UNOESC, Campus De São Miguel Do Oeste-Sc Brasil.

**Introdução.** *Escherichia coli* é um dos principais patógenos causadores de infecções do trato urinário (ITU). O uso indiscriminado de antimicrobianos e os mecanismos de resistência bacteriana causam um aumento de bactérias multirresistentes o que dificulta a terapia de infecções causadas por esses microrganismos. Assim, o objetivo desse trabalho foi de avaliar a atividade antimicrobiana de óleo essencial de *cymbopogon flexuosus* sobre cepas de *Escherichia coli* isolados de infecção urinária.

**Materials and methods.** Foram utilizadas 10 cepas de *E. coli* provenientes de laboratórios de análises clínicas. O perfil de suscetibilidade das bactérias foi realizado através da técnica de difusão em disco, conforme métodos descritos no clinical and laboratory standards institute (CLSI, 2014). A atividade do óleo essencial de *C. flexuosus* frente as cepas de *E. coli* foi avaliada pela técnica de micro diluição em caldo em micropoços onde foi determinado a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM).

**Resultados.** Das 10 amostras analisadas, 70% foram multirresistentes com resistência principalmente para ampicilina (40% das cepas), cefalotina (50% das cepas) e sulfazotrin (50% das cepas). As cepas apresentaram para o óleo essencial CIM que variaram de 31,25 mg/mL a 250 mg/mL e CBM de 0 - 1000 mg/mL, os valores de CIM e CBM se mostraram elevados devido a multirresistência das cepas de *E. coli*.

**Conclusions.** Desse modo, os resultados permitem concluir que o óleo essencial de *cymbopogon flexuosus* possui ação antimicrobiana para cepas *E. coli* causadoras de ITU, demonstrando a importância de se realizarem estudos com o objetivo de conhecer o perfil de resistência de microrganismos causadores de ITU e possíveis substâncias que possam controlar o crescimento dessas bactérias.

#### TLP-543. Determination of resistance and virulence in *Staphylococcus* spp. Isolated from bovine mastitis in different Brazilian states

Priscila Luiza Mello\*, Patricia Yoshida Faccioli M.\*, Lisiane De Almeida M.\*, Maria Aparecida Vasconcelos Paiva Brito\*, Maria De Lourdes Ribeiro De Souza Da Cunha\*

\*Departamento De Microbiologia E Imunologia, Instituto De Biociências, UNESP-Univ. Estadual Paulista, Botucatu, SP, Brasil. Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária. Universidade Paranaense. Brasil.

**Introduction.** Mastitis is a common infection found in dairy cattle and frequently caused by *Staphylococcus* spp. Since milk is essential for human consumption, the objective of this study was to identify the profile of resistance and virulence of these isolates, upon detection of the gene MECA, featuring of staphylococcal cassette chromosome and operon ICA that contains the ICAADBC genes that encode the polysaccharide intercellular adhesion (PIA), the main component responsible for the adhesion between the bacteria and the production of biofilm.

**Materials and methods.** One hundred and eighty one samples of *Staphylococcus* spp. Were studied, all of them were originated from the bank of embrepa dairy cattle, from six different Brazilian states, representing the south, southeast and northeast regions of Brazil.

**Results.** Form the results found, 78 (43%) of the samples were identified as *Staphylococcus aureus* and 103 (56%) as coagulase-negative *Staphylococcus*, where the more prevailing species were *S. epidermidis* (23%) and *S. chromogenes* (20%). The detection of oxacillin resistance genes (MECA) and biofilm encoders was performed by PCR technique. It was possible to observe the presence of the MECA gene in 8 (4,4%) isolates of *S. epidermidis*, which were from the south and southeast region. Regarding characterization SCCMEC 4 (50%) were classified as type I, and 4 (50%) were classified as type IV. a total of 79 (43%) of samples showed the ICAA gene, 24 (13%) ICAB, 57 (31%) ICAC and 127 (70%) the ICAD, while 3 (6%) of samples of *S. epidermidis* showed the complete operon.

**Conclusions.** The presence of the MECA gene proves that the cattle can accommodate in the milk strains of resistant *S. epidermidis* that can be the source of resistance genes for para *S. aureus*, as well as being spread to humans, since the high presence of genes related to the production of biofilm increase the ability to colonize and difficulties in treating infections caused by these microorganisms.

#### TLP-544. Integrones de clase 1 y 2: relación con la filogenia y la virulencia en *Escherichia coli* uropatógeno

Magela Dolores Laviña U.\*, Maria Luisa Poey L.\*

\*Facultad De Ciencias Uruguay.

**Introducción.** En un estudio epidemiológico previo, en una colección de aislamientos de *Escherichia coli* uropatógeno (UPEC) se identificaron cinco perfiles de virulencia definidos por la presencia de ciertos genes de virulencia y por la ausencia de otros. Algunos perfiles se asociaron a un determinado grupo filogenético. Las resistencias antibióticas se distribuyeron en forma no azarosa dependiendo del perfil de virulencia de los aislamientos. Objetivo general. Releva la presencia de integrones asociados a resistencias antibióticas en la colección de UPEC con el fin de evaluar posibles correlaciones entre integrones, filogenia y virulencia.

**Materiales y métodos.** Se estudiaron los 230 aislamientos de la colección de UPEC previamente presentada. Se relevó por PCR la presencia de los genes para las integrasas de los integrones de clase 1 y 2, y se amplificó y secuenció la región del promotor PC de los integrones de clase 1.

**Resultados.** El 22% de los aislamientos fue positivo para integrones de clase 1 y el 8% para los de clase 2. En ambos casos, los integrones se distribuyeron de manera desigual entre los cuatro principales grupos filogenéticos de *E. coli*: los de clase 1 predominaron en el grupo D y los de clase 2 estuvieron casi ausentes en este grupo. En relación a la virulencia, los integrones se concentraron en algunos contextos y estuvieron ausentes o casi ausentes en otros. Las variantes del promotor PC de los integrones de clase 1 también presentaron una distribución no azarosa entre los aislamientos con distinto perfil de virulencia: uno de los perfiles se asoció totalmente a la variante PCH1 del promotor.

**Conclusiones.** En cepas de UPEC, los integrones de clase 1 y 2 se asocian preferentemente a determinados contextos de filogenia y virulencia. Se requieren más estudios para abordar las causas de este fenómeno.

#### TLP-545. Caracterización preliminar de *Escherichia coli* productor de toxina shiga O174

Cecilia Cundon\*, María Valeria Rumi\*, Ximena Blanco Crivelli\*, Pilar Gadea\*, Felipe Schelotto\*, Gustavo Varela\*, Nora Lía Padola\*, Adriana Bentancor\*

\*Cátedra De Microbiología. Cátedra De Patología, Facultad De Ciencias Veterinarias, Universidad De Buenos Aires, Argentina. Depto. De Bacteriología Y Virología. Instituto De Higiene. Facultad De Medicina. Universidad De La República. Monteví Argentina.

**Introducción.** Dentro de los cuatro serogrupos no-o157 de *Escherichia coli* shigatoxigénico (STEC) prevalentes en Argentina causantes de síndrome urémico hemolítico se identificó o174 (Rivas, 2013). Se postula que los reservorios de las cepas STEC son los rumiantes y la vía de infección es fecal-oral. Objetivo: evaluar el perfil de virulencia de cepas o174 de circulación regional.

**Materiales y métodos.** Se analizaron 15 cepas: 8 de carne molida y 7 de origen animal (6 bovinos -3 en pastura, 3 en feedlot- y 1 rata). Los aislamientos provenientes de Argentina (12) y Uruguay (3) fueron confirmados por procedimientos convencionales; el patotipo y serogrupo mediante PCR (STX1/2 y WZXO174, respectivamente). Los controles utilizados fueron: O174:H28 DG131/3 y O157:H7 EDL 933. Se estableció

la presencia de factores de virulencia adicionales: intimina (EAE), adhesina autoaglutinante (SAA), adhesinas afimbriales (AFAC), enterohemolisina (EHXA), gen regulador del hierro (IHA), toxina letal de distensión del citoesqueleto (CDTVA-CDTVB). Se determinó el clado filogenético (Clermont, 2000) y la presencia de genes marcadores de otras *E. coli* diarreogénicas.

**Resultados.** En 12/15 cepas analizadas se confirmó el serogrupo por PCR. Las 12 fueron STX2 positivas y ninguna STX1. Se detectó: 12/12 AFAC, 2/12 SAA, 2/12 EHXA, y 8/12 IHA. No se detectó EAE, CDTVA, CDTV. De acuerdo al esquema de Clermont las cepas pertenecen a clados intestinales A0 (3/12) o B1 (9/12). No se detectaron marcadores de otros patotipos, excepto asta, responsable de la producción de la enterotoxina 1 termoestable (EAST1) de *E. coli* enteroagregativa (EAGGEC). La presencia de ASTA, indicador de cepas EAGGEC, no fue corroborado con los otros marcadores para el patotipo (AGGR/AAIC).

**Conclusiones.** Se confirmó que las cepas de circulación regional de o174 eran portadoras de la toxina más potente (STX2) e independientemente de la fuente de aislamiento, su filogenia es intestinal. Mayores estudios sobre este serogrupo deben realizarse para explicar su emergencia. (UBACYT/SENASA/PICT2010-01355).

### TLP-546. Perfil de resistencia bacteriana en urocultivos de pacientes ingresados en un hospital del oriente Ecuatoriano

Cesar I. Ruano N.\*, Luis E. Mogrovejo\*, Juan M. Leon\*

\*Facultad De Ciencias Médicas De La Universidad Central Del Ecuador, Ecuador.

**Introducción.** En el Ecuador las pielonefritis de origen comunitario son causa de gran morbimortalidad. El uso irracional de antibióticos y los cambios en los perfiles de sensibilidad de los uropatógenos requiere una revisión periódica de resistencia antibiótica. Objetivo: determinar la resistencia bacteriana en urocultivos de pacientes con diagnóstico de pielonefritis ingresados en el hospital estatal de Baeza, provincia del Napo, Oriente Ecuatoriano, desde el 1 de mayo del 2013 al 31 de julio del 2014.

**Materiales y métodos.** Se incluyeron en el estudio todos los urocultivos de pielonefritis confirmados por clínica y exámenes de laboratorio. La información se obtuvo de las historias clínicas. El cultivo de las muestras se realizó en agar sangre y MacConkey y la identificación del germen por método manual y API 20E. La resistencia a los antibióticos se realizó utilizando discos de sensibilidad antimicrobiana, evaluados de acuerdo a normativas NCCLS.

**Resultados.** Se analizaron un total de 409 urocultivos. El germen más frecuentemente aislado fue *E. coli* 78.7%, *Proteus* spp. 5.1%, *Enterobacter* spp. 3.4%, otros 7.2%. La frecuencia de gérmenes productores de betalactamasas de espectro extendido fue *E. coli* 3.7%, *Klebsiella pneumoniae* 1.2%, *Klebsiella oxytoca* 0.5%, *Proteus* spp. 0.2%. Se encontró resistencia a ampicilina en 84.98%, cefalexina 72.9%, trimetoprim-sulfametoxazol 62.2%, ciprofloxacino 50.3%, fosfomicina 39.4%, gentamicina 35.7%, ampicilina sulbactam 31.00%, ceftriaxona 28.9%, amikacina 24.1%, imipenem 13.3% y vancomicina 12.5%

**Conclusiones.** La bacteria más frecuentemente aislada fue *E. coli* con alta resistencia a los fármacos más utilizados en el tratamiento de pielonefritis. Llama la atención la elevada incidencia de cepas productoras de BLEE (5.6%) en un hospital básico ubicado en el oriente ecuatoriano y la presencia de resistencia bacteriana a antibióticos como ceftriaxona, amikacina, imipenem y vancomicina.

### TLP-547. Estudio de la presencia de los factores de virulencia usando genes PAI en cepas de *Helicobacter pylori* aisladas de biopsias gástricas de pacientes del Valle de Aburrá

Laura Pabón\*, Gabriel Bautista\*, Diego Chávez\*, Estefany Arenas\*, Rodrigo Castaño†, Mauricio Corredor\*‡

\*Grupo Gebiomic, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Instituto de Biología, Universidad de Antioquia. †Grupo Gastrohepatología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. ‡Grupo Genética, Regeneración y Cáncer, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

**Introducción.** *Helicobacter pylori*, declarada como carcinógeno tipo 1 por la OMS, es señalada como una de las principales causas de muerte

por cáncer en Colombia, afectando al 80% de la población de los países en desarrollo, causando además patologías gástricas como úlceras estomacales, dispepsia funcional, gastritis y linfomas tipo MALT, siendo para este último el principal agente etiológico. La presencia de los factores proteicos de virulencia *vacA*, *cagA*, *iceA* y *babA2* (genes PAI), y su asociación con las patologías anteriormente mencionadas, pueden usarse como marcadores de virulencia en cepas de la especie en cuestión. En Antioquia se han realizado pocos estudios caracterizando genéticamente estos grupos virulentos. Objetivo: determinar la prevalencia de los factores proteicos de virulencia, asociados a los genes PAI, en pacientes con dispepsia funcional del Valle de Aburrá.

**Materiales y métodos.** Se recolectaron biopsias en dos centros hospitalarios de primer nivel de Medellín. De cada una de las biopsias se extrajo ADN con el kit Quiagen QIAamp® DNA Blood Mini Kit 250, previa maceración en tubos falcon de 15 mL. Se estableció la frecuencia de los genotipos hallados, así como su caracterización según su "nivel de virulencia" en relación al genotipo de los genes PAI. Se cultivaron varias de las cepas aisladas procesadas en agar sangre incubándose a 37°C en anaerobiosis por 72 h.

**Resultados.** De las biopsias procesadas, el 26% resultaron positivas para *H. pylori*, con 18 genotipos distintos presentes. En éstos genotipos se encontraron factores de virulencia como CagA+/VacAs1/m1 que es un genotipo muy virulento, CagA+/VacAs1 y CagA+/VacAs2 que son considerados de muy baja virulencia, y genotipos caga- que son factores de virulencia moderada.

**Conclusiones.** En las biopsias aisladas se encontraron cepas de *H. pylori* altamente virulentas (causante de linfoma) así como cepas inocuas. Se pretende continuar el seguimiento a los pacientes con genotipos muy virulentos.

### TLP-548. Study of the relationship between different species of pathogenic bacteria in biofilm formation

Mariana Paz\*, Alexandre José Macedo\*

\*Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul Brasil.

**Introduction.** *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis* are opportunistic pathogens and the treatment is challenging considering their tendency to form biofilm. Biofilms may not be the result of colonization by a single species, but rather of contributions from various pathogenic bacteria. Diseases associated with polymicrobial biofilms have gained attention due to their clinical implications in terms of persistence, treatment and the interspecies interactions that remain largely inexplicable. Therefore, this study proposes to evaluate the interaction between pathogenic bacteria of different species and biofilm formation.

**Materials and methods.** Bacterial suspensions of *P. aeruginosa* and *S. epidermidis* were incubated in 96 well plates at different concentrations, obtained by serial dilution of 10<sup>4</sup>, 10<sup>5</sup>, 10<sup>6</sup> and 10<sup>7</sup> Cells/mL for 24, 48 and 72 h at 37°C. A serie of 48 distinct combinations was performed to evaluate biofilm formation and the concentration of adhered cells was assessed by staining with crystal violet reading at 570 nm.

**Results.** The ability to form polymicrobial biofilms of *P. aeruginosa* and *S. epidermidis* was tested. Although *P. aeruginosa* have been shown to be a strong formation in monoculture biofilm, reaching a measure of 1.5 in ABS570 when in 10<sup>5</sup> cells/mL a more substantial biofilm was observed in presence of *S. epidermidis*, showing measures higher than 3.0. Importantly all dual-strain combination we performed presented higher biofilm formation compared to strains alone, confirming the possibility of *S. epidermidis* interact synergistically with *P. aeruginosa*. However, when higher concentrations of *P. aeruginosa* (10<sup>4</sup> cells/mL), the combinations show less synergy.

**Conclusions.** Our studies show that co-cultured increase in biofilm formation when compared to monoculture, suggesting that the constituents of the mixed biofilm and the interactions influence the development and shape the community. Polymicrobial biofilms are significantly more resistant to antimicrobial treatment, however, we evaluate susceptibility only against mono-species biofilms, reinforcing the need for studies.

### TLP-549. El SRNA SROC de *Salmonella typhimurium* modula negativamente la expresión de KATE

Danitz Fuentes P.\*, Paulina Calderón R.\*, Lillian G. Acuña O.\*, Sebastian Jerez N.\*, Carolina Cabezas M.\*, Alan Briones G.\*, Claudia Saavedra\*, Fernando Gil Michell\*, Iván Calderón L.\*

\*Universidad Andres Bello, Chile.

**Introducción.** Las bacterias pueden responder a diversas condiciones de estrés y mantener su homeostasis mediante la expresión de RNAs pequeños (SRNAS). Estas moléculas de RNA no codificante pueden regular positiva o negativamente la expresión génica, a nivel post-transcripcional, mediante apareamiento de bases con un mRNA específico. SROC es un SRNA presente en enterobacterias tales como *Salmonella typhimurium*, posee aproximadamente 160 nt y su función es desconocida a la fecha. Con el propósito de obtener indicios acerca del rol de este SRNA, en primer lugar se evaluó la expresión del SROC en las distintas fases de crecimiento de *S. typhimurium* y luego se procedió a identificar posibles blancos para este SRNA.

**Materiales y métodos.** El perfil de expresión de SROC, en fase de crecimiento exponencial y estacionaria, fue evaluado mediante QRT-PCR. Mediante un análisis bioinformático se realizó una predicción de posibles mRNA blancos para SROC. Posteriormente dichos blancos fueron validados por QRT-PCR, tanto en una cepa que sobreexpresa el SRNA, como también en una cepa de *S. typhimurium* deficiente en el gen SROC. El efecto regulatorio de SROC fue evaluado también mediante un zimograma de actividad enzimática de uno de sus putativos blancos, en las cepas antes mencionadas.

**Resultados.** La expresión de SROC es inducida de manera significativa en la fase estacionaria de crecimiento de *S. typhimurium*. Interesantemente, mediante el análisis bioinformático se identificó de manera preliminar que uno de los posibles mRNA blancos de apareamiento para SROC, corresponde al mRNA KATE que codifica para la catalasa KATE de fase estacionaria. Mediante QRT-PCR y un zimograma de actividad para KATE, se verificó que en la cepa de *S. typhimurium* que sobreexpresa SROC, la expresión de KATE disminuye de manera significativa.

**Conclusiones.** Los resultados sugieren que el SRNA SROC de *S. typhimurium* modula de manera negativa la expresión de KATE.

### TLP-550. Screening de inhibición de propóleos nacionales sobre las cepas cárnica de *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* y *Listeria sp.*

Alvaro Partarrieu\*, Marisol Alvear\*, Gonzalo Tortella\*, Natalia Barua\*, Katalina Larraguibel\*, Isabel Soto\*, Maribel Parada\*, Olga Rubilar\*

\*Universidad De La Frontera Chile.

**Introducción.** La resistencia bacteriana desde hace muchos años ha ocasionado distintos problemas sobre las enfermedades, causando diversos cuadros epidemiológicos que cada vez son más difíciles de controlar con el espectro de antibióticos disponible, teniendo que, en muchos casos aumentar las concentraciones utilizadas, contribuyendo a una resistencia bacteriana aún mayor. El uso de procesos biológicos naturales para la obtención de productos o moléculas que posean un efecto antimicrobiano, abre una puerta a la utilización de elementos naturales, sean estos procedentes de plantas y/o animales, entre otros, para el tratamiento de cuadros clínicos ocasionados por distintas bacterias. Para este trabajo se propuso inhibir el crecimiento de tres cepas bacterianas causantes de enfermedades transmitidas por los alimentos (*Escherichia coli*, *Salmonella sp.* y *Listeria sp.*).

**Materiales y métodos.** Se realizaron mediciones de inhibición *in vitro* de 61 muestras de propóleos proporcionadas por el consorcio apícola S.A. Valdivia, Chile, utilizando la técnica de difusión en agar (método Kirby-Bauer). Se seleccionaron 13 muestras para su formulación y análisis de concentración mínima inhibitoria y bactericida, así como, para la evaluación del contenido de polifenoles y flavonoides totales.

**Resultados.** Los resultados obtenidos del screening antimicrobiano realizado, confirman la capacidad antimicrobiana de algunos extractos de propóleos sobre las cepas utilizadas. Los datos obtenidos del recuento en placa de distintas concentraciones de los extractos formulados demuestran la disminución del crecimiento bacteriano en distinta medida, según la concentración utilizada, teniendo los mejores efectos sobre *Listeria sp.*

**Conclusiones.** Para las cepas de *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* y *Listeria sp.* Utilizados en este estudio se recomiendan las muestras P11, P26 y P49 para las 3 cepas y las muestras P17 y P20 para *Listeria sp.* y *Escherichia coli*, lo que nos indica que es posible utilizar antimicrobianos de origen natural basados en el propóleos para la inhibición de estas cepas bacterianas.

### TLP-551. Avaliação quantitativa da expressão de citocinas por pacientes com infecções odontogênicas graves

Augusto Sette-Dias\*, Kamilla Maciel\*, Cássia Silva\*, Evandro Abdo\*, Luciana Brito\*, Maria Auxiliadora Carvalho\*, Luiz Farias\*, Antônio Ribeiro-Sobrinho\*, Paula Magalhães\*

\*Universidade Federal De Minas Gerais Brasil.

**Introdução.** Infecções odontogênicas são processos de origem endógena e etiologia polimicrobiana, associadas a um consórcio de bactérias anaeróbias facultativas e obrigatórias. Apresentam um amplo espectro de manifestações, que vão desde uma condição local branda até uma condição grave, levando, não raro, à hospitalização do paciente. O sistema imunitário exerce papel fundamental na resposta contra agentes infecciosos. Entre as moléculas envolvidas no controle da resposta imune, merecem destaque as citocinas. O conhecimento relativo à resposta imuno-inflamatória associada a infecções odontogênicas graves é, ainda, muito limitado. Este estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar, do ponto de vista quantitativo, a expressão de citocinas por pacientes internados em decorrência de infecções odontogênicas.

**Materiais e métodos.** Foram incluídas na investigação amostras de secreção purulenta obtidas de 12 pacientes (grupo caso) e de 12 indivíduos controle. PCR em tempo real precedido de transcrição reversa foi empregado para quantificação da expressão das citocinas pró-inflamatórias IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-17A e TNF- $\alpha$ , da citocina anti-inflamatória IL-10 e da quimiocina CCL-2/MCP-1. Os dados foram analisados com o auxílio do programa SPSS e o teste de wilcoxon foi utilizado para determinação de significância estatística (P, 0,05).

**Resultados.** Os resultados indicaram expressão de todas as citocinas avaliadas, tanto nas amostras recuperadas dos pacientes com infecções odontogênicas como dos indivíduos controle. A expressão das citocinas pró-inflamatórias e da quimiocina CCL-2/MCP-1 estava aumentada no grupo caso. Observou-se expressão baixa da citocina anti-inflamatória IL-10, sem diferença significativa entre os dois grupos de indivíduos avaliados.

**Conclusões.** Estudos relativos às infecções odontogênicas graves, inclusive referentes ao perfil imunológico das mesmas, são, ainda, escassos. Acreditamos que o conhecimento gerado por esta investigação possa contribuir para o melhor entendimento do tema, o que, em última análise, pode subsidiar o delineamento de estratégias mais adequadas para prevenção e controle da doença. Apoio financeiro: fapemig, CNPQ, capes e PRPQ/UFMG.

### TLP-552. Caracterización de una cepa de *Staphylococcus hominis* con sensibilidad reducida a vancomicina

\*Grupo De Investigación, Desarrollo E Innovación Biomédica, Facultad De Ciencias De La Salud, Universidad Técnica De Ambato, Ecuador Ecuador.

Antonio Andrés Quesada S.\*, Soledad Sánchez M.\*, Wilber Romero F.\*, Marta Calatayud\*

**Introducción.** La presión antibiótica en determinados servicios hospitalarios, especialmente en las UCIs, el uso inapropiado de antibióticos y la dificultad para detectar algunos fenotipos de resistencia, ha hecho que las tasas de multiresistencia bacteriana se hayan incrementado de forma importante. El objetivo de este trabajo es documentar la presencia de varios aislados de *Staphylococcus hominis* meticilín-resistentes, con sensibilidad reducida a glucopeptídicos y resistencia a linezolid.

**Materiales y métodos.** Se caracterizaron diez aislamientos de *Staphylococcus hominis* subespecies *Hominis* procedentes de nueve pacientes ingresados en la UCI del Hospital San Cecilio de Granada (España). Se identificaron mediante el sistema Wider. Posteriormente se confirmaron mediante secuenciación de las subunidades 16S R RNA. Se testaron los antibióticos de uso habitual en *Estafilococos* mediante e-test. Siguiéndose los criterios del clinical and laboratory standards institute para todos los antibióticos ensayados, a excepción de tigeciclina, que siguió las recomendaciones del European Committee on antimicrobial susceptibility testing. En cada aislado se amplificó el dominio v de la región 23s R RNA y, posteriormente, se secuenció para detectar posibles mutacio-

nes determinantes de resistencia a linezolid. El estudio de clonalidad de los aislados se realizó mediante electroforesis en campo pulsado.

**Resultados.** Todos los aislados fueron resistentes a oxacilina, gentamicina, levofloxacino, cotrimoxazol y linezolid, y sensibles a tigeciclina y daptomicina. Nueve aislados fueron resistentes a eritromicina y clindamicina, y además presentaron resistencia heterogénea a glucopéptidos. En todos los aislados se detectaron las mutaciones C2190T y/o G2474T en el dominio v del 23s R RNA, que confieren resistencias a linezolid. La electroforesis en campo pulsado mostró la existencia de dos clones diferentes.

**Conclusiones.** Consideramos que la importancia de la descripción de estos aislados está en la posibilidad de infección nosocomial de pacientes ingresados en cualquier servicio hospitalario, especialmente UCI, a partir de pacientes o personal sanitario colonizado.

### TLP-553. Emergencia de cepas de *Enterobacter cloacae* resistentes a ertapenem no productores de carbapenemasas en instituciones de alta complejidad de Medellín, Colombia

Ana Maria Ocampo R.\*, Astrid Vanessa Cienfuegos G.\*,  
Erika Andrea Rodriguez T.\*, Gustavo Roncancio Villamil\*,  
Patricia Sierra V.\*, Sigifredo Ospina O.\*, Lina María Echeverri T.\*,  
Carlos Robledo\*, Judy Natalia Jiménez\*

\*Universidad de Antioquia Colombia.

**Introducción.** En los últimos años, ha habido un aumento en la frecuencia de *Enterobacter cloacae* resistente a carbapenémicos (CR-EC). En este estudio se reporta la emergencia de un fenotipo poco común de (CR-EC).

**Materiales y métodos.** Estudio realizado en cinco instituciones que incluyó aislamientos de julio 2012 a abril 2014. Para la identificación y el antibiograma se empleó Vitek2®. Seguidamente se detectaron carbapenemasas mediante test tridimensional (3D) y PCR para los genes BLAKPC, -VIM, -IMP -NDM -OXA-48, así como para las β-lactamasas blactx-M -SHV y -TEM, y las AMPC plasmídicas BLAACT/MIR -CMY-1/MOX, -CMY-2/LAT, -FOX, -DHA y -ACC. La tipificación molecular se realizó mediante PFGE y secuenciación del gen HSP60.

**Resultados.** Se incluyeron 101 aislamientos, de los cuales el 95% fueron positivos para el test 3D. Sin embargo, solo se encontró la carbapenemasa KPC-2 en el 39% de los aislamientos (n=38). Se encontró BLAACT/MIR en el 78% (n=79), BLATEM-1 en el 30% (n=31), BLACTX-M-15 en el 14% (n=15), BLASHV-12 en el 8% (n=9) y SHV-27 en el 1% (n=2). El análisis molecular mostró 4 clústeres genéticos dominantes, y uno de ellos agrupó la mayor parte de los aislamientos (43.5% n=44), y estuvo presente en 4 hospitales. Las principales características de este clúster fueron la resistencia a ertapenem y sensibilidad a imipenem y meropenem, la baja frecuencia de kpc (3% n=4) y la presencia de ACT/MIR en el 100% (n=44).

**Conclusiones.** Se reporta la emergencia de un clon de EC resistente a ertapenem no productor de carbapenemasas, posiblemente por sobreproducción de AMPC/BLEES, sumada a defectos en porinas; sin embargo también se encontraron algunas cepas productoras de KPC en el mismo clúster, sugiriendo la transferencia frecuente de esta carbapenemasa. La emergencia de estas cepas complica las decisiones terapéuticas, ya que son positivas para las pruebas fenotípicas y los carbapenémicos diferentes al ertapenem podrían permanecer activos contra estas bacterias.

### TLP-554. Sequencing of secY gene on molecular characterization of leptospira DNA from clinical samples of horses of Rio de Janeiro, Brazil

Camila Hamon\*, Gabriel Martins\*, Marco Alberto Medeiros\*,  
Pascale Bourhy\*, Walter Lilenbaum\*

\*Laboratory Of Veterinary Bacteriology, Department Of Microbiology And Parasitology, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brazil. Bio-Manguinhos, Oswaldo Cruz Foundation, Brazilian Ministry Of Health, Rio De Janeiro, RJ, Brazil; Institut Pasteur Francia.

**Introduction.** The SECY gene is a conserved and variable region from the leptospira genome. This gene has already been used as a candidate for the diagnosis of clinical samples and phylogenetic characterization of leptospiral isolates. Objective: the purpose of this study was to identify, by the sequencing of SECY gene, leptospira species circulating in horses from Rio de Janeiro, Brazil.

**Materials and methods.** A total of 144 horses (134 mares and 10 stallions) from four troops were studied. Blood was collected for serology (MAT) and vaginal fluid, semen and urine were collected for PCR (SECY gene) and sequencing. Sequencing was performed at the genotyping of pathogens and public health platform (Institut Pasteur, Paris, France). All molecular epidemiological data were stored and analysed with bioinformatics software (version 6.5; applied-maths, Belgium).

**Results.** There were 66/144 (45.8%) seroreactive animals, with *Australis* (*Bratislava*) as the most prevalent serogroup (54.2%). Leptospiral DNA was detected in 39/144 (27%) urine samples [31 (79%) good sequences], 3/10 (30%) semen samples [two good sequences] and 34/134 (25.4%) vaginal fluid (VF) samples [28 good sequences]. Sequencing of secy gene showed 100% of homology to leptospira interrogans species in all 76 clinical DNA samples. In troop I, it was found that infection was more likely related to serogroup pomona; in troop II to serogroup *Australis*; in troop III was observed a concomitant infection of serogroups *Australis* (55%) and *sejroe* (45%); and in troops IV to serogroup *icterohaemorrhagiae*.

**Conclusions.** Sequencing of SECY gene showed to be a reliable tool on the identification and characterization of leptospira species directly from clinical samples of horses, with no need to culture the bacterium. A plural scenario was observed on the distribution of leptospiral infecting species in those animals.

### TLP-555. Expression of colicins among shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from different serotypes and sources

Beatriz Ernestina Cabilio G.\*, Amarilis Maldonado\*,  
Luis Fernando Dos Santos\*, Cecilia Matheus-Guimarães\*,  
Evanilde Maria Gonçalves\*

\*Escola Paulista De Medicina, Universidade Federal De São Paulo, São Paulo Brasil.

**Introduction.** Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) are food-borne pathogens responsible for causing hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome. Healthy cattle and several other animals are natural reservoirs for stec that can also be found in the environment in many different conditions. Colicins are a class of bacteriocins that can be produced by *E. coli* isolates. Colicin production may contribute to the ability of colicin-producing isolates (COL+) to competitively dominate some niches. The aim of this study was to evaluate expression of colicins in a collection of 144 stec belonging to different serotypes and isolated from human infections (n= 35) and the animal reservoir (n= 109) in Brazil.

**Materials and methods.** Strains were evaluated for colicinogeny against a colicin sensitivity indicator strain in tsa plates after being cultured overnight at 37°C in tsb. Colicin positive and negative controls were included in all assays.

**Results.** Production of colicin was detected in 108 (75%) STEC isolates, both from humans (n=25) and animals (n=83) belonging to a diversity of serotypes, and independently of carrying intimin (EAEA) gene. Except for O157:H7 other stec serotypes isolated from human infections as O26:H11, O103:H2, O111:HNM, and others were COL+. It was interesting to observe that the size of inhibition zone of the indicator varies among COL+ isolates, suggesting that production of colicin differed among STEC isolates. A higher colicin production was identified among 31% of COL+ isolates both from humans and animals belonging to some serotypes such as O39:H49, O77:H18, O103:H2, O111:HNM (H8), O113:H21, and others.

**Conclusions.** Relationship of colicin production with types of shiga toxin, antimicrobial resistance and the phylogroup of isolates was not found. High frequency of colicin detected among stec isolates may contribute to fitness benefits in different environments.

### TLP-556. Clonagem in tandem e expressão de duas cópias do gene esta produtor da enterotoxina termoestável (ST) de *Escherichia coli* enterotoxigénica

Thais Mitsunari\*, Roberto Nepomuceno\*,  
Letícia Barboza R.\*, Roxane Maria Fontes P.\*

\*Instituto Butantan Brasil.

**Introdução.** 30% a 40% dos casos de diarreia descritos mundialmente são causadas por *Escherichia coli* diarreiogénica. Dentre os diferentes

patotipos, *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) é o enteropatógeno comumente isolado em crianças menores de cinco anos de idade residentes em países em desenvolvimento, representando aproximadamente 20% dos casos. ETEC é também o principal agente associado à diarreia dos viajantes, afetando 20 a 60% dos indivíduos que transitam entre os países em desenvolvimento. Isolados ETEC produzem as enterotoxinas termolábil (LT) e/ou termoestável (ST). ST é um peptídeo de aproximadamente 2 kda composto por 18-19 aminoácidos. Codificada pelo gene esta presente no plasmídeo PCS1, ela é sintetizada como uma proteína precursora de 72 aminoácidos posteriormente convertida para a forma ativa, caracterizada por apresentar três pontes dissulfeto intramoleculares. Objetivo: clonagem de duas cópias do gene esta de ETEC, expressão heteróloga e purificação para aplicação em imunodiagnóstico.

**Materiais e métodos.** Com o intuito de obter a toxina ST heteróloga expressa em *E. coli* K-12, duas cópias do gene esta foram amplificadas e clonadas in tandem no vetor PGEM T-EASY e subclonadas em vetor de expressão pet 29A. A proteína recombinante foi expressa em células BL21 de3 e purificada por cromatografia líquida de afinidade ao níquel (äktä prime plus, ge).

**Resultados.** Depois de amplificadas e clonadas as cópias do gene esta foram confirmadas por sequenciamento. A subclonagem e expressão da proteína recombinante indicou uma proteína de aproximadamente 4 kda, que foi purificada por cromatografia de afinidade ao níquel e posteriormente reconhecida por anticorpos monoclonais anti-ST.

**Conclusões.** Obtivemos uma proteína híbrida, que consiste na fusão de duas enterotoxinas ST. A obtenção dessa proteína abre perspectiva para sua utilização como imunógeno na produção de anticorpos policlonais, que serão de extrema importância no desenvolvimento de um teste imunodiagnóstico para a detecção de ETEC produtoras de ST.

### TLP-557. Resistência aos $\beta$ -lactâmicos e genes *blat*<sub>em</sub>, *blashv* e *blactx-m* em isolados de *enterobacter aerogenes* e *enterobacter cloacae* provenientes de Recife-PE, Brasil

Maria Amélia Vieira M.\*, Adriane Borges C.\*, Marcelo Maranhão A.\*, Josineide Ferreira B.\*, Alessandra Mariá Da Silva L.\*, Célia Maria Machado Barbosa De C.\*, Ana Catarina De Souza L.\*

\*Departamento De Medicina Tropical/Universidade Federal De Pernambuco Brasil.

**Introdução.** *Enterobacter aerogenes* e *Enterobacter cloacae* vem se destacando como patógenos nosocomiais, sendo os  $\beta$ -lactâmicos de amplo espectro utilizados com frequência para tratamento de infecções causadas por essas bactérias. O principal mecanismo de resistência bacteriana a estes fármacos é a produção de *esbl*s. Objetivo: determinar o perfil de susceptibilidade às cefalosporinas de 3a (ceftriaxona, cefotaxima e ceftazidima), 4a geração (cefepime) e aztreonam e detectar genes para as ESBLs (BLATEM, BLASHV e BLACTX-M) nos isolados *E. aerogenes* e *E. cloacae*.

**Materiais e métodos.** Foram analisados 51 isolados clínicos (34 *E. aerogenes* e 17 *E. cloacae*) provenientes de um hospital público de Recife, Brasil, nos anos de 2011 e 2012. O perfil de susceptibilidade às cefalosporinas e ao aztreonam foi obtido pelo método de concentração inibitória mínima e a identificação dos genes foi realizada por PCR e sequenciamento.

**Resultados.** Todos os isolados de *Enterobacter* spp. foram resistentes a ceftriaxona, cefotaxima, ceftazidima e aztreonam. Dois isolados de *E. aerogenes* foram sensíveis ao cefepime e um *E. cloacae* mostrou resistência intermediária ao cefepime. O gene BLASHV não foi detectado, *blat*<sub>em</sub> foi detectado em 38,23% dos *E. aerogenes* e em 58,82% dos *E. cloacae*. O gene BLACTX-M foi detectado em 5,88% dos *E. aerogenes* e em 94,12% dos *E. cloacae*. Dentre as amostras de *E. cloacae*, nove apresentaram os genes BLATEM-1/BLACTX-M concomitantemente, associação não observada em *E. aerogenes*. O sequenciamento dos genes confirmou as variantes BLATEM-1 e BLACTX-M grupo 1. A resistência aos  $\beta$ -lactâmicos de amplo espectro apresentada pelos isolados positivos para BLACTX-M, pode ser atribuída a este gene, em contrapartida, a resistência na ausência deste gene de ESBL, pode ser justificada por outros mecanismos de resistência.

**Conclusões.** Estes resultados demonstram altas taxas de resistência e disseminação de genes para  $\beta$ -lactamases, que representam grandes desafios na terapêutica e no controle das infecções.

### TLP-558. Caracterização de amostras de *Escherichia coli* enteropatogênica atípica isoladas de surtos e casos esporádicos de diarreia em diferentes regiões geográficas do Brasil

Melissa A. Vieira\*, Luis F. Dos santos\*, Sandra R.S. Pinheiro\*, Regiane C.B Dias\*, Tânia A.T. Gomes\*, Rodrigo T. Hernandez\*

\*Departamento De Microbiologia E Imunologia, Instituto De Biociências- UNESP Botucatu/SP, Brasil.

**Introdução.** O principal mecanismo de virulência das *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC) é o estabelecimento da lesão attaching and effacing (AE), caracterizada pela aderência íntima aos enterócitos, destruição das microvilosidades e formação de uma estrutura semelhante a um pedestal. As EPEC são divididas em: típicas (TEPEC) e atípicas (AEPEC), tendo por base a presença do plasmídeo EAF (EPEC adherence factor) nas TEPEC, e a sua ausência nas AEPEC. Este estudo objetivou caracterizar isolados de AEPEC, provenientes de casos esporádicos e surtos de diarreia ocorridos entre 2012 e 2013.

**Materiais e métodos.** Foram caracterizadas 88 AEPEC (38 de surtos e 50 de casos esporádicos), quanto aos sorotipos, padrão de aderência (em células hela), determinação do grupo filogenético, bem como a habilidade de induzir lesão ae (fas-fluorescence actin staining).

**Resultados.** Entre as 88 AEPEC, somente 11,4% pertencem aos sorogrupos de EPEC. Curiosamente, 37,5% dos isolados foram não-aderentes, enquanto 1,14% produziram destacamento celular. O padrão de aderência localizada-like (AL-L) foi detectado em 17,0% das AEPEC, enquanto 35,2% aderiram às células epiteliais em um padrão não-característico. O padrão agregativo foi observado em 9,0% dos isolados, sendo que em 5,7% deles esse padrão foi observado concomitantemente com o padrão al. Entre as AEPEC aderentes, 85,5% foram capazes de polimerizar actina no sítio de aderência à célula hospedeira. A maioria das AEPEC pertencem aos grupos filogenéticos B1 (62,5%) ou a (25%), enquanto 10,2% e 2,3% dos isolados pertencem aos grupos filogenéticos D e B2, respectivamente.

**Conclusões.** AEPEC, isoladas de casos esporádicos e surtos de diarreia, foram heterogêneas quanto as características investigadas. O padrão AL-L foi o mais comum, embora muitas amostras tenham aderido em um padrão não-característico ou tenham sido não-aderentes. AEPEC pertencente ao grupo filogenético d foi mais comum em isolados provenientes de surtos do que de casos esporádicos. Financiamento-FAPESP-2013/23414-5.

### TLP-559. SDIA regula a formação de biofilme por *Escherichia coli* enteropatogênica atípica (EPECA)

Hebert Fabricio Culler\*, Cristiane Moda M.\*, Gustavo Raphael De Oliveira\*, Camila Oliveira Dos S.\*, Samuel Campanelli F.\*, Min Jung Yang\*, Juliana Suyama Higa\*, Renato De Mello R.\*, Vanessa\*

\*Instituto Butantan, Brasil.

**Introdução.** Amostras de EPECA são caracterizadas pela formação da lesão attaching and effacing e não transportam o plasmídeo EPEC adherence factor que contém a fímbria bundle forming pilus. EPEC atípicas de diversos padrões de adesão formam biofilmes em superfícies abióticas e em superfícies celulares pré-fixadas. Sabe-se que diversos mecanismos em *E. coli* são controlados por quorum sensing (QS), incluindo a expressão de fatores de virulência e formação de biofilme. QS é um sistema de sinalização que confere a algumas bactérias habilidade em responder a moléculas químicas, denominadas auto-indutores (AI). As bactérias são capazes de produzir, liberar, detectar e responder a estas moléculas sinalizadoras. O objetivo desta pesquisa foi verificar a importância do gene SDIA, envolvido na comunicação por quorum sensing, na formação de biofilme por EPECA.

**Materiais e métodos.** Amostras deletadas no gene SDIA foram obtidas através de recombinação homóloga e posteriormente analisadas quanto à formação de película e anel na interface ar-líquido-vidro por períodos de 24 h de incubação, e biofilme por períodos de 24 e 72 h de incubação através da metodologia de cristal violeta. A transcrição de genes envolvidos com formação de biofilme foi analisada por PCR quantitativa em tempo real (QRT-PCR) dos genes BCSA, CSGA e fima nas amostras selvagens e deletadas.

**Resultados.** Amostras deletadas em SDIA formaram mais biofilmes em relação às amostras selvagens. Além disso, foram capazes de formar película e anel, indicando a influência deste receptor na formação destas estruturas relacionadas a biofilme. A análise realizada através de QRT-PCR evidenciou o aumento da transcrição dos genes envolvidos com

formação de película e anel, CSGA (*Fimbria curli*) e fima (*Fimbria tipo 1*) nas amostras deletadas em SDIA, corroborando os resultados obtidos nos ensaios fenotípicos.

**Conclusões.** SDIA, que codifica um receptor envolvido com quorum sensing participa da formação de biofilme por EPECA.

### TLP-560. Detección y caracterización del contenido plasmidial de cepas de *Shigella sonnei* aisladas en dos periodos (2004-2007; 2008-2009) en Chile

Bárbara Ávila S.\*, Germán Hermsilla D.\*, Cecilia Toro U.\*, Rossana Camponovo\*, Juan Silva\*, María Teresa Ulloa F.\*

\*Universidad De Chile, Chile.

**Introducción.** *Shigella* spp. es un importante agente etiológico de diarrea aguda en el mundo. Produce un cuadro clínico llamado shigelosis, frente al cual se recomienda el uso de antibióticos, ya que disminuyen los síntomas y la excreción del microorganismo. En Chile, la especie más prevalente es *S. sonnei*. Investigaciones previas realizadas en nuestro país, demostraron que *Shigella* presenta una población heterogénea de plásmidos de distintos tamaños moleculares. Estos elementos genéticos podrían contener genes que confieren distintas propiedades a la bacteria, entre ellas, resistencia a antibióticos. Actualmente, no existen estudios que describan los perfiles plasmidiales de cepas chilenas de *S. sonnei*. El objetivo de este trabajo fue determinar y comparar los perfiles plasmidiales de cepas de *S. sonnei* resistentes y sensibles a antimicrobianos, aisladas en los periodos 2004-2007 y 2008-2009 en Chile.

**Materiales y métodos.** Para ello, se estudiaron 60 cepas aisladas en centros asistenciales del norte y centro del país. Las cepas fueron agrupadas por temporalidad y perfil de resistencia a antimicrobianos. Se utilizó el método de Birnboim y Doly modificado para aislar DNA plasmidial.

**Resultados.** Se detectaron 32 perfiles plasmidiales diferentes. Las cepas del periodo 2004-2007, la mayoría de las cuales eran sensibles a los antimicrobianos estudiados, presentaron perfiles plasmídicos heterogéneos, que albergaban de 4 a 5 bandas. Las cepas multirresistentes del periodo 2008-2009, presentaron perfiles plasmídicos que en su mayoría albergaban entre 8 y 9 bandas. Los perfiles del periodo 2008-2009, presentaron 2 bandas cuyo peso molecular fluctúa entre 3,9 y 4,8 MDA, y que están ausentes en el periodo 2004-2007.

**Conclusiones.** Se observó una diferencia entre los perfiles plasmídicos de ambos periodos. La presencia de bandas de alrededor de 4 MDA en las cepas del periodo 2008-2009 podría estar relacionada a la presencia del gen SUL2, responsable de la resistencia a sulfametoxazol. Investigación en curso. Financiamiento: proyecto fondecyt-1130394.

### TLP-561. Identificación de *Mannheimia varigena* mediante el uso de la subunidad 16s ARNR y el gen RPOB

Zaidi Suástegui\*, Víctor Manuel Campuzano\*, Carlos Julio Jaramillo\*, Fernando Martínez\*, Francisco Suárez\*, José Francisco Trigo\*, Rigoberto Hernández\*

\*Facultad de Medicina Veterinaria Y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma De México, Mexico.

**Introducción.** Existen cinco especies reconocidas dentro del género *Mannheimia*, la identificación basada en las características fenotípicas es un frecuente y serio problema en la familia *Pasteurellaceae* es compleja. Objetivo. Identificar la especie de cepas de *Mannheimia* spp., mediante la secuenciación de los genes 16S ARNR y RPOB, así como determinar la relación filogenética de las cepas de *Mannheimia* spp., con miembros de la familia *Pasteurellaceae*.

**Materiales y métodos.** Se utilizaron 30 cepas de *Mannheimia* spp. Los genes 16s y RPOB fueron amplificados mediante la reacción en cadena de la polimerasa. Para el gen 16S ARNR se utilizaron los iniciadores ATTGAAGAGTTTGATCATGG y TACCTGTGACGACTTCACC los que amplificaron un fragmento de 1091 pb; para el gen RPOB los iniciadores fueron CACAACCTTTCGCAATTATG y TTGTTGAGTTGAGATGTCCA los cuales amplifican un fragmento de 517 pb. Cada producto amplificado fue secuenciado, para el análisis filogenético, todas las secuencias utilizadas fueron ajustadas en la misma dirección.

**Resultados.** Las secuencias del gen 16S ARNR se compararon con la base de datos del GENBANK y se encontró una homología del 100% con la cepa de *M. varigena* H39, para el gen RPOB se encontró una homolo-

gía del 99% con la cepa de *M. varigena* CCUG 38462. Los análisis de variación genética revelan que el gen 16s ARNR presenta un 16% de sitios variables y 14% de sitios filogenéticamente informativos; para el gen RPOB revelan un 30% de sitios variables y 14% de sitios filogenéticamente informativos. La secuencia de la subunidad 16S ARNR permitió identificar 30 cepas de *M. varigena* procedentes de México.

**Conclusiones.** El análisis de la secuencia parcial del gen RPOB confirmó la especie y mostró diferencias no significativas entre las cepas obtenidas de exudado nasal y pulmón neumónico. Este es el primer reporte de identificación y análisis filogenético de *Mannheimia varigena* en México y Latinoamérica.

### TLP-562. Actividad antimicrobiana del nano material ZNO sobre enterobacterias de relevancia en los alimentos

Ma. Lorena Luna G.\*, Gloria E. Moreno M.\*, Roberto D. Hernández\*, Juan José Luna G.\*, Ma. De Lourdes Ruiz P.\*

\*Facultad De Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma De Puebla México.

**Introducción.** Reportes recientes confirman que el número de padecimientos causados por enterobacterias presentes en los alimentos se han incrementado, lo anterior con lleva a que se busquen alternativas de antimicrobianos de origen orgánico o inorgánico, incluyendo algunos nano materiales como el óxido de zinc (ZNO). Evaluar la actividad antimicrobiana del óxido de zinc con diferentes concentraciones sobre las enterobacterias *E. coli* O157:H7 y *Enterobacter cloacae*.

**Materiales y métodos.** Fueron utilizadas suspensiones bacterianas provenientes de las cepas mencionadas, las cuales fueron crecidas en condiciones aeróbicas, a 37°C durante 16 h en caldos soya tripticaseína (TSB) y resembrados nuevamente en TSB para ajustar una OD en 600 nm e incubados a 37°C, durante toda la noche. Las poblaciones bacterianas fueron evaluadas por recuento en placa utilizando diluciones seriadas en peptona 0.1% y agar TS con diferentes concentraciones del nano material ZNO (0, 3, 6 and 12 mmol L<sup>-1</sup>). Las colonias fueron cuantificadas después de 24 h de incubación a 37°C y confirmadas mediante pruebas bioquímicas básicas.

**Resultados.** Los resultados indican que el ZNO presentó actividad antimicrobiana sobre las enterobacterias evaluadas pudiendo reducir con *E. coli* más de 2 log UFC con la concentración de 6 mmol L<sup>-1</sup> e inhibiendo su crecimiento con 12 mmol L<sup>-1</sup>. El comportamiento de *E. cloacae* fue similar sin embargo si presentó crecimiento con la concentración de 12 mmol L<sup>-1</sup> con poblaciones cercanas a los 3 log UFC.

**Conclusiones.** El ZNO presentó actividad antimicrobiana sobre las enterobacterias analizadas, incrementando su actividad en relación la concentración del nano material.

### TLP-563. Determinação da atividade antibacteriana de compostos fenólicos de óleos essenciais e nisina frente a isolados clínicos

F.C.B Alves\*, L.N Barbosa\*, B.F.M.T Andrade\*, F.B Furtado\*, R.T Hernandez\*, M.L.R.S Cunha\*, A. Fernandes Junior\*, M. Albano\*

\*Departamento De Microbiologia E Imunologia Instituto De Biociências De Botucatu. Brasil.

**Introdução.** O uso indiscriminado dos antimicrobianos tem contribuído para o surgimento de micro-organismos resistentes a essas drogas e constituindo um problema de saúde pública em todo o mundo. Com isso há necessidade de pesquisas visando novos agentes antimicrobianos que sejam eficazes e menos suscetíveis a resistência bacteriana. Os compostos originários de plantas e peptídeos antimicrobianos são uma alternativa a esta finalidade. Assim o objetivo deste estudo foi avaliar a ação antibacteriana dos compostos fenólicos isolados de óleos essenciais e nisina frente a isolados clínicos.

**Materiais e métodos.** Foram realizados testes para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) através da metodologia da microdiluição de quatro compostos: carvacrol, cinamaldeído, eugenol e timol, além da nisina frente a 7 isolados clínicos e uma cepa padrão ATCC de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* MRSA e MSSA. As linhagens foram cultivadas em meio BHI (37°C/24 h) e, após padronização na escala 0,5 de Macfarland foram inoculadas nas placas de microdiluição contendo meio de cultura

muller hinton caldo e incubadas a 37°C por 24 h, seguida da verificação do crescimento bacteriano por resazurina (0,01%). As concentrações foram testadas entre 50 a 1000 µg/mL.

**Resultados.** A nisina apresentou atividade antibacteriana inferior aos compostos fenólicos para as bactérias testadas. As atividades antibacterianas dos compostos variaram entre as bactérias; o cinamaldeído apresentou melhor atividade antibacteriana para as cepas Gram negativas com CIM 90% de 288 e 180 µg/mL para *P. aeruginosa* e *E. coli* respectivamente. O timol e o carvacrol apresentaram a mesma atividade antibacteriana para todas as cepas testadas, e foram os compostos que apresentaram melhor atividade frente as cepas Gram-positivas (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* MRSA e MSSA).

**Conclusões.** Os compostos antimicrobianos testados mostraram-se efetivos frente a isolados clínicos e grandes promissores na busca de alternativas ao uso de antimicrobianos tradicionais.

### TLP-564. Diez años de estudio del síndrome urémico hemolítico (SUH) en Uruguay

Gustavo Varela\*, Lucía Pérez\*, María Bianco\*, María Mota\*,  
María Gadea\*, Lorena Pardo\*, Felipe Schelotto\*

\*Facultad De Medicina, UDELR Uruguay.

**Introducción.** Comunicar las características clínicas de niños con SUH y microbiológicas de las cepas STEC recuperadas.

**Materiales y métodos.** Entre 2004-2013 estudiamos 40 niños con SUH. Por cada niño analizamos entre 30 y 50 colonias sospechosas de *E. coli*. La caracterización se realizó por métodos convencionales y PCR.

**Resultados.** La mayoría ocurrieron en los meses cálidos, 90% presentaron previamente diarrea con sangre (DS); 85% estaban recibiendo antibióticos en el momento del diagnóstico, 60% requirieron diálisis en la etapa aguda, uno falleció. En el 90% de los casos habían pasado más de 14 días entre el comienzo de la enfermedad y la toma de las muestras. La mayoría eran eutróficos, de hogares con buen nivel socioeconómico, de ciudades del interior del país. En 5 niños recuperamos 6 cepas STEC, en un caso hubo coinfección por O26:H11 y O145:HNT. La distribución por serogrupos fue: O26, 3 cepas; O145, 2; y O111, 1. O26 y O145 portaron la variante beta1 del gen EAE, O111 la variante gama2. Todas mostraron reacción positiva para el gen EHXA.

**Conclusiones.** SUH es una enfermedad relativamente frecuente en Uruguay, con una incidencia estimada de 4-5 casos cada 100.000 niños menores de 5 años; ocurre principalmente en meses cálidos, afecta niños eutróficos, de hogares con buen nivel económico, y está precedido por DS. La mayoría requiere diálisis en la etapa aguda y la letalidad es baja en esta etapa. El bajo porcentaje de recuperación de STEC puede atribuirse a 2 factores principales: el tiempo transcurrido entre el inicio y el diagnóstico de SUH, y a que la mayoría de los niños estaban recibiendo antimicrobianos en el momento de tomar las muestras. STEC NO-O157 aparece frecuentemente en los casos donde recuperamos estos agentes aunque no podemos descartar la participación de STEC O157 en niños en los que no hubo crecimiento bacteriano.

### TLP-565. Molecular inversion probes and pyrosequencing for sensitive detection of *Mycobacterium tuberculosis*

Rogério Novais\*, Sibebe Borsuk\*,  
Odír Dellaagostin\*, Yvonne Thorstenson\*

\*Universidade Do Estado Do Rio De Janeiro Brasil.

**Introduction.** Tuberculosis is a treatable disease, yet remains a major worldwide health problem. In the last 10 years approximately 80 million people contracted the disease. The development of techniques for rapid diagnosis based at molecular technologies would greatly facilitate worldwide efforts to prevent further spread of the disease. One potential diagnostic sequence, the Dr Locus, is present in all isolates of *M. tuberculosis* complex bacteria. It encodes no known gene product but is useful for molecular typing of *M. tuberculosis* because of its fortuitous absence in non-tuberculosis strains of mycobacteria.

**Materials and methods.** A total of 25 *M. tuberculosis* isolates were obtained from the center for biotechnology of Federal University of Pelotas (Brazil) and their DNA were extracted and submitted to the MIP (molecular inversion probe) reactions. A molecular inversion probe was

designed against the Dr Sequence of *M. tuberculosis* strain H37RV specifically to this work. The mip reactions were performed in three steps; fill-in, ligation and clean-UP. Following the mips reaction, the mips were submitted to pyrosequencing reactions.

**Results.** We were able to design a molecular inversion probe (MIP DRA-B) for a specific region of *M. tuberculosis* genome. Probing this mip with 25 *M. tuberculosis* genomic DNA and determining their sequences by pyrosequencing, we were able to detect a common sequence among all strains of *M. tuberculosis*. Also, we were able to determine the minimal amount of DNA needed (50 ng) in order to obtain a good readout. By introducing a modification on pyrosequencing methodology we were successful in detecting *M. tuberculosis* DNA even in presence of a very small amount of DNA (500 fg).

**Conclusions.** In this study, we attempted to combine the specificity of molecular inversion probe (MIP) technology with the sensitivity of modified pyrosequencing readout in order to detect a short conserved 18 bp sequence included in Dr locus in 25 isolates of *M. tuberculosis*.

### TLP-566. Differences in anaerobe GUT microbiota associated with weight gain in children

Aline Ignacio\*, Miriam Rodriguez F.\*, Viviane A.A. Rodrigues\*,  
Francisco C. Groppo\*, Ary C. Lopes\*, Mario Julio Avila-Campos\*,  
Viviane Nakano\*

\*Universidade De São Paulo - Instituto De Ciências Biomédicas E  
Faculdade De Medicina; Universidade De Campinas Brasil.

**Introduction.** The intestinal tract is a complex ecosystem, and the relationship between host and microbiota are centralized on the metabolic capabilities to find nutrients unavailable or poorly used. Studies have shown that a specific intestinal microbial community can play an important role in the weight gain. In this study, the presence of some anaerobic intestinal bacteria in children with obesity (30), overweight (24) and normal weight (30) was evaluated.

**Materials and methods.** Children from 3 to 12 years old were included in this study. Fresh stool samples from these children were collected. Species of bacteroides, parabacteroides and clostridium were isolated on agar media. Total DNA from stools was extracted and submitted to quantitative analyses by using specific primers to bacteroidales, *Clostridium cluster I*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides fragilis*, *B. vulgatus*, *Parabacteroides distasonis*, *C. perfringens*, and *C. difficile*.

**Results.** In most of the stools *B. vulgatus* and *C. perfringens* were predominantly recovery. Data based in the quantitative detection, showed that in children with normal weight, *Bifidobacterium* spp., *C. perfringens* and *C. difficile* were observed in high concentration; and in children with weight gain, bacteroidales and species of *Lactobacillus* were predominantly detected. Studies have shown that bacteroidetes are commonly decreased in obese individuals, and *Lactobacillus* spp. increased in individuals with weight excess. **Conclusions.** Our results showed a high concentration of species of the order bacteroidales in both children with overweight and obesity. Studies are necessary to better understand the intestinal microbiota in these evaluated children groups. Financial support: fapesp proc. No. 2012/10659-7, CNPQ no. 158799/2012-7 and capes. E-mail: aline.ignacio@usp.br, vivinkn@usp.br; mariojac@usp.br

### TLP-567. Caracterización de la fimbria curli en cepas de *Escherichia coli* uropatógenicas de origen pediátrico con infección del tracto urinario

Sara Ariadna Ochoa P.\*, Gerardo Escalona V.\*, Ariadna Del  
Carmen Cruz C.\*, Virginia Alcázar L.\*, Edgar Oliver López V.\*,  
Carlos Alberto Eslava C.\*, Briceida López M.\*, Silvia Gion\*

\*Hospital Infantil De México Federico Gómez Mexico.

**Introducción.** En México, *Escherichia coli* uropatógena (UPEC) ha sido asociada a infecciones del tracto urinario (ITU) en pacientes pediátricos. Las ITU por UPEC, son adquiridas por la colonización de su hospedero mediante la adhesión de la bacteria por adhesinas fimbriales como curli. Objetivos: caracterizar fenotípica- y genotípicamente curli en cepas clínicas de UPEC de pacientes pediátricos.

**Materiales y métodos.** La genotipificación de 10 factores de virulencia y grupos filogenéticos, se realizó por PCR múltiple. Los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana se realizaron por Kirby-Bauer. La serotipificación



se realizó con antiseros mono-específicos "O" y "H". Las características fenotípicas de Curli se realizaron por fijación de rojo congo, calcofluor y cuantificación de tioflavina. La expresión y producción de Curli se realizó por RT-PCR y microscopía electrónica de transmisión (MET), respectivamente. La diversidad genética se realizó por electroforesis en campo pul-sado. La formación de biopelículas se realizó cuali- y cuantitativamente.

**Resultados.** El 16.32% (40/245) se identificaron como cepas clínicas de UPEC, de estas cepas, el 82% (33/40) fueron multiresistentes y 12.5% (5/40) productoras de BLEES. Los serotipos identificados más prevalentes fueron O2:H6, O6:H1 y O15:H6. Los grupos filogenéticos más prevalentes fueron B2 y D. El 100% (40/40) de las cepas amplificaron tres genes (ECPA, FIMH y PAPGII), el 50% (20/40) a dos genes (CSGA y a BCSA), 87.52% (35/40) a HLYA, 72.5% (29/40) SATF, 70% (28/40) a FYUA, 47.5% (19/40) a LUTD y 10% (4/40) a PAPGIII. El 37.5% (15/40) de las cepas expresaron y produjeron Curli a 37°C y fueron productoras de biopelículas. Los perfiles filogenéticos no mostraron una relación clonal.

**Conclusiones.** Nuestros datos sugieren que la expresión de Curli asociada a otros factores de virulencia en cepas clínicas de UPEC, pudieran jugar un papel importante en los primeros eventos de colonización del uropitelio, causando ITU en pacientes pediátricos.

### TLP-568. Identificación de integrones y factores de virulencia en cepas de UPEC multiresistentes de origen pediátrico con ITU recurrentes

Vicenta Cázares-Domínguez\*, Gerardo Escalona-Venegas\*, Sara Ochoa-Perez\*, Ariadna Cruz-Córdova\*, Virginia Alcázar-López\*, Israel Parra-Ortega\*, Fernanda López-Montiel\*, Juan Xicohtencatl-Cortes\*

\*Hospital Infantil De México. Federico Gómez Mexico.

**Introducción.** En el Hospital Infantil de México Federico Gómez, las infecciones del tracto urinario (ITU) recurrentes han sido asociadas con cepas clínicas de *Escherichia coli* uropatogénica (UPEC) multiresistentes. Objetivo. Identificar integrones y factores de virulencia en cepas de UPEC multiresistentes de origen pediátrico con ITU recurrentes.

**Materiales y métodos.** Un conjunto de 60 cepas clínicas de UPEC fueron identificadas por VITEK y PCR. Los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana se determinaron por el método de Kirby-Bauer y concentración mínima inhibitoria (CMI). Las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE), se realizaron con la prueba tamiz de "sinergismo de doble disco y se confirmaron mediante las pruebas de "disco individual" y ensayo de "Hodge". La tipificación de los factores de los genes: HLYA, PAPG, FIMH, ECPA, CSGA y BCSA se realizó por PCR. Los grupos filogenéticos utilizando los genes CHUA, YJA y TSPE4C2 se realizaron por PCR múltiple. La identificación de los integrones, se realizó amplificando por PCR a los genes de la integrasa INTL1, INTLII e INTLIII.

**Resultados.** El 96.66% (55/60) de las cepas de UPEC amplificaron a FIMH, 91.66% a ECPA, 78% (47/60) a PAPG y 63.3% (38/60) a HLYA. El 86.6% (52/60) de las cepas clínicas fueron resistentes a tres o más grupos de antibióticos. El 43.3% (27/60) de cepas fueron productoras de BLEES. El 33.3% (20/60) de las cepas de UPEC mostraron un grupo filogenético del grupo B2, 55% (33/60) al grupo D y 11.66% (7/60) al grupo A. El 36.6% (22/60) mostraron a integrones de tipo I, 5% (3/60) integrones tipo II.

**Conclusión.** La alta distribución de genes de virulencia, el perfil de multiresistencia, la frecuencia de grupos filogenéticos, la presencia de integrones, sugieren que las cepas clínicas de UPEC de origen clínico pueden colonizar, sobrevivir y diseminarse eficientemente en un ambiente hospitalario.

### TLP-569. Associação do extrato hidroalcoólico da casca do caule de *Hymenaea stigonocarpa* Mart ex Hayne com agentes antimicrobianos frente a cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a metilina (MRSA)

Gustavo Santiago Dimech\*, Amanda Rafaela Carneiro De Mesquita\*, Eulália Azevedo Ximenes\*

\*Universidade Federal De Pernambuco (UFPE) Brasil.

**Introdução.** O potencial sinérgico entre agentes antimicrobianos convencionais e os compostos bioativos de plantas é uma característica que tem sido amplamente avaliada para o combate de bactérias multiresistentes. No presente estudo foi avaliada a interação entre a associação do extrato hidroalcoólico de *Hymenaea stigonocarpa* com gentamicina ou claritromicina frente a quatro cepas de MRSA.

**Materiais e métodos.** O extrato hidroalcoólico da casca do caule de *Hymenaea stigonocarpa* (EHHS) foi avaliado a partir de soluções padronizadas em 1024  $\mu\text{g/mL}$ . Os agentes antimicrobianos foram solubilizados em água destilada esterilizada de forma a obter uma solução de 2048  $\mu\text{g/mL}$ . A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, seguindo as recomendações estabelecidas pela Clinical Laboratory Standards Institute. O estudo da interação entre o EHHS e os agentes antimicrobianos foi avaliado de acordo com o método checkerboard, sendo selecionadas as cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 33591, em 13, em 18 e em 24 que apresentaram ser mais resistentes aos antimicrobianos avaliados.

**Resultados.** O EHHS mostrou atividade frente a todas as cepas de *S. aureus* cujo valor de CIM foi igual a 256  $\mu\text{g/mL}$ . Todas as cepas avaliadas apresentaram-se resistentes à claritromicina e gentamicina exceto *S. aureus* ATCC 33591 que mostrou-se sensível a gentamicina. As concentrações sub-inibitórias do EHHS ( $\leq 0,5$  CIM) aumentaram a atividade dos agentes antimicrobianos frente às cepas MRSA. O extrato hidroalcoólico associado à gentamicina ou claritromicina foi capaz de aumentar a atividade destes últimos exceto para as cepas em 18 e em 24 cujo índice de concentração fracionada (FICI) foi de 0,51 e 0,63 respectivamente.

**Conclusões.** As associações entre o EHHS e claritromicina ou gentamicina apresentaram valores de FICI superiores a 0,5 caracterizando um sinergismo parcial.

### TLP-570. Characterization of the cassette mec and vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus* isolates from bloodstream infection in a university hospital in Rio de Janeiro, Brazil

Thaina Miranda Da Costa\*, Priscylla Guimarães Miguere M.\*, Simone Aranha N.\*, Kátia Regina Netto Dos S.\*

\*Universidade Federal Do Rio De Janeiro Brasil.

**Introduction.** Approximately 40% of all *Staphylococcus aureus* isolates from bloodstream infections (BSI) are resistant to methicillin at Brazilian hospitals. In this context, vancomycin and others antimicrobial agents are important to therapy. The aim of the present study is to determine the resistance to vancomycin and its relation to cassette mec type in *S. aureus* isolates.

**Materials and methods.** Consecutive *S. aureus* isolates from patients with BSI attended in a university hospital between 2011 and 2013 were analyzed. One isolate by episode was considered. The isolates were analyzed by the ceftioxin disk diffusion test. Vancomycin MIC was determined by the broth microdilution method (BMD). Isolates with MIC  $\geq 2$   $\mu\text{g/mL}$  were tested for heteroresistance (HVISA) using BHI agar supplemented with 3, 4 or 6  $\mu\text{g/mL}$  (BHI3, BHI4 or BHI6) of vancomycin (Sigma®). Additional agar containing 4  $\mu\text{g/mL}$  of vancomycin and casein (BHI4CA) was used. The macromethod etest (MET) was also performed. All ceftioxin-resistant (MRSA) isolates were subjected to PCR for detection of the MECA gene and SCCMEC typing.

**Results.** Among 110 isolates, 32 (29%) were MRSA: 14 (44%) were SCCMEC II, 16 (50%) SCCMEC IV and two (6%) non typeable. The vancomycin MIC50, MIC90 and modal MIC were 1, 2 and 1  $\mu\text{g/mL}$ , respectively. Six isolates showed intermediate resistance (4  $\mu\text{g/mL}$ ) to vancomycin (VISA), four of those were MRSA SCCMEC types II (n=3) and IV (n=1). Among others 25 isolates with MIC  $\geq 2$   $\mu\text{g/mL}$  tested for HVISA, three grew in BHI3 (SCCMEC IV, n=1). Other three grew in met, and one of them was SCCMEC II and also grew on agar BHI4CA. No isolate grew on agar BHI4 or BHI6.

**Conclusions.** The results show the presence of HVISA and VISA isolates related to BSI in our institution harboring SCCMEC II and IV.

### TLP-571. USA300-LV principal clon de SARM asociado a colonización nasal en individuos sanos de la comunidad en Colombia

Betsy Castro C.\*, Zayda Corredor R.\*, Alejandro Márquez O.\*, Jaime Moreno C.\*, Viviana Ramos\*, María Victoria Moncada\*, José Vicente Silva\*, Natasha Vanegas G.\*, Javier Escobar P.\*

\*Universidad El Bosque- Laboratorio Genética Molecular Bacteriana, Instituto Nacional De Salud (Lab. Microbiología), Policía Nacional De Colombia (Disan), Institute Infection, University Of Technology Sydney Colombia.

**Introducción.** *Staphylococcus aureus* resistente a metilina con genotipo comunitario (SARM-GC) ahora se encuentra con mayor frecuencia

en ambientes hospitalarios. En la actualidad el conocimiento de su surgimiento, dinámica poblacional y diseminación en personas sanas en la comunidad es limitado. El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia y las características genéticas, moleculares y epidemiológicas de aislamientos de SARM colonizando individuos en 10 regiones de Colombia.

**Materiales y métodos.** Se realizó un estudio prospectivo, analizando la colonización nasal por SARM en 2867 estudiantes de 10 escuelas de formación policial en 10 regiones de Colombia. La caracterización principalmente incluyó: análisis demográfico y epidemiológico de la población, determinación del perfil de resistencia a 12 antibióticos por dilución en agar, establecimiento del tipo de SCCMEC, AGR, detección de 20 genes para factores de virulencia, detección de elementos genéticos móviles y relación genética por PFGE, SPA y MLST.

**Resultados.** De los 2867 individuos analizados, 473 (17.0%) presentaron colonización por *S. aureus*, de los cuales 45 (1.5%) fueron SARM. De estos últimos, la mayoría fueron susceptibles a antibióticos no-β-lactámicos (68.8%). La caracterización molecular permitió identificar dos clones SARM predominantes, el primero ampliamente diseminado (8 regiones) y conformado por 42 (93.3%) aislamientos (ST8-T008-PVL+AGRI-BSAB), con SCCMEC IVC y genéticamente relacionados con el clon USA300-LV (83% de similitud). El segundo conformado por 3(6.6%) aislamientos (ST923-T1635-PVL+AGRI-BSAB), con SCCMEC-IVA, y genéticamente relacionados con un nuevo clon emergente. Estos dos clones han sido descritos anteriormente en infecciones en pacientes pediátricos y adultos en Colombia.

**Conclusiones.** El clon SARM-IVC es predominante y está ampliamente diseminado en el país lo cual demuestra su gran éxito genético y además puede explicar la alta prevalencia de este clon en las infecciones comunitarias y hospitalarias. La presencia del clon emergente SARM-IVA en infecciones y como colonizador en la comunidad podría favorecer un nuevo reemplazo clonal.

### TLP-572. Análisis de mutaciones en los genes 23S rRNA y PBP1A de aislados de *Helicobacter pylori* resistentes a claritromicina y amoxicilina, provenientes de Tumaco-Colombia

Fabian Felipe Fernandez D.\*, Mercedes Figueroa M.\*, Lida Ines Mancilla E.\*, Guillermo Barreto\*, Armando Daniel Cortez B.\*

\*Universidad Del Valle Colombia.

**Introducción.** La infección por *H. pylori* es el principal factor de riesgo para el desarrollo de lesiones precursoras de cáncer gástrico (tipo intestinal). La erradicación de la bacteria empleando la terapia triple (amoxicilina + claritromicina + omeprazol) es eficaz en la disminución y resolución de estas lesiones. La resistencia a claritromicina y amoxicilina se asocia con mutaciones en los genes 23S rRNA y PBP1A respectivamente. Se requieren estudios de caracterización de las mutaciones en estos genes y de su relación con la resistencia a los antibióticos en poblaciones colombianas con riesgo de cáncer gástrico. Objetivo: caracterizar las mutaciones puntuales en los genes 23S rRNA (dominio V) y PBP1A (dominios transglicosilasa y transpeptidasa) y su relación con la resistencia *in vitro* a amoxicilina y claritromicina respectivamente en aislados de *H. pylori* resistentes de pacientes provenientes de Tumaco, Colombia.

**Materiales y métodos.** Se analizaron las secuencias de los productos de amplificación por PCR del gen 23S rRNA de 30 aislados susceptibles y 29 resistentes a amoxicilina, previamente evaluados por el método de dilución en agar ( $\geq 1 \mu\text{g/ml}$  de ambos antibióticos) y del gen PBP1A de 11 aislados susceptibles y 30 resistentes a claritromicina. En el análisis de las secuencias se empleó el software Bioedit® y las secuencias control AE000511.1 y U27270.1 del genbank.

**Resultados.** Se reportan las mutaciones T2183C, C2196T, A1593T, A1653G, C1770T, C1954T, G1827, C1770T, C1954T, y G1827C, en aislados resistentes *in vitro* a claritromicina. Para el gen PBP1A se encontraron las mutaciones A69V, G112S, A599P, A611S, I552V, I563T, K619T, M497H, N608S, T511A, T556S, T586M, V622I en aislados de *H. pylori* resistentes a la amoxicilina.

**Conclusiones.** Aunque se observaron mutaciones puntuales en los genes PBP-1A y 23S rRNA no fue posible establecer asociación con la resistencia *in vitro*, se requiere evaluar el papel de las mutaciones descritas por primera vez en la resistencia a estos antimicrobianos.

### TLP-573. Caracterización demográfica y perfil de resistencia de infección hospitalar de pacientes con cáncer em Hospital de Pernambuco, Brasil

Stephanie Targino S.\*, Paula Regina Luna J.\*, Paulo Sérgio De Araújo\*, Ana Catarina De Souza L.\*, Maria Amélia Vieira M.\*

\*Universidade Federal De Pernambuco Brasil.

**Introdução.** Em pacientes oncológicos o aumento da resistência antimicrobiana das infecções hospitalares por bactérias Gram-negativas, possui maior importância clínica, devido à imunossupressão causada pela quimioterapia e gravidade da doença. Este estudo objetiva caracterizar o perfil de infecção hospitalar quanto à faixa etária e sexo dos pacientes e a resistência aos antimicrobianos de bactérias Gram-negativas, do hospital do câncer de pernambuco, Brasil, no período de 2012 a 2014.

**Materiais e métodos.** Os isolados obtidos de *Klebsiella* spp., *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter* spp., foram analisadas fenotipicamente quanto a identificação das espécies e o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos. Os dados demográficos foram obtidos por análise de prontuários.

**Resultados.** Na distribuição etária: 15,2% menores de um ano à 9 anos, 2,94% 10 à 19 anos, 7,35% 20 à 30 anos e 71% acima de 40 anos. Quanto ao sexo, obteve-se 55% homens. Em relação às bactérias Gram-negativas foram obtidos 44,6% *Klebsiella* spp., 33,8% *P. aeruginosa* e 21,6% *Acinetobacter* spp. Os isolados apresentaram maior resistência à: sulfametoxazol + trimetopim (100/204), ciprofloxacina (95/204), ceftriaxona (81/204) e ampicilina (80/204). Foi encontrado alto percentual de isolados multi-droga-resistentes (MRD): 62,54% *Klebsiella* spp., 59,42% *P. aeruginosa* e 79,55% *acinetobacter*, gerando um total de 65,20% de isolados m.

**Conclusões.** A maioria das infecções ocorreu entre maiores de 40 anos, que pode ser atribuído ao maior tempo de doença e uso de drogas imunossupressoras. A frequência das espécies encontradas e o alto percentual de isolados MRD encontrado corroboram com a literatura, onde essas espécies encontram-se entre as mais relacionadas aos principais problemas das infecções em pacientes oncológicos associados ao risco de morte, visto que as opções terapêuticas são limitadas. A obtenção de dados fenotípicos sobre o perfil de resistência é fundamental para subsidiar medidas personalizadas de programas de manejo de antibióticos e controle de infecção destes patógenos.

### TLP-574. Caracterización química y evaluación de la actividad biológica de fracciones de un propóleo de Santander frente a *Enterococcus faecalis*

Laura Viviana Herrera S.\*, Julio Roberto Pinzon J.\*, Cindy Lorena Martinez A.\*, Karina Marcela Tarazona C.\*

\*Universidad Santo Tomás Seccional Bucaramanga Colombia.

**Introducción.** El propóleo es una mezcla resinosa fabricada por las abejas (*Apis mellifera*) con diversas propiedades biológicas atribuidas, como: antimicrobiano, antiinflamatorio, antitumoral, antioxidante e inmunomodulador. Estudios previos han demostrado entre otros, potencial actividad de extractos etanólicos de propóleo de la región de Santander frente a *E. faecalis*, patógeno considerado multiresistente. Objetivo: determinar la actividad *in vitro* de fracciones de un extracto de propóleo de Santander frente a *E. faecalis*.

**Materiales y métodos.** El propóleo crudo fue recolectado en apiarios ubicados en Lebríja, Santander. El extracto etanólico (EE) se obtuvo por el método Soxhlet en muestras previamente desengrasadas con hexano. Posteriormente, fue dividido en cuatro fracciones en orden de polaridad utilizando HPLC semipreparativa. La actividad antimicrobiana de cada fracción frente a la cepa de *E. faecalis* ATCC 29212 fue evaluada por el método de macrodilución y recuento de unidades formadoras de colonias. Los resultados fueron expresados en CI50 y CI90.

**Resultados.** Las fracciones tres y cuatro fueron las más activas frente a *E. faecalis* mostrando CI50 entre 7,99 y 0,05  $\mu\text{g/ml}$  respectivamente. La fracción cuatro mostró actividad hasta 100 veces mayor con respecto al extracto de propóleo santandereano completo. Estos hallazgos son concordantes con estudios previos sobre la actividad de fracciones de propóleo y la obtención de componentes activos a partir de estos productos.

**Conclusiones.** Se determinaron las fracciones del propóleo activas frente a *E. faecalis* y por tanto investigaciones adicionales para aislar componentes individuales y determinar su actividad están en curso.

### TLP-575. Importancia del coprocultivo en muestras de diarrea sin presencia de sangre en niños menores de 6 años en Lima, Perú

Maribel Denise Riveros R.\*, Karen Ocampo C.\*,  
David Durand V.\*, Theresa J. Woodell\*

\*Instituto De Medicina Tropical Alexander Von Humboldt Perú.

**Introducción.** La gastroenteritis es la segunda causa más común de mortalidad en niños menores de 5 años en todo el mundo. Se define que entre las indicaciones de coprocultivo se deben considerar la diarrea severa que no cede a tratamiento sintomático, diarrea prolongada en inmunodeprimidos y neonatos, diarrea con sangre entre otros, considerando el coprocultivo como no justificado en la práctica clínica, asimismo, un método alternativo es el uso de los leucocitos fecales utilizados para identificar diarrea invasiva y decidir el uso de antibióticos. En el presente trabajo presentamos la importancia del coprocultivo en muestras sin sangre.

**Materiales y métodos.** Se colectaron 280 muestras de heces en niños menores de 6 años con diarrea aguda en 5 hospitales de Lima durante los meses de agosto del 2012 hasta abril del 2013. Los agentes etiológicos de gastroenteritis fueron identificados mediante coprocultivo convencional y la reacción inflamatoria se realizó mediante la tinción con azul de metileno.

**Resultados.** De 280 muestras fecales, 262 (93.6%) fueron diarreas sin presencia de sangre, siendo 64 (25%) aislamientos positivos, 22 (8%) para los géneros de *Shigella* spp., 21 (8%) *Campylobacter* spp. y 21 (8%) *Salmonella* spp. La presencia de moco se observó en 133 (50.8%), siendo 47 (35.3%) positivas para los géneros de *Shigella* spp. 18 (7%) ( $p < 0.05$ ), *Salmonella* spp. 18 (7%) ( $p < 0.05$ ) y *Campylobacter* spp. 11 (4%). Mientras que 129 (49%) muestras sin sangre y sin moco tuvieron 17 (13%) aislamientos positivos para los géneros de *Campylobacter* spp. 10 (4%), *Shigella* spp. 4 (2%) y *Salmonella* spp. 3 (1%).

**Conclusiones.** Es importante considerar que en muestras de heces en niños menores de 6 años sin sangre podría encontrarse la presencia de patógenos entéricos.

### TLP-576. Actividad antimicrobiana sinérgica de aceites esenciales con quitosano frente a *Streptococcus mutans*

Tatiana Nunes Silva A.\*, Víctor Hugo Albert P.\*,  
Thatiana Montenegro Stamford-Arnaud\*,  
Carlos Roberto Weber S.\*, Thayza Christina Montenegro S.\*

\*Universidad Federal De Pernambuco, Brasil.

**Introducción.** Caries dental es la enfermedad oral más frecuente, teniendo los microorganismos un papel importante en su etiología. *Streptococcus mutans* es un miembro de la comunidad microbiana oral, que desempeña un papel clave en la modulación de la transición del estado no patógeno para las biopelículas cariogénicas. El presente estudio evaluó la actividad antimicrobiana de quitosano y aceites esenciales (AEs), independiente y asociados, contra *S. mutans*.

**Materiales y métodos.** Inóculo de *S. mutans* ajustó a  $5 \times 10^8$  unidad de formación de colonias/mL, fue utilizado como microorganismo de ensayo. Quitosano (SIGMA), se solubilizó en 1% de ácido acético (20 mg/mL). Aes de ferquima: *Cymbopogon martini* (CM), *Syzygium aromaticum* (SA), *Cinnamomum cassia* (CC), *Melaleuca alternifolia* (MA) y *Mentha piperita* (MP), fue soluble (100 µL/mL) en infusión cerebro corazón (ICC) con agar como agente estabilizante. Los ensayos antimicrobianos se llevaron a cabo por el método de microdilución en caldo ICC a 37°C/48 h, y la posterior incubación en agar ICC sin sustancia de ensayo, para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración bactericida mínima (CBM). La concentración de las sustancias de ensayo variaron: quitosano (6000- 50 µL/mL) y AES (60-0.5 µL/mL).

**Resultados.** Quitosano demostró CMI y CBM, respectivamente, de 1500 L/mL y 2500 L/mL; y EAS mostró CMI y CBM, respectivamente: CM, MA y mp 25.0 L/mL y 30.0 µL/mL; SA 10.0 µL/mL y 15.0 µL/mL; CC 2.5 µL/mL y 5.0 µL/mL. La asociación de quitosano y EAs mostró un efecto sinérgico mediante la mejora de las actividades antimicrobianas, CMI y CBM, respectivamente: CM, MA, MP y SA 7.5 µL/mL y 10.0 µL/mL, quitosano 750 µL/mL y 1000 µL/mL; y CC 1.25 µL/mL y 2.5 µL/mL, quitosano 250 µL/mL y 500 µL/mL para todas las pruebas de *S. mutans*.

**Conclusiones.** Este estudio respalda la opinión de que el quitosano asociado a eas son un material prometedor para productos dentales.

### TLP-577. Resistencia bacteriana en bacilos Gram negativos aislados en la provincia de Loja-Ecuador

Liliana Costoya Seco\*, Sofia Genoveva Ochoa A.\*,  
Zorayda Patricia Toledo B.\*

\*Universidad Técnica Particular De Loja, Ecuador.

**Introducción.** La resistencia bacteriana representa una ventaja para la proliferación y diseminación de los microorganismos patógenos, aumenta la morbimortalidad, la estadía hospitalaria y los costos de tratamiento. Por otro lado, uno de los grupos de antibióticos más importantes es el grupo de los β-lactámicos y uno de los mecanismos de resistencia con mayor trascendencia clínica es la interferencia con la síntesis de la pared celular mediada por enzimas β-lactamasas de espectro extendido (BLEE). El objetivo del presente trabajo fue la caracterización fenotípica y análisis de los mecanismos de resistencia bacteriana mediados por β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas en Gram negativos aislados de muestras clínicas en Loja-Ecuador durante el periodo julio-noviembre 2013.

**Materiales y métodos.** Las muestras fueron obtenidas de cultivos provenientes de hospitales de Loja. Se realizó la siembra en placa y se seleccionaron bacilos Gram negativos identificados mediante pruebas bioquímicas. La susceptibilidad bacteriana se determinó con el método de disco difusión. Se analizaron múltiples antibiogramas. Para la detección de BLEE se realizó la técnica de difusión de doble disco con amoxicilina/ácido clavulánico empleando el método de Jarlier.

**Resultados.** Se obtuvieron un total de 922 muestras clínicas de las cuales 673 correspondieron a *Escherichia coli*, presentando esta última la mayor tasa de resistencia mediada por BLEE. El porcentaje más elevado de resistencia se presentó frente a la ampicilina, llegando en algunos casos a tasas cercanas al 80%.

**Conclusiones.** Según estudios previos en Ecuador, la resistencia frente a antibióticos β-lactámicos de uso común era del 32% al 45% en pacientes hospitalizados y nuestros datos sugieren un aumento de las mismas, siendo las β-lactamasas de espectro extendido el principal mecanismo de resistencia encontrado en los bacilos Gram negativos aislados en la región Sur de Ecuador.

### TLP-578. Evaluación del tiempo de excreción de *Escherichia coli* productor de toxina shiga en *Rattus* spp.

Ximena Blanco C.\*, Eduardo Caturini\*,  
Osvaldo Degregorio\*, Adriana Bentancor\*

\*Cátedra De Patología. Bioterio Central. Cátedra De Salud Pública.  
Cátedra De Microbiología. Facultad De CS. Veterinarias, UBA. Argentina.

**Introducción.** *Escherichia coli* productor de toxina shiga (STEC) es un microorganismo que puede ocasionar cuadros en el hombre que incluyen la portación asintomática, enfermedad diarreogénica y síndrome urémico hemolítico. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el tiempo de excreción de STEC en roedores del género *Rattus*.

**Materiales y métodos.** Se realizaron dos ensayos utilizando en cada uno 8 ratas Sprague Dawley, jóvenes de 300 +/- 20 g. El día cero 5 animales fueron inoculados con 1 mL de una suspensión de la cepa O174:H21 en agua estéril equivalente a 1,1.108 ufc/mL (ensayo 1) y 2,83.108 ufc/mL (ensayo 2), y 3 animales controles de cada ensayo fueron inoculados con igual volumen de agua estéril. Los días siguientes los animales fueron alimentados con alimento balanceado AD libitum y agua estériles. Del primer día en adelante se realizó un hisopado rectal por animal y se tomaron muestras de materia fecal. Dichas muestras fueron analizadas en el laboratorio según algoritmo para la detección de cepas STEC-NO O157.

**Resultados.** En el ensayo 1 se detectó un total de 2/5 animales positivos el día posterior a la infección resultando negativos en los días siguientes. Los resultados positivos fueron observados exclusivamente en muestras de materia fecal. Al ensayo 2 se detectó un total de 4/5 animales positivos el día posterior a la infección, 2/5 animales al día cuatro, resultando negativos los días siguientes de observación. En 4/6 hisopos y 2/6 muestras de materia fecal se detectó resultado positivo. No se observaron diferencias ni correlación entre muestras positivas obtenidas a partir de hisopos o materia fecal.

**Conclusiones.** Los resultados señalan que los roedores del género *Rattus* ante concentraciones altas del patógeno en dosis única, podrían comportarse como portadores transitorios del mismo por períodos breves de tiempo.

### TLP-579. Análise comparativa e quantitativa de espécies de bifidobacterium, bacteroides e clostridium em amostras fecais de crianças submetidos à antibioticoterapia

Miriam Rodriguez F.\*, Aline Ignacio\*, Viviane A.A. Rodrigues\*,  
Mario Julio Avila-Campos\*, Viviane Nakano\*

\*Universidade De São Paulo - Instituto De Ciências Biomédicas Brasil.

**Introdução.** Os microrganismos que compõem a microbiota intestinal humana são referidos como microbiota indígena, sendo predominantemente formado por bactérias anaeróbias. O objetivo desse estudo foi avaliar de forma comparativa a presença de *Bacteroides* spp., *Parabacteroides* spp., *Bifidobacterium* spp. e *E. clostridium* spp. em crianças com e sem antibioticoterapia. Foram coletadas amostras fecais não diarreicas de 30 crianças sem antibioticoterapia e 31 crianças com antibioticoterapia.

**Materiais e métodos.** O isolamento bacteriano foi realizado em meios seletivos e a identificação de gênero/espécie foi por kit comercial e PCR. A quantificação bacteriana foi realizada por QPCR com SYBR green.

**Resultados.** Foram identificados 24 (80%) *Bacteroides* spp./*Parabacteroides* spp., 30 (100%) *Bifidobacterium* spp. e 19 (63,3%) *Clostridium* spp. Nas crianças sem antibiótico; e 17 (54,8%) *Bacteroides* spp./*Parabacteroides* spp., 17 (54,8%) *Bifidobacterium* spp. e 11 (35,5%) *Clostridium* spp. *Bacteroides vulgatus* (58,7%) foi a espécie mais isolada no grupo controle. *Bacteroides fragilis* mostrou baixa porcentagem de isolamento em ambos os grupos controle e antibiótico (10,3% e 3,33%). *Bifidobacterium adolescentis* foi isolada em 80,6% no grupo controle, e *B. breve* em (58%) no grupo com antibióticos. *C. perfringens* foi isolado somente no grupo controle (33,3%), e *C. difficile* em baixa porcentagem em ambos os grupos. Quantitativamente o gênero bacteroides apresentou os maiores níveis (8,78 x 10<sup>4</sup> e 8,41 x 10<sup>4</sup>) para os grupos controle e antibiótico, respectivamente. No entanto, *Bifidobacterium* spp. e *E. clostridium* cluster i tiveram redução no número de cópias g/fezes nas amostras de crianças que receberam antibióticos.

**Conclusões.** Estes resultados mostram que a microbiota intestinal sofre alterações microbianas qualitativas e quantitativas pela ação de antibióticos, podendo levar à supressão de gêneros e espécies que comumente são encontrados nessa microbiota e podendo favorecer o estabelecimento de alguns microrganismos resistentes. Apoio financeiro: capes, CNPQ 158799/2012-7.

### TLP-580. Influencia de la carga en la actividad antibacteriana y citotóxica de un péptido catiónico derivado de cecropina-D *Galleria mellonella*

José Fernando Oñate G.\*, Ewin Patiño\*, Marcela Manrique M.\*

\*Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

**Introducción.** La capacidad que tienen los insectos de construir una eficiente defensa inmune innata contra microorganismos es en parte por la producción de péptidos antimicrobianos (PAMS). Los PAMS ejercen su acción al alterar las membranas celulares, y se ha postulado que la carga catiónica en sus estructuras tiene una fuerte correlación con la actividad antibacteriana, ya que es la responsable de la interacción electrostática inicial de los PAMS con la superficie microbiana aniónica. Debido a su blanco de acción, los PAMS generan una baja respuesta de resistencia bacteriana, ya que los microorganismos tendrían que re-diseñar sus membranas cambiando la composición u organización de sus lípidos, siendo probablemente una solución "muy costosa" para la mayoría de las especies microbianas. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antibacteriana y citotóxica de cecropina-D *Galleria mellonella* y de un péptido catiónico derivado de su secuencia.

**Materiales y métodos.** Los péptidos fueron sintetizados mediante la metodología FMOC. Las concentraciones mínimas inhibitorias fueron halladas mediante el ensayo de micro-dilución en caldo. Los ensayos de citotoxicidad se llevaron a cabo mediante la determinación de actividad hemolítica en eritrocitos humanos.

**Resultados.** El péptido cargado positivamente, a diferencia del silvestre, tuvo actividad antibacteriana en las cepas, *E. coli* BL21 y *S. typhimurium*. Sin embargo, ninguno mostró actividad en *S. aureus*. No obstante, el incremento de la carga estuvo relacionado con el aumento significativo de la actividad hemolítica.

**Conclusiones.** Se observó que el aumento de carga está relacionado con el incremento de la actividad antibacteriana y de la actividad hemolítica.

### TLP-581. Associação de *Lippia sidoides cham* *E. schinus terebinthifolius raddi* com antibióticos de uso clínico

Lais De Souza P.\*, Maria Cláudia Valério Vi.\*, Evelynne Gomes S.\*, Igor Felipe Andrade C.\*, Rosilma De Oliveira A.\*, Glêzia Renata Da S.\*, Julianna Ferreira Cavalcanti de A.\*, Kêsia Xisto da Fonseca R.\*

\*Universidade Federal De Pernambuco, Brasil.

**Introdução.** O crescente quadro de infecções hospitalares com bactérias que desenvolveram resistência aos principais antibióticos utilizados na rotina médica torna necessária a pesquisa de alternativas terapêuticas para seu tratamento. *Schinus terebinthifolius raddi* e *Lippia sidoides cham*. São espécimes botânicos de conhecida atividade antimicrobiana frente a diversos micro-organismos, entre eles *Staphylococcus aureus*, incluindo cepas que apresentam resistência a antimicrobianos. Em busca de novas alternativas terapêuticas às bactérias multirresistentes causadoras de infecções humanas a partir de extratos vegetais, foi avaliada a atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos de *Schinus terebinthifolius raddi* e *Lippia sidoides cham*.

**Materiais e métodos.** O ensaio foi realizado isoladamente e com extratos associados com antimicrobianos, frente a isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* de 16 diferentes sítios. Os antibióticos utilizados foram oxacilina (1 µg), clindamicina (2 µg) e eritromicina (15 µg). O ensaio foi realizado pela técnica de difusão em ágar, definida e padronizada pelo clinical laboratory standards institute (CLSI). Os micro-organismos avaliados tinham de 18-24 h de crescimento, e foram suspensos em soro fisiológico, com uma concentração equivalente ao padrão de 0,5 da escala de McFarland. As soluções dos extratos utilizadas foram feitas com concentrações de 200.000 µg/mL. Discos dos antibióticos comercializados foram embebidos com 10 µl das soluções dos extratos.

**Resultados.** A resistência à oxacilina e a resistência induzida a clindamicina foi observada em sete (43,75%) das linhagens analisadas enquanto que a resistência a clindamicina e à eritromicina simultaneamente foi observada em seis (37,50%). Na associação com *S. terebinthifolius* todas as linhagens resistentes à oxacilina e clindamicina tornaram-se sensíveis, dos resistentes a eritromicina dois passaram a sensíveis e quatro apresentaram resistência intermediária.

**Conclusões.** *L. sidoides* associada apresentou dois isolados sensíveis a oxacilina e um a clindamicina e eritromicina. *Schinus terebinthifolius* foi mais efetivo do que *Lippia sidoides* podendo tornar se uma alternativa na associação com antibióticos comercializados.

### TLP-582. Diseño de iniciadores para el análisis de la zona de plasticidad en aislados clínicos de *Helicobacter pylori*

Silvia Giono Cerezo\*, María Guadalupe Córdova E.\*, Rosa González V.\*, Jorge Villanueva R.\*

\*Escuela Nacional De Ciencias Biológicas-IPN México.

**Introducción.** *Helicobacter pylori* es un bacilo Gram negativo que coloniza el estómago de humanos; causa úlcera péptica (UP) y cáncer (CAG); tiene una zona de 45-60 kb, denominada zona de plasticidad (ZP), contiene un grupo de genes TFS3 con homología a los genes de CAG-PAI; varía en arreglo. *Kersulyte y cols (2009)* propusieron una clasificación para la ZP en ZP1, ZP1B y ZP2 y a su vez para el grupo de genes TFS3 en TFS3, TFS3A y TFS3B. Diseñar iniciadores para genotipificar aislados clínicos de *H. pylori* con base a la ZP en ZP1/ZP1B/ZP2 y TFS3/TFS3A/TFS3B.

**Materiales y métodos.** Se procesaron 230 biopsias de pacientes que acudieron al servicio de endoscopia del CMN la raza-IMSS; las biopsias se sembraron en casman 5% (CO<sub>2</sub>, 5%); se obtuvieron 160 aislados clínicos. Se extrajo el DNA. Se diseñaron 10 iniciadores para genotipificar la ZP y 5 de los mismos también sirvieron para genotipificar el grupo de genes TFS3. Se empleó la base de datos de la NCBI de cepas secuenciadas.

Se realizó el análisis bioinformático. Se estandarizaron las condiciones de PCR, se amplificaron los genes.

**Resultados.** 24 cepas de *H. pylori* con diagnóstico de gastritis crónica activa moderada se obtuvieron 160 subaislados clínicos; el 11.24% presentó un solo genotipo de ZP y el 72.64% de TFS3. El 88.75% de las cepas presentaron genotipos mixtos de ZP: 1/1B, 0.625%; 1/2, 8.12%; 1B/2, 28.12%; 1/1B/2, 51.87%. El 27.35% genotipos mixtos con TFS3: TFS3/TFS3A, 11.11%; TFS3/TFS3B, 11.96% y TFS3/TFS3A/TFS3B, 4.27%.

**Conclusiones.** Los iniciadores presentan alta especificidad y sensibilidad para genotipificar la ZP de *H. pylori*. Se encontraron aislados clínicos con más de un genotipo de ZP y TFS3 al igual que aislados con la región incompleta. Los genotipos ZP2, TFS3 y 1/1B/2 se encontraron en mayor porcentaje.

### TLP-583. High-throughput enzymatic assay for bacterial polyphosphate kinase 1 as a platform for searching anti-virulence molecules

Francisca Campos\*, Javiera Alvarez\*, Rodrigo Muñoz\*, Macarena Varas\*, Javiera Ortiz\*, Ricardo Cabrera\*, Francisco P. Chávez\*

\*Universidad De Chile, Chile.

**Introduction.** Inorganic polyphosphate (POLYP) and its metabolic enzymes are important in several cellular processes related with virulence and antibiotic susceptibility. Accordingly, bacterial polyphosphate synthesis has been proposed as a good target for designing novel antimicrobial molecules as alternative to conventional antibiotics. In most pathogenic bacteria, polyphosphate kinase 1 (PPK1), in charge of POLYP synthesis from ATP, is widely conserved. Current colorimetric and radioactive bacterial polyphosphate kinase 1 assays are difficult for high-throughput inhibitors screening. Given the ability of POLYP to modify the excitation-emission spectra of dapi (4'-6-diamidino-2-phenylindole), a fluorescence assay was developed by using a purified *Escherichia coli* PPK1 enzyme.

**Materials and methods.** Histidine-tagged fusion PPK1 from *Escherichia coli* was cloned in the pettev expression vector and overexpressed in *E. coli* BL21AI strain. Purification was performed by affinity chromatography using ni-sepharose columns. The PPK1 activity was assayed in 96-well by measuring the POLYP-dapi fluorescence at 550 nm.

**Results.** PPK1 from *E. coli* was successfully cloned and purified from the soluble fraction of the protein extract. Finally, the purified protein was used to setup a high throughput PPK1 assay for measuring the inhibitory activity of molecules that were designed for binding the active site of the enzyme.

**Conclusions.** In this work we have developed a new high throughput methodology for measurement of *E. coli* PPK1 activity. This platform can be used for the screening putative anti-virulence molecules for related enteropathogenic bacteria.

### TLP-584. Role of zinc sulfate on the bacterial growth and biofilm formation by NDM-1 producer strains

Flávia Roberta Brust\*, Alexandre José Macedo\*

\*Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul Brasil.

**Introduction.** Recent studies indicate that different metals can cause injuries to microbial cells as a result of oxidative stress, protein dysfunction or membrane damage. Biofilm and planktonic cells have distinct heavy metal susceptibility since heavy metals have difficulty to diffuse into the biofilm cells. With the global rise of antibiotic resistance and the lack of new antibiotics, the interest on metal-bases antimicrobial therapy is increasing. Ndm-1 (New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase) hydrolyzes all penicillins, cephalosporins and carbapenems. In this context, metal-bases antimicrobial can be a promising treatment option against infection caused by multidrug-resistant bacteria. The aim of this study was to evaluate the role of the zinc sulfate on the planktonic and biofilm growth in ndm-1 producing enterobacteriaceae isolates.

**Materials and methods.** Three strains were cultured in mueller hinton agar and incubated for 24 h at 37°C. After the incubation, the bacterial inoculum was prepared using 1.0 mcfarland equivalence turbidity standards and seeded in 96 well polystyrene plates with different concentrations of zinc sulfate (0.01, 0.1, 0.5 and 1.0 mm). Moreover, the effect of the combination of zinc sulfate and meropenem (4 ug/mL) was evaluated. The plates were incubated and biofilm were quantified using crystal violet assay.

**Results.** In the two higher concentrations, zinc sulfate alone or in combination with meropenem showed inhibitory effect in the bacterial growth and reduction in the biofilm formation.

**Conclusions.** In order to understand the zinc sulfate role on ndm-1 producing strains we tested this metal alone and with meropenem. In higher concentration, sulfate zinc showed an inhibitory effect on the bacterial growth and on the biofilm formation. Metals have been used as antimicrobial agents since antiquity but their modes of action have remained unclear. The increase of antibiotic resistance and the lack of therapy options have enhanced the study of new antimicrobial agents like heavy metal.

### TLP-585. Prevalência de colonização por *Staphylococcus aureus* entre pessoas vivendo com HIV/AIDS no Brasil

Camila Sena Martins S.\*, Leticia Chamma Lastoria\*, Lígia Maria Abraão\*, Lucas Soares\*, Carlos Magno Castelo Branco F.\*, Maria De Lourdes Ribeiro De Souza Da Cunha\*

\*Universidade Paulista Júlio de Mesquita Filho Brasil.

**Introdução.** *Staphylococcus aureus* representa um problema de saúde pública, principalmente em pessoas vivendo com HIV/AIDS (PVHA), onde essa colonização pode implicar maior risco de morbidade e mortalidade. Com isso, estudos são necessários a fim de quantificar a carga de colonização, o perfil de virulência e resistência desses micro-organismos. Objetivo. Caracterizar a prevalência de colonização por *S. aureus*, detectar os isolados resistente a meticilina, determinar o cassete cromossômico esta-filocócico MEC (SCCMEC), identificar a presença dos genes codificadores da leucocidina panton-valentine (PVL) (LUKS-PV e LUKF-PV), toxina da síndrome do choque tóxico (TST) e as hemolisinas alfa e delta (HLA e HLD).

**Materiais e métodos.** Foram realizadas coletas em 300 PVHA de swabs nasais e orais, as colônias foram isoladas em ágar Baird-parker, meio seletivo para *Staphylococcus* spp., identificadas e submetidas às reações de polymerase chain reaction (PCR) para detecção dos genes de virulência, gene de resistência à oxacilina (MECA) e identificação dos tipos de SCCMEC por PCR multiplex.

**Resultados.** As prevalências de carreamento de *S. aureus* e MRSA foram 23% (69) e 1,6% (5), respectivamente. Todos os isolados MRSA carreamam SCCMEC tipo IV. Em relação aos genes das hemolisinas 95,7% (287) dos pvha carreamam *S. aureus* com genes HLA e HLD, 0,7% (2) apresentaram *S. aureus* positivos para o gene da PVL e 3% (9) positivos para o gene TST.

**Conclusões.** Embora a prevalência de carreamento de *S. aureus* seja similar à encontrada em pessoas saudáveis, a prevalência de MRSA encontrada foi superior e os genes de virulência detectados demonstram a patogenicidade dos isolados carreados pelos PVHA e o potencial agravamento de possíveis infecções. Um fato relevante é a presença dos genes da PVL, gene da toxina 1 da síndrome do choque tóxico e hemolisinas. Quando expressos contribuem para infecções graves, de difícil tratamento e conseqüentemente maior duração do processo infeccioso.

### TLP-586. Susceptibility determination of *Staphylococcus epidermidis* during controlled release of norfloxacin and vancomycin from the polymeric implants

Thaiane Pinto M.\*, Ana Flavia De Castro R.\*, Adriana De Fátima P.\*, Gisele Rodrigues S.\*, Juliana Teixeira M.\*

\*Universidade Federal De São João Del Rei Brasil.

**Introduction.** Bacterial endophthalmitis is a severe inflammation in the intraocular fluids due to the presence and growth of Gram-positive bacteria from the eyelid microflora. For the effective treatment is necessary to administer on-site high doses of antibiotics by injections, resulting in risks and patient discomfort. In this context, a polymer implant (PLGA) containing anti-inflammatory (dexamethasone or prednisone) and antibiotic (vancomycin or norfloxacin) was developed as alternative to the current treatment. This polymer is fixed to sclera of the eye and allows a gradual release of the active drug within intraocular. This work aimed to study the efficiency of this implant to release the antibiotics in culture medium and to eliminate *S. epidermidis* ATCC 12228.

**Materials and methods.** Bacterial kill curves were performed using implants containing only PLGA, or implants with anti-inflammatory, or implants with anti-inflammatory and antibiotic. The implant was sterilized

using U.V light and kept in the muller hinton broth (MH) containing 106 cells/mL of bacterium. The implant with bacterium, vancomycin (2 mg/mL) and norfloxacin (10 µg/mL) was used as positive control, and the implant without antibiotics as negative control. The strains were cultivated at 37°C for 48 h and samples were collected at each time 0, 2, 4, 6, 8, 10, 24, 34 and 48 h plated on mh agar to verify the cell death.

**Results.** The implants can release antibiotics in the culture medium in concentration sufficient to eliminate this bacterium. Bactericidal activity was showed after 2 h incubation. At 8 h was observed 2-log decrease in cell number in the presence of vancomycin and 3 log cycles for norfloxacin. The total cell death was observed after 34 and 48 h to norfloxacin and vancomycin, respectively. In the negative control was not observed reduction of bacteria.

**Conclusions.** The implants are able to release the antibiotics in culture medium on the concentration to eliminate *S. epidermidis* strains.

### TLP-587. Applicability of 16s-23s rRNA ARDRA-PCR technique for *Lactobacillus* species identification

Luige Biciati A.\*, Felipe Machado S.\*, Savio Sandes\*, Bruno Campos S.\*, Elisabeth Neumann\*, Jacques Robert N.\*, Alvaro Cantini N.\*

\*Institute Of Biological Sciences (ICB),  
Federal University Of Minas Gerais Brasil.

**Introduction.** *Lactobacillus* genus has more than 150 species that have been identified and characterized by phenotypic or genotypic methods. *Lactobacilli* identification by phenotypic techniques is difficult because it can require up to 17 tests to identify a *Lactobacillus* isolate accurately to the specie level. Furthermore, frequent misidentification of lactobacilli strains employed in commercial products are seen. The application of simple and accurate methods is therefore required in order to ensure correct identification for new strains, as well as for safety assessment and quality assurance. The aim of this study is to describe the use of amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA) of the 16s-23s internal transcribed spacer 1 (ITS-1) for species-level identification of *Lactobacillus* strains.

**Materials and methods.** The its-1 region of 45 different *Lactobacillus* species, previously identified to the species-level by 16s rRNA sequencing, was amplified using both 16-1a (5'-GAATCGCTAGTAATCG-3') and 23-1b (5'-GGGTTCCCCATTCCGGA-3') primers. Subsequently, the amplicons were digested using the restriction enzymes SPHI, NCOI, NHEI, SSP1, CSP45I, ECORV, DRAI, VSP1, HINCII, ECORI, HINDIII and AVRII. The products were electrophoresed in an agarose gel and visualized by uv transilluminator after staining in ethidium bromide solution.

**Results.** Twenty-nine out of 45 evaluated species presented unique digestion patterns, being precisely identified. Other 16 species showed identical patterns with some different species or presented distinct digestion patterns for different strains, requiring further tests.

**Conclusions.** The 16S-23S rRNA ARDRA-PCR approach proved to be accurate and reproducible, identifying 64% species tested and allowing to establish simplified restriction patterns for each evaluated species.

### TLP-588. Sensibilidad de bacterias Gram positivas y Gram negativas a mieles de mielato de roble colombianas

M. Viviana Gamboa A.\*, Judith Figueroa R.\*, Conzuelo Diaz M.\*

\*Facultad De Medicina Veterinaria y  
Zootecnia Universidad Nacional De Colombia.

**Introducción.** En Colombia la miel de mielato proviene de la apicultura desarrollada en masas de bosques de roble nativos *Quercus humboldtii*, los cuales se extienden en las tres cordilleras del país en un área aproximada de 17.000 ha. La miel de mielato posee características composicionales para las cuales a nivel mundial se reconoce una capacidad antimicrobiana superior a las mieles florales. Objetivo general. Caracterizar aspectos fisicoquímicos y capacidad antimicrobiana de la miel de mielato.

**Materiales y métodos.** Se muestrearon 50 mieles de mielato y se determinaron los parámetros fisicoquímicos: contenido de humedad, pH y acidez, contenido de cenizas, contenido de carbohidratos y azúcares reductores, rotación específica, conductividad eléctrica, color; perfil aromático mediante el uso de una nariz electrónica y capacidad antimicrobiana *in vitro* con y sin actividad peróxido sobre siete cepas bacterias

de referencia ATCC: *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Kocuria rhizophila*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas aeruginosa*.

**Resultados.** Las mieles de mielato de roble presentaron un perfil composicional fisicoquímico semejante a mieles de mielato a nivel mundial, con un perfil aromático también característico según la valoración realizada por nariz electrónica. En cuanto a la capacidad antimicrobiana las mieles de mielato de roble con y sin actividad peróxido lograron la inhibición de las bacterias en concentraciones entre 2.5 y 80% de miel, siendo más sobre *S. aureus* y *P. aeruginosa*.

**Conclusiones.** El conocimiento de las características de composición y capacidad antibacteriana en un producto novedoso como la miel de mielato de roble, se presenta como un potencial en el mercado de los productos naturales con valor agregado y con potencial para su uso en el sector salud.

### TLP-589. Apoptosis induced by *Clostridium perfringens* α-toxin is mediated by reactive oxygen species

Marietta Flores\*, Laura Monturiol\*,  
María Josépineda\*, Cindy Araya\*, Alberto Alape\*

\*Universidad De Costa Rica - San José - Costa Rica.

**Introduction.** *Clostridium perfringens*, the most broadly distributed pathogen in nature, produces a prototype phospholipase C, also called α-toxin, which plays a key role in the pathogenesis of gas gangrene. This toxin causes death to cultured cells and extensive myonecrosis when injected intramuscularly in experimental animals. The aim of this work was to determine whether α-toxin induces apoptosis.

**Materials and methods.** Scanning electron microscopy, fluorescence microscopy and flow cytometry were used to evaluate morphological changes and viability in cultured cells exposed to 3-5 ng/mL of α-toxin. Myotoxicity studies were performed in mice challenged intramuscularly with 1.2 microg of recombinant α-toxin or with 108 *C. perfringens* cells.

**Results.** α-toxin induces morphological and biochemical changes characteristic of apoptosis in cultured cells. Nuclei condensation and fragmentation were observed by fluorescence microscopy and a typical ladder fragmentation pattern of genomic DNA was detected in agarose gels. Cell death was prevented by the caspases inhibitors Z-DEVD-FMK and Z-VAD-FMK. α-toxin induces oxidative stress and different antioxidants including the glutathione precursor NAC, several iron chelators and the free radical scavengers tiron and edaravone prevent death of cultured cells as well as myotoxicity in mice.

**Conclusions.** This work provides compelling evidence that O<sub>2</sub>, hydroperoxide, and the OH<sup>•</sup> radical are involved in the cytotoxic and myotoxic effects of α-toxin. Furthermore, the data demonstrated that edaravone, a clinically used hydroxyl radical trap, reduces the myonecrosis and the mortality caused by *C. perfringens* in a murine model of gas gangrene, induced by intramuscular bacterial injection. This knowledge provides new insights for the development of novel therapies to reduce tissue damage during clostridial myonecrosis.

### TLP-590. Development of a rapid agglutination latex test for diagnosis of enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection in developing world: defining the biomarker, antibody and method

Leticia Barboza R.\*, Anna Raquel Ribeiro S.\*, Danielle Dias M.\*,  
Lucas Tadeu Amorim C.\*, Daniela Eleuterio Luz\*, Fernanda Batista  
A.\*, Denise Silvina Piccini Quintas Horton\*, Waldir Pere\*

\*Instituto Butantan Brasil.

**Introduction.** Enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EPEC/EHEC) are human intestinal pathogens responsible for diarrhea in both developing and industrialized countries. In research laboratories, EPEC and EHEC are defined on the basis of their pathogenic features; nevertheless, their identification in routine laboratories is expensive and laborious. Therefore, the aim of the present work was to develop a rapid and simple assay for EPEC/EHEC detection. Accordingly, the EPEC/EHEC-secreted proteins espA and espB were chosen as target antigens.

**Materials and methods.** First, we investigated the ideal conditions for espA/espB production/secretion by ELISA in a collection of EPEC/EHEC strains after cultivating bacterial isolates in dulbecco's modified eagle's

medium (DMEM) or dmem containing 1% tryptone or hep-2 cells-pre-conditioned DMEM, employing either anti-ESPA/anti-ESPB polyclonal or monoclonal antibodies developed and characterized herein. Subsequently, a rapid agglutination latex test (RALT) was developed and tested with the same collection of bacterial isolates.

**Results.** ESPB was defined as a biomarker and its corresponding monoclonal antibody as the tool for EPEC/EHEC diagnosis; the production of ESPB was better in dmem medium. Ralt assay has the sensitivity and specificity required for high-impact diagnosis of neglected diseases in the developing world.

**Conclusions.** Ralt assay described herein can be considered an alternative assay for diarrhea diagnosis in low-income countries since it achieved 97% sensitivity, 98% specificity and 97% efficiency.

### TLP-591. Use of a combination of selective agents for isolation of leptospires from bovine clinical samples

Ana Paula Loureiro\*, Gabriel Martins\*,  
Priscila Pinto\*, Lorena Narduche\*, Walter Lilenbaum\*

\*Universidade Federal Fluminense Brasil.

**Introduction.** The isolation of local strains determines the circulating leptospiral strains on a region, and is still mandatory for the success of control programs. Leptospires isolation from clinical samples is challenging. Those samples are usually highly contaminated by other bacteria, what impairs the growth of leptospires. The study aimed to evaluate the efficacy of EMJH supplemented with antibiotics (STAFF) for the leptospires isolation from bovine clinical samples.

**Materials and methods.** Urine (123) was collected by puncture of the bladder and vaginal fluid (VF) (102) was obtained using a cytology brush from slaughtered cows. Samples were inoculated into EMJH medium tubes and staff medium (sulfamethoxazole, trimethoprim, amphotericin b, fosfomicin, and 5-fluorouracil). The tubes were incubated at 28°C and evaluated by darkfield microscopy on the 15<sup>th</sup> day after inoculation.

**Results.** Considering urine samples, EMJH and staff presented, respectively, 22.0%, 1.6% ( $p < 0.0001$ ) of confluent; 14.6%, 1.6% ( $p = 0.002$ ) of moderate; 5.7%, 4.9% ( $p = 1$ ) of few and 57.7%, 91.1% ( $p < 0.0001$ ) occasional growth of contaminants. Regarding VF samples, those media presented 84.3%, 7.9% ( $p < 0.0001$ ) of confluent; 12.7%, 13.7% ( $p = 1$ ) of moderate; 2%, 25.5% ( $p < 0.0001$ ) of few and 1%, 52.9% ( $p < 0.0001$ ) occasional growth of bacteria contaminants on VF samples. Concerning leptospiral recovery, nine strains were obtained, three from VF and six from urine. Seven isolates (7/9 - 77.8%) grew only on staff, one (1/9 - 11.1%) only on EMJH and one (1/9 - 11.1%) in both media.

**Conclusions.** Staff clearly was adequate in inhibiting the growth of contaminating bacteria, what was more evident for VF. Additionally, staff did not impair the growth of leptospires. Thus, the usage of media with antibiotics was shown to be an important tool on the isolation of leptospires from clinical samples of bovine origin.

### TLP-592. Determinación de la capacidad de transferencia de determinantes de tolerancia a cobre en bacterias multiresistentes aisladas de hospitales Chilenos

Tomás Kappes R.\*, Helia Bello T.\*,  
Mariana Dominguez Y.\*, Gerardo González-Rocha\*

\*Universidad De Concepción, Chile.

**Introducción.** Las infecciones intrahospitalarias causadas por patógenos multiresistentes constituyen un grave problema para la salud pública a nivel mundial. El uso de cobre como antimicrobiano en superficies, está siendo aplicado en ambientes hospitalarios con el fin de reducir la carga bacteriana y evitar la contaminación cruzada con estos patógenos. Existe evidencia de que los genes que codifican resistencia a cobre pueden asociarse a elementos genéticos que confieren resistencia antibiótica y su uso indiscriminado podría llevar a la coselección de cepas multiresistentes a los antibióticos y con mayores niveles de tolerancia a cobre. Objetivo general: determinar la capacidad de transferencia de determinantes de tolerancia a cobre iónico en cepas bacterianas intrahospitalarias multiresistentes a los antibióticos.

**Materiales y métodos.** Se estudiaron 592 cepas de bacterias patógenas resistentes a los antibióticos aisladas de hospitales chilenos incluyendo *Enterococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Es-*

*cherichia coli*, *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*. Se agruparon según sus perfiles de resistencia a antibióticos, se determinó sus niveles de tolerancia a cobre, mediante análisis de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de CUSO4 y se determinó la capacidad de co-transferencia de determinantes de tolerancia a cobre y de resistencia antibiótica mediante conjugación y transformación.

**Resultados.** Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medias geométricas de las CMI de cuso4 de los grupos de cepas de *K. pneumoniae*, *A. baumannii* y *Enterococcus* spp. Estas diferencias no se observaron entre los grupos de cepas de *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*. No se detectó transferencia de determinantes de tolerancia a cobre iónico en ninguna de las especies evaluadas.

**Conclusiones.** Existe una asociación estadísticamente significativa entre la tolerancia a cobre iónico y la resistencia a antibióticos de relevancia clínica en cepas de *K. pneumoniae*, *A. baumannii* y *Enterococcus* spp.; sin embargo, los determinantes de tolerancia a cobre en estas especies no son transferibles mediante conjugación ni transformación.

### TLP-593. Análise transcricional de genes associados a proteínas de superfície e aos reguladores AGRRNAIII e sara em amostras clínicas de *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina pertencentes a diversos complexos clonais

Marina Côrtes\*, Cristiana Beltrame\*, Fabienne Ferreira\*,  
Marcos Americo\*, Sergio Fracalanza\*, Agnes Figueiredo\*

\*Universidade Federal Do Rio De Janeiro, Brasil.

**Introdução.** Biofilme é considerado importante fator de virulência em *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina (MRSA). Porém, os mecanismos de formação/acumulação do biofilme são independentemente não se encontram completamente definidos. Neste estudo, correlacionamos biofilme produzido por amostras MRSA pertencentes a importantes complexos clonais (CC1, CC5, CC8, CC30) com a expressão de proteínas, DNA, proteases e reguladores gênicos associados ao biofilme.

**Materiais e métodos.** Estudamos biofilme *in vitro* através de ensaios em placas de poliestireno, microscopia confocal de varredura a laser, atividade de dnase e proteases e biofilme em superfícies com fibronectina; além do biofilme *in vivo*. A concentração mínima inibitória (micrometilina) foi obtida. Expressão gênica analisada por RT-QPCR PARA FNBA, MECA, SARA e AGRRNAIII.

**Resultados.** MRSA estudados apresentaram uma correlação positiva ( $r = 0,81$ ) entre acúmulo de biofilme inerte e biofilme em superfícies com fibronectina. Correlação positiva também foi encontrada entre acúmulo de biofilme e transcritos fnba ( $r = 0,42$ ), assim como transcritos sara ( $r = 0,55$ ), porém não ocorreu entre o biofilme e transcritos AGR-RNAIII ( $r = 0,08$ ). A correlação entre o biofilme e transcritos MECA ( $r = 0,52$ ) e entre o biofilme e a micrometilina ( $r = 0,45$ ) foi similar. O aumento da expressão de FNBA e MECA por um representante do cc8 produtor de biofilme forte foi observado para células planctônicas e sésseis. Os resultados do biofilme na microscopia e modelo *in vivo* confirmaram os resultados obtidos em placas de poliestireno. Foi observado que amostras fortemente produtoras de biofilme produziram menos proteases e que o DNA parece ter papel significativo para formação do biofilme.

**Conclusões.** Nossos dados sugerem um papel para FNBA, PBP2A, SARA, DNA e proteases na acumulação do biofilme de MRSA apresentando diferentes backgrounds genéticos. Adicionalmente, amostras CC8 e CC5 apresentaram maior capacidade de formar biofilme. Portanto, esta característica, associada ao fenótipo de multiresistência parecem refletir um melhor fitness para que estes patógenos sejam especializados em causar infecções nosocomiais.

### TLP-594. Formação de biofilme por *Salmonella enteritidis* em três superfícies de corte diferentes

Stéfani Thais Alves D.\*, Erika Carolina Romão B.\*,  
Bruna Fernanda Rossi\*, Mirella Rossitto Z.\*,  
Ivana Giovannetti C.\*, Vera Lúcia Mores R.\*

\*Departamento De Microbiologia E Imunologia, Instituto De Biociências, Universidade Estadual Paulista "Julio De Mesquita Filho" Botucatu - SP, Brasil.

**Introdução.** *Salmonella* é reconhecida pela sua capacidade de aderir, colonizar e formar biofilme em uma grande variedade de alimentos e

superfícies de contato. O biofilme confere proteção contra estresse ambiental (luz ultravioleta, dessecação), antimicrobianos, desinfetantes e ao sistema imune do hospedeiro. Esse estudo teve por objetivo avaliar a formação de biofilme por *Salmonella enteritidis*, em diferentes superfícies de corte (plástico, madeira e vidro) comumente utilizadas no processamento de alimentos.

**Materiais e métodos.** Foram utilizadas 10 cepas de *S. enteritidis* que, após crescimento em caldo luria bertani a 35°C/18 h, foram diluídas a 108 unidades formadoras de colônias (UFC), utilizando-se o mesmo caldo. A seguir, foram inoculadas, em triplicata, em poços de uma placa de 24 poços, contendo as fichas de plástico, madeira ou vidro e incubadas na temperatura de 35°C/96 h. As fichas foram transferidas para uma nova placa, lavadas com solução tampão (PBS, pH 7,4) e coradas com violeta cristal 1%. O corante foi removido e a placa, lavada novamente. A seguir, o biofilme foi ressuspenso em 300 µl de ácido acético glacial. Um volume de 200 µl foi transferido microplaca de 96 poços e sua densidade óptica, lida num leitor de ELISA (570 nm).

**Resultados.** Sete (70%) cepas foram capazes de expressar a matriz exopolissacarídica em, pelo menos, um dos materiais testados. Analisando cada material, observou-se que 6 cepas produziram biofilme na superfície de madeira, 4 cepas foram classificadas como produtoras no plástico e somente 1 na superfície de vidro.

**Conclusões.** Pode-se concluir que essas superfícies influenciaram na capacidade de adesão e de produção de biofilme, pelas bactérias, devendo ser também de fácil higienização e por isso, o vidro foi o melhor material. O uso da madeira é altamente não recomendado e proibido. Superfícies de corte de plástico são recomendadas, também devem ser evitadas.

### TLP-595. Prospecção de substâncias antimicrobianas em algas ocorrentes na costa do nordeste do Brasil

Rosa Helena Rebouças\*, Daniel Barroso De Alencar\*,  
Sivana Saker-Sampaio\*, Fátima Cristiane Teles De Carvalho\*,  
Daniel Rodrigues Dos Santos\*, Regine Helena S.  
Dos Fernandes Vieira\*, Oscarina Viana De Sousa\*

\*Universidade Federal Do Ceará Brasil.

**Introdução.** O aumento do número de estirpes bacterianas patogênicas resistentes aos medicamentos antimicrobianos existentes está impulsionando a busca por substâncias naturais extraídas de plantas. O estudo sobre o potencial antimicrobiano de extratos de algas vem sendo estudado como alternativa auxiliar no combate a esses patógenos. Objetivo geral. Detectar o potencial antimicrobiano de extratos de algas frente a estirpes bacterianas potencialmente patogênicas para humanos.

**Materiais e métodos.** Foram preparados 12 extratos a partir das algas *Dictyota dichotoma*, *Dictyota mertensii*, *Lobophora variegata*, *Padina gymnospora*, *Sargassum vulgare*, *Spatoglossum* sp. Extraídos com etanol e hexano respectivamente e 04 extratos a partir da alga *Palythoa* sp. Extraídos com etanol, água, acetato de metila e diclorometano respectivamente. Os extratos foram confrontados com cepas padrões de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Vibrio parahaemolyticus* ATCC 17802, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Streptococcus mutans* INCQS 00446. O antibiograma foi realizado pela técnica dos poços. Em cada poço foram inseridos 50 µl dos extratos com concentração de 1000 µg/100 µl e as placas foram incubadas a 35°C/24 h.

**Resultados.** Para os extratos etanólicos e hexânicos, respectivamente, observamos ação antimicrobiana para as algas *dictyota dichotoma* (*V. parahaemolyticus*; *S. aureus* e *S. mutans*), *Dictyota mertensii* (*E. coli* e *V. parahaemolyticus*; *S. aureus* e *V. parahaemolyticus*), *Lobophora variegata* (*S. aureus* e *V. parahaemolyticus*; *S. aureus* e *V. parahaemolyticus*), *Padina gymnospora* (*E. coli*, *P. aeruginosa* e *V. parahaemolyticus*), *Sargassum vulgare* (*V. parahaemolyticus*; *S. aureus*), *Spatoglossum* sp. (*V. parahaemolyticus*; *S. aureus* e *V. parahaemolyticus*) e *Palythoa* sp. (*E. coli*, *S. aureus*, *S. mutans* e *V. parahaemolyticus*). Os extratos à base de água, acetato de metila e diclorometano da alga *Palythoa* sp. Inibiram o crescimento de todos os microrganismos testados.

**Conclusões.** Nossos resultados demonstram a importância desses extratos algais como uma rica fonte de moléculas bioativas inibidoras de bactérias e com potencial para o desenvolvimento de novos fármacos.

### TLP-596. Virulence complexity of serotype 8 *Actinobacillus pleuropneumoniae* Brazilian clinical isolates

Ciro César Rossi\*, Monalessa Fábria P.\*, Josicelli Souza C.\*,  
Larissa Eler S.\*, Nathalia Martins Q.\*, Sebastião Martins F.\*,  
Cláudia De Melo D.\*, Marisa Vieira De Q.\*, Denise Ma\*

\*Universidade Federal De Viçosa Brasil.

**Introduction.** *Actinobacillus pleuropneumoniae* is the etiological agent of swine *Pleuropneumonia*, a disease associated with great global economical losses. *A. pleuropneumoniae* virulence is related to the composition of capsule polysaccharides, membrane and iron-acquisition proteins and secretion of exotoxins. Biofilm formation can aid to increase virulence, since this feature allows the permanency of the microorganism by protecting it from the host defense mechanisms and facilitate horizontal gene transfer, contributing to antimicrobial resistance spreading. This work aimed to verify the biofilm-forming capacity of 21 *A. pleuropneumoniae* serotype 8 clinical isolates obtained from pigs from 2003 to 2011 and correlate this data to presence of resistance genes and virulence in the alternative infection model *Galleria mellonella*.

**Materials and methods.** The isolates were analyzed for biofilm-forming assay by the crystal violet method. The presence of genes for resistance to 6 families of antimicrobial agents were evaluated by pcr. *G. mellonella* larvae were infected with crescent doses of *A. pleuropneumoniae* suspensions ( $10^4$ - $10^7$  CFU) for establishing the lethal dose of each isolate. The correlation coefficient between the virulence factors studied was analyzed with the software R3.0.2.

**Results.** Among the 21 isolates, 24% present strong biofilm-forming capacity, while the remaining presented moderate capacity. Resistance genes distribution was varied, with 33% of the isolates presenting genes to  $\beta$ -lactam antibiotics, 81% to amphenicol, 95% to aminoglycosides, 14% to quinolone, 76% to sulfonamides and 100% to tetracycline. In the *G. mellonella* assay, 14% of the isolates presented lethal doses in the order of  $10^4$  CFU, 52% of  $10^5$  and 33% of  $10^6$ - $10^7$ . The statistical analysis showed that the aspects studied are not significantly correlated with one another ( $p>0.05$ ).

**Conclusions.** *Actinobacillus pleuropneumoniae* virulence is complex and diverse even within a single serotype. Financial support: fapemig (APQ 00232-13), CNPQ and capes.

### TLP-597. A biosurfactant produced by *Lactobacillus jensenii* P6A ACTS in synergy with benzazoles compounds to enhance their efficiency against *Escherichia coli* e *Candida albicans*

Irany Mesquita Coelho Moraes M.\*, Débora P. Araújo A.\*, Ana Luiza Cordeiro C.\*, Angelo De Fátima F.\*, Vera Lúcia Dos Santo S.\*

\*Universidade Federal De Minas Gerais Brasil.

**Introduction.** Biosurfactants produced by lactic-acid bacteria are coming up as emerging class of biomedical compound. Several studies also have demonstrated that the combination of these biomolecules to antibiotics and biocides can prevent biofilm formation and be an alternative in the treatment of infections by microorganisms resistant to multiple drugs. Thus, this study aimed to evaluate the synergistic action of biosurfactant from *L. jensenii* P6A and five benzazoles compounds (I06, I16, I17, T04, T17) as antimicrobial activity against *Candida albicans* and *Escherichia coli*.

**Materiales y métodos.** The checkerboard method was used to assess synergism between benzazoles and biosurfactant against *C. albicans* and *E. coli*. In the assays, mic concentrations of each compound (mic ranged from 62 to 250 µg.mL<sup>-1</sup> for benzazoles and 16 µg.mL<sup>-1</sup> for *L. jensenii* p6a biosurfactant) were used. The time-kill curves were carried out with the most active combinations.

**Resultados.** For the *C. albicans*, there was synergism in the associations between the biosurfactant with i06 benzimidazole and T17 benzothiazole. When tested against *E. coli*, there was synergism between I06, I16, I17 benzimidazoles and T17 benzothiazole associated with biosurfactant, except for T16 benzothiazole. To evaluate the kinetics of action of antimicrobial agents alone and in combination on *E. coli* and *C. albicans*, cell viability assays were performed by evaluating each compound separately or associated the biosurfactant. For *C. albicans*, biosurfactants reached a maximum reduction at 24 h, but with little variation for up to



48 h. The benzazoles reach the maximum reduction in 48 h, reaching 95.5% reduction in metabolic activity. In combination, the compounds showed higher percentage reduction in metabolic activity.

**Conclusiones.** The combination of sub inhibitory concentrations of bio-surfactants and benzazoles presented synergism, concentration-dependent. This led to the speculation that biosurfactants being amphiphilic in nature can span through the structurally alike cell membrane and facilitate the entry of drug molecules.

### TLP-598. Detecção da resistência induzível à clindamicina em isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* provenientes de um hospital universitário de Recife, Pernambuco, Brasil

Maria Amélia Vieira M.\*, Jussýegles Niedja Da Paz P.\*,  
Marcelle Aquino R.\*, Lílian Rodrigues A.\*,  
Jailton Lobo Da Costa L.\*, Ana Catarina De Souza L.\*

\*Departamento De Medicina Tropical,  
Universidade Federal De Pernambuco Brasil.

**Introdução.** Em *Staphylococcus* spp., há um mecanismo de resistência aos macrolídeos que também atinge as seguintes classes de antimicrobianos: lincosamidas e estreptograminas B, resultando na resistência MLSB, cuja expressão pode ser constitutiva (MLSBC) ou induzível (MLSBI) e é codificada principalmente pelos genes ERMA e ERMC. Através dos testes de susceptibilidade empregados na rotina laboratorial, a resistência mlsbc é identificada com facilidade, porém a resistência mlsbi não é. O uso da clindamicina, uma lincosamida, nos casos de infecção por isolados com resistência MLSBI pode implicar em falha na terapia. O objetivo deste estudo foi determinar a frequência dos fenótipos MLSBC e mlsbi em isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* sensíveis e resistentes à meticilina/oxacilina (MSSA e MRSA, respectivamente) provenientes de um Hospital Universitário de Recife, Pernambuco, Brasil, durante o ano de 2012.

**Materiais e métodos.** A metodologia foi executada conforme os padrões estabelecidos pelo clinical and laboratory standards institute (2012). Através da técnica de disco-difusão em ágar Mueller-Hinton, foi determinada a susceptibilidade aos antimicrobianos eritromicina (ERY), clindamicina (CLI), oxacilina (OXA) e cefoxitina (CX) de 59 isolados. Em seguida, o screening de oxacilina foi efetuado com os isolados resistentes à oxacilina e/ou cefoxitina. Para a detecção do fenótipo mlsbi, foi realizado o teste D.

**Resultados.** Dos 59 isolados analisados, 37 (62,7%) foram classificados como MSSA e 22 (37,3%) como MRSA. O fenótipo MLSBC (ERY-resistente, CLI-resistente) foi identificado em 4 (10,8%) dos MSSA e em 15 (68,2%) dos MRSA. O fenótipo MLSBI (ery-resistente, cli-sensível/intermediário, teste D positivo) foi detectado em 4 (10,8%) dos MSSA e em 1 (4,5%) dos MRSA.

**Conclusões.** Apesar do fenótipo MLSBI ter sido menos frequente que o fenótipo MLSBC, a execução do teste D é útil para detecção da resistência induzível à clindamicina e dessa forma, pode servir de auxílio nas condutas terapêuticas diante das infecções estafilocócicas.

### TLP-599. Caracterización funcional de la proteína ESCK en la biogénesis del sistema de secreción tipo III de *Escherichia coli* enteropatógena

Jose Eduardo Soto G.\*, Karen Mojica\*, Miguel Diaz G.\*,  
Norma Espinosa\*, Bertha Gonzalez P.\*

\*Universidad Nacional Autonoma De Mexico, Mexico.

**Introducción.** *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) es uno de los principales agentes etiológicos de diarrea infantil en países en vías de desarrollo. Con el fin de colonizar el intestino, EPEC utiliza un sistema de secreción tipo III (SST3) para translocar proteínas de virulencia directamente al citoplasma de los enterocitos. El SST3 se encuentra codificado en una isla de patogenicidad denominada lee (locus de eliminación del enterocito). Mientras que la mayoría de los genes codificados en el LEE tienen una función asignada, hay marcos de lectura abierta que codifican para proteínas de función desconocida. Tal es el caso del gen ESCK cuyo papel funcional en el ensamblado y/o funcionamiento del SST3 de EPEC no ha sido elucidado. Objetivo general. Dilucidar el rol funcional de la proteína codificada por el gen ESCK de la isla lee de EPEC en la biogénesis y funcionamiento del SST3.

**Materiales y métodos.** Se generó una mutante nula de EPEC en el gen ESCK para evaluar el fenotipo de secreción de esta cepa. Mediante el sistema de doble híbrido en levadura se realizó una búsqueda extensa de

posibles interacciones proteína-proteína de ESCK con otros componentes del SST3 de EPEC. La interacción proteína-proteína encontrada se corroboró con ensayos de co-purificación. Se generaron versiones mutantes de la proteína ESCK mediante mutagénesis sitio dirigida y se realizó un fraccionamiento celular para determinar la sub-localización celular de ESCK.

**Resultados.** Se detectaron interacciones proteína-proteína entre ESCK y otros componentes estructurales del SST3. Se identificaron aminoácidos esenciales para la interacción y se encontró que estas versiones de esck no son capaces de restaurar la secreción de la mutante nula  $\Delta$ ESCK. Se determinó también que ESCK es una proteína asociada a membrana.

**Conclusiones.** ESCK es un componente estructural asociado a membrana, crítico para un SST3 eficiente y que interacciona con componentes citoplásmicos del inyectisoma de EPEC.

### TLP-600. Adesão e invasão em células HEP-2 por *Staphylococcus aureus*, isolados de leite de vacas com mastite bovina

Ivana Giovannetti C.\*, Mirella Rossitto Z.\*, João Pessoa Araújo J.\*,  
Josias Rodrigues\*, Ary Fernandes J.\*, Vera Lucia Mores R.\*

\*Universidade Estadual Paulista "Julio De  
Mesquita Filho" - UNESP Botucatu Brasil.

**Introdução.** A mastite bovina é uma inflamação das glândulas mamárias de vacas, caracterizada por mudanças físico-químicas e bacteriológicas no leite e patológicas nos tetos. *Staphylococcus aureus* está entre as principais espécies causadoras da doença, por serem capazes de aderir e invadir células hospedeiras. O uso de células HEP-2 (linhagens tumorais derivadas de carcinoma laríngeo humano) pode ser empregado para avaliar a capacidade de adesão e invasão de bactérias em células epiteliais. O objetivo geral é avaliar a capacidade de adesão e invasão de cepas de *S. aureus* provenientes de mastite em células HEP-2.

**Materiais e métodos.** Foram preparadas placas de 24 poços contendo cultura HEP-2 em meio mem com SFB. As placas foram lavadas 5 vezes com PBS suplementado (PBS+) e, em seguida, 1 mL de cada cultura foi inoculado e as placas incubadas a 35°C/3 h (CO<sub>2</sub> 5%). Após, foram realizadas 4 lavagens com PBS+. Para avaliar a adesão, 200 µL de tripsina foram colocados nos poços, com incubação a 35°C/15 min. A tripsinização foi interrompida com adição de 1 mL de mem por poço. Para a invasão, adicionou-se 1 mL de gentamicina (50 µg/mL) por poço e as placas foram incubadas a 35°C/2 h (CO<sub>2</sub> 5%). A seguir, as placas foram lavadas novamente com PBS+ (4x) e 500 µL de triton x-100 (0,1%) foram adicionados aos poços que, então, foram incubados a 37°C/10 min. Foram feitas diluições seriadas do conteúdo dos poços dois dos testes e 10 µL de cada diluição foi plaqueado em ágar TSA. Após incubação a 35°C/24 h, as colônias foram contadas.

**Resultados.** Das 12 cepas testadas, 7 (58,33%) aderiram à superfície das células hep-2 e 3 (20%) foram capazes de aderir e invadir.

**Conclusões.** Cepas provenientes de leite de vacas com mastite são capazes de aderir e invadir células epiteliais, processos essenciais para o estabelecimento e persistência da doença.

### TLP-601. Atividade antibacteriana de extratos de macroalgas marinhas frente a bactérias multiresistentes isoladas de ambientes de carcinicultura

Raquel Cavalcante S.\*, Fátima Cristiane Teles de C.\*,  
Giselle Cristina Silva\*, Regine Helena S. Dos F. Vieira\*

\*Instituto de Ciências do Mar-Labomar Brasil.

**Introdução.** A busca por compostos bioativos como alternativa ao uso de antimicrobianos sintéticos tem sido frequente nos últimos anos. Algumas infecções podem acometer a saúde no ambiente de carcinicultura comprometendo a produção dos camarões, e causando prejuízos aos aqüicultores. O trabalho objetivou pesquisar a atividade antimicrobiana de extratos de macroalgas das classes *Chlorophyta*, *Phaeophyta* e *Rhodophyta*, frente a cepas bacterianas isoladas de ambientes de carcinicultura e, multiresistentes, através do antibiograma pelo método de difusão em disco e confirmação da atividade pela técnica de bioautografia direta.

**Materiais e métodos.** As algas *Ulva fasciata*, *Ulva lactuca*, *Caulerpa prolifera*, *Padina gymnospora*, *Lobophora variegata* e *Hypnea musciformes* foram coletadas nas praias: do Pacheco e Paracuru, CE-Brasil. Os extratos das algas foram preparados com hexano, acetona, etanol e metanol. Foram usadas nos testes antimicrobianos (CLSI, 2013) oito ce-

pas de *Vibrio* de diferentes especies. Três cepas de *V. parahaemolyticus*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* ATCCATCC funcionaram como controle. Os resultados positivos foram submetidos à cromatografia em camada delgada. A eficiência antibacteriana foi confirmada através de bioautografia (Homans & uchs, 1970).

**Resultados.** Houve atividade antibacteriana contra, pelo menos, uma das cepas bacterianas isoladas de ambientes de carcinicultura. O desempenho dos extratos das macroalgas frente às bactérias multirresistentes, pelo teste de difusão em disco, apresentaram os seguintes percentuais de inibição: *Caulerpa prolifera* 87,5 %, *Hypnea musciformes paracuru* 87,5%, *Lobophora variegata* 75,0%, *Padina gymnospora* 75,0 %, *Hypnea musciformes pacheco* 75 %, *Ulva lactuca* 62,5 % e *Ulva fasciata* 37,5 %.

**Conclusões.** Conclui-se que: os extratos metanóicos de *U. lactuca*, *C. prolifera*, *L. variegata* e *U. fasciata* e os acetônicos e etanólicos de *C. prolifera*, *P. gymnospora* e *L. variegata* apresentaram os melhores rendimentos e que 87,3% das algas testadas evidenciaram atividade antibacteriana.

### TLP-602. Determinación de genes de resistencia asociados a aminoglucósidos en aislamientos clínicos de *E. coli* y *Staphylococcus* sp. causantes de infección

Liliana Minoz\*, Jeannette Navarrete\*,  
Betsy Castro\*, Javier Escobar\*, Gladys Pinilla\*

\*Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca-REMA, Universidad El Bosque-Laboratorio De Genética Molecular Bacterina. Colombia.

**Introducción.** Los eventos evolutivos han permitido la adquisición de mecanismos de resistencia por medio de la transferencia horizontal de genes en bacterias Gram negativas (*E. coli*) y Gram positivas (*Staphylococcus* sp.), desarrollando mecanismos de evasión terapéutica. Uno de estos mecanismos es mediado por la fusión de dos o más genes que codifican a enzimas bifuncionales ocasionando resistencia a aminoglucósidos entre otras familias. Por lo tanto el objetivo fue determinar los genes AAC (6')-APH (2'') y AAC (6')-1B-CR en aislamientos clínicos de *E. coli* y *Staphylococcus* sp.

**Materiales y métodos.** Se realizó un estudio descriptivo en un hospital de tercer nivel de la ciudad de Bogotá-Colombia, donde se analizaron 28 aislamientos de *Staphylococcus* sp, los cuales correspondían a *S. epidermidis* 18 (64.8%); *S. aureus* 9 (32.1%); *S. haemolyticus* 1(3.6%), y 28 *E. coli* provenientes de aislamientos clínicos causantes de infección en pacientes adultos. A todos los aislamientos se les confirmo género y especie por la amplificación de los genes URED, NUC, y uida respectivamente.

**Resultados.** Se encontró la presencia del gen AAC (6')-APH (2'') en 96,4% en las cepas de *Staphylococcus* sp. y en el 85.7% en las cepas de *E. coli*, igualmente se identificó el gen AAC(6')-IB-CR, en el 50% de estos aislamientos, por el contrario en los aislamientos de *Staphylococcus* sp. no se encontró la presencia de este gen.

**Conclusiones.** La presencia de el gen AAC (6')-APH (2'') tanto en los *Staphylococcus* sp. y en *E. coli*, nos demuestra la gran capacidad de diseminación de este mecanismos de resistencia en diferentes especies bacterianas a esta opción terapéutica, este fue descrito inicialmente en bacterias Gram positivas. En cuanto a la ausencia del gen AAC(6')-IB-CR en *Staphylococcus* sp. posiblemente se debe a la ausencia de plataformas genéticas como el integrón clase I, a la cual este frecuentemente asociado.

### TLP-603. Characterization of genes involved in adhesive properties of atypical enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC)

Mariane Vedovatti Monfardini M.\*,  
Renata T. Souza\*, Isabel C. A. Scaletsky\*

\*Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina Brasil.

**Introduction.** Enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC) is defined by a characteristics "stacked-brick" aggregative adherence (AA) pattern to cultured cells. In typical EAEC strains, the AA phenotype requires aggregative adherence fimbriae (AAFS) encoded on a large virulence plasmid called PAA, which encodes most of the previously described EAEC factors including the AGGR regulon. In contrast, EAEC strains lack all genes of the aggr regulon. To define mechanisms contributing to adherence in aEAEC strains, we studied 32 EAEC AGGR-negative strains isolated from Quilombola children in a previously described study.

**Materials and methods.** The strains were tested for the presence of adhesin genes related to the AA phenotype by PCR. The strains

were mutagenized with the *ez::tntp* transposome according to the manufacturer's instructions.

**Results.** Genotypic characterization showed that all strains did not harbor the genes encoding AAFS (I, II, III, and IV). In addition, none of the strains were positive for AAF-independent mechanisms such as a plasmid-encoded outer membrane 58 (AP58), and the INCI1 plasmid-encoded type IV PILI. In order to identify a gene responsible for the AA phenotype, we performed transposon mutagenesis on selected two strains, q015 and q212, isolated from children with diarrhea. Among 2,000 transposon-inserted mutants screened, eight mutants that did not adhere to HEP-2 cells were isolated. All these mutants were also deficient in biofilm formation ability. The transposon-inserted locus of each mutant was cloned, and insertion flanking regions were sequenced. Transposon insertion sequences of three mutants revealed identity with filamentous hemagglutinin (98%), surface antigen (100%) and arginine decarboxylase (100%). Sequence analysis of the remaining 5 mutants is underway.

**Conclusions.** Characterization of additional mutants may reveal other genes responsible for the AA phenotype of AEECstrains.

### TLP-604. Perfiles de resistencias antimicrobiana en cepas de bacterias Gram negativas fermentadoras aisladas de aguas minerales emvasadas

Judith Araque\*, Gerardo Medina\*, Felix Andueza\*

\*Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de los Andes Venezuela.

**Introducción.** La presencia de bacterias resistentes a los antibióticos en diferentes ambientes, entre ellos el agua y los alimentos, representa un problema de salud pública no resuelto. El objetivo del trabajo fue conocer los patrones de resistencia antimicrobiana en las principales especies de bacterias Gram negativas fermentadoras aisladas de agua mineral emvasada comercializadas en Venezuela.

**Materiales y métodos.** Se analizaron 38 marcas de agua mineral emvasada. Las muestras consistieron de 5 unidades del producto, por cada marca estudiada. El aislamiento bacteriano se realizó por filtración en membrana, utilizando como medio de cultivo los agaros Cetrimide, Chapman-Lactosa-TTC y R2A, las cepas fueron identificadas siguiendo los esquemas de MacFadden (2003) y Barrow y Feltham (1993), complementando con las pruebas bioquímicas API (bNBomerieux). Para determinar el perfil de resistencia a los antibióticos, se utilizó el método de difusión en agar descrito por Zhou y col. (2005) y los resultados se interpretaron de acuerdo al CLSI (2013).

**Resultados.** Se estudiaron 97 cepas de bacterias Gram negativas fermentadoras aisladas de agua mineral emvasadas, correspondiente a los géneros *Aeromonas*, *Cedecea*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Leminorella*, *Plesiomonas*, *Proteus*, *Rahnella* y *Serratia*. Resultando 7 cepas sensibles a los antimicrobianos ensayados, 15 resistentes a un antibiótico, 19 resistentes a dos antibióticos y 56 fueron resistentes a más de dos antibióticos. Los perfiles de multiresistencia se observaron en las cepas de las especies *Cedecea* spp., *Aeromonas hydrophila*, *Citrobacter braakii*, *Citrobacter freundii*, *Edwardsiella tarda*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter sakazakii*, *Escherichia coli*, *Hafnia alvei*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus* spp. y *Rahnella aquatilis*.

**Conclusiones.** Los resultados obtenidos evidencian que el agua mineral emvasada es un reservorio importante de genes de resistencia a los antibióticos, lo cual es fundamental al considerar el papel de este producto en la diseminación de cepas resistentes y multiresistentes a los antimicrobianos.

### TLP-605. Resistencia antimicrobiana y caracterización genotípica de factores de virulencia en cepas de *Staphylococcus aureus* aislados desde mastitis bovina en Chile

Marcela Molina M.\*, Dacil Rivera\*, John Quiroga\*, Daniel Cartes\*,  
Lissette Lapierre\*, Betty San Martín\*, Leonardo Sáenz\*

\*Universidad de Chile, Chile.

**Introducción.** *Staphylococcus aureus* es uno de los principales patógenos productores de infecciones intramamarias en bovinos, sig-

nificando importantes pérdidas económicas para los productores de leche. Las propiedades patogénicas de *S. aureus* se deben principalmente a sus factores de virulencia y su control se realiza a través de diferentes medidas de manejo, siendo la principal el uso de antibióticos. Es por esto, que el objetivo de nuestro trabajo fue analizar la resistencia a diferentes antimicrobianos utilizados y caracterizar algunos de los factores de virulencia que posee *S. aureus*.

**Materiales y métodos.** Se aislaron 29 cepas de *S. aureus* desde leche de vacas con mastitis clínica y subclínica, en planteles ubicados en la zona centro y sur de Chile. Se les realizó prueba de susceptibilidad por Kirby Bauer a: Penicilina, Amoxicilina/Ácido Clavulánico, Tetraciclina, Eritromicina, Enrofloxacin, Ceftiofur, Sulfametoxazol/Trimetoprim y Gentamicina. Además, mediante la técnica de PCR se detectó la presencia de genes que codifican los factores de virulencia *HLA* (hemolisina), *CLFA* (cumpling factor), *CAP5* y *CAP8* (polisacárido capsular), *spa* (proteína A), *ICAD* (intercellular adhesion protein) y *AGR-1* (accessory gene regulator).

**Resultados.** Casi todas las cepas fueron susceptibles a los antibióticos utilizados, solo una cepa, presentó resistencia a Eritromicina. los factores de virulencia detectados fueron *HLA* en un 65,5%, *CLFA* un 86,2%, *CAP5* y *CAP8* en un 72,4 y 10,2% respectivamente, *SPA* un 86,2%, *icad* un 79,3% y *AGR-1* un 75,9%.

**Conclusiones.** Las cepas analizadas presentan un alto porcentaje de factores de virulencia y no presentan resistencia a los antibióticos, indicando que estas cepas pueden producir cuadros severos de mastitis, los cuales podrían producir daño irreparable en la glándula mamaria llevando a importantes a pérdidas económicas para este sector productivo.

### TLP-606. Identificación de genes asociados a virulencia en cepas de *Salmonella enterica* serovar *enteritidis* aisladas desde aves comerciales, aves silvestres y humanos en Chile

Marcela Fresno\*, Natalia Paredes\*, Catalina Pardo\*, Patricio Retamal\*

\*Universidad de Chile, Chile.

**Introducción.** *Salmonella enteritidis* es uno de los agentes causales de gastroenteritis humanas más frecuentes en Chile y el mundo. En las granjas avícolas Chilenas se considera una infección endémica. La vigilancia entre aves y animales silvestres ha aumentado, debido a la aparición de brotes de enfermedad, pudiendo ocurrir transmisiones entre aves y animales silvestres, aves comerciales y humanos. Se ha planteado la posibilidad de detectar una asociación entre los perfiles de genes asociados a virulencia (virulotipos) con el hospedero o la zona geográfica, encontrando variabilidad en la presencia de virulotipos asociada a diferentes cepas de *Salmonella*. El objetivo fue identificar diferencias en la presencia de genes de virulencia entre 90 cepas aisladas desde humanos, aves silvestres y aves comerciales.

**Materiales y métodos.** Se evaluó la distribución de los genes en relación al hospedero y a la procedencia de las cepas. Los genes evaluados fueron *INVA*, *GIPA*, *SIRA*, *SPVC*, *PROT6E*, *PEFA*, *SEN1417*, *TRHH*, *PAGK* y *STY3676*. Se realizó un PCR convencional para cada gen, y los productos fueron visualizados mediante electroforesis en agarosa 1,5%, con tinción Gelred®. los análisis estadísticos se desarrollaron empleando el programa Infostat®V2010 y se confeccionó un árbol filogenético utilizando el programa Treecon®.

**Resultados.** Existen diferencias significativas en la distribución de genes de virulencia entre hospederos. Las mayores diferencias se encontraron entre cepas de aves comerciales y aves silvestres, existiendo diferencias menores entre humanos y aves comerciales. En cuanto al árbol filogenético, las cepas de aves comerciales y humanos fueron indistinguibles. Estas cepas compartieron uno de los virulotipos, presentándose en gran proporción en ambos hospederos. Las cepas de gaviotas poseen menos evidencias genéticas de transmisión a humanos que las cepas de aves comerciales.

**Conclusiones.** Hay variabilidad en los virulotipos encontrados en las cepas del estudio, sugiriéndose transmisión entre cepas de aves comerciales y humanos.

### TLP-607. Detecção do gene *mecA*, tipagem do cassete cromossômico estafilocócico *mec* (SCCmec) e perfil de suscetibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus saprophyticus* isolados de infecção urinária

Katheryne Benini M.\*, Adriano Martison F.\*, Mariana Fávero B.\*, Alessandro Lia M.\*, Maria de Lourdes R.S. da Cunha\*

\*Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Brasil.

**Introdução.** *Staphylococcus saprophyticus* é o segundo agente etiológico mais encontrado em casos de infecção do trato urinário (ITU), acometendo principalmente mulheres jovens e sexualmente ativas. Estudos de *S. saprophyticus* carreadores do gene *MECA*, e do perfil de suscetibilidade antimicrobiana ainda são escassos. Esse estudo objetivou detectar a presença do gene *MECA*, a caracterização do tipo de SCCmec nas amostras positivas e avaliar o perfil de suscetibilidade antimicrobiana em amostras de *S. saprophyticus* isolados de pacientes com ITU.

**Materiais e métodos.** As amostras foram avaliadas genotipicamente para identificação da espécie através da técnica de ITS-PCR (internal transcribed spacer- PCR). Após a identificação como pertencentes à espécie *S. saprophyticus*, as amostras foram submetidas a técnica de PCR para detecção do gene *MECA* de resistência à oxacilina e tipagem do SCCmec. Foi avaliado o perfil de suscetibilidade antimicrobiana das amostras frente à vancomicina, sulfametoxazol/trimetoprim, ciprofloxacina e norfloxacina pela técnica de microdiluição.

**Resultados.** Foram identificadas 147 amostras de *S. saprophyticus*, sendo sete (4,8%) amostras positivas para o gene *MECA*. Dessas amostras positivas, quatro apresentaram o SCCmec tipo IV e três não puderam ser tipadas pelo protocolo utilizado. Quanto à suscetibilidade antimicrobiana, o maior percentual de resistência encontrado 17,0% (25 amostras) foi frente ao sulfametoxazol/trimetoprim, uma amostra apresentou sensibilidade intermediária à norfloxacina e todas as amostras foram sensíveis à vancomicina e à ciprofloxacina.

**Conclusões.** Poucas amostras de *S. saprophyticus* do presente estudo apresentaram resistência a metilina pela presença do gene *MECA*, além disso, apresentaram alta sensibilidade às drogas testadas.

### TLP-608. Combat to pathogenic bacteria adhesion: search for new active composts from microorganisms associated carnivorous plants

Nedy Ramirez L., Marcelo Jung E.\*, Alexandre José Macedo\*

\*Universidade Federal do Rio Grande do Sul Brasil.

**Introduction.** The biofilm way of life raises the virulence of the pathogenic microorganism, conferring protection against the host defenses mechanism and the action of the antimicrobials. In the context, it is necessary the search for new molecules able to disrupt matured biofilms. In this context, microorganisms that live in association with carnivorous plants possess a high potential to produce enzymes, which assist at the plants to dissolve captured insects. Prospections of these metabolites constitute the aim of this study in order to promote degradation of the exopolysaccharides (EPS) matrix. The objective is contribute for the technological development generating new products with the potential to diminish the pathogenic biofilm formation at medical devices using molecules isolated from bacteria associated with carnivorous plants.

**Materials and methods.** Up to now 110 bacteria were isolated from carnivorous plants *Drosera* sp. From the seaside region of Nova Tramandaí (RS- Brazil) and cultivated at milk agar at room temperature to evaluate the proteolysis activity. Positive samples on this assay were cultivated at R2A medium for 72 h and the supernatants were centrifuged for the biofilm eradication assay against the *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984, using the violet crystal assay at 96 well microplate.

**Results.** From the 36 selected bacteria, was verified that 7 isolated has biofilm eradication activity against *S. epidermidis*.

**Conclusions.** Until the moment the results proves the potential to find potential compounds able to eradicate infectious biofilm, which may take to the development of new products that which act at the treatment of infectious diseases and the dissemination of chronic diseases.

### TLP-609. Detecção fenotípica de metalo-beta-lactamas em cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas em ambiente hospitalar e comunitário

Tathiéle Zanetti\*, Jéssica Z. A. Mandelli\*,  
Karla J. Perez\*, Alexandre Ehrhardt\*

\*Universidade Luterana do Brasil – ULBRA, Campus Carazinho/RS e Faculdade Especializada na Área da Saúde do Rio Grande do Sul - FASURGS-PASSO FUNDO/RS Brasil.

**Introdução.** As infecções nosocomiais e comunitárias podem ser causadas por vários agentes, incluindo *P. aeruginosa*, caracterizada como uma das espécies bacterianas não fermentadoras de glicose e que está entre as mais patogênicas, devido à capacidade de expressar diversos fatores de virulência. Entre estes, destaca-se a produção de metalo-beta-lactamas (MBL), importantes devido ao seu largo espectro de ação frente a todas as classes de beta-lactâmicos e inibidores de beta-lactamases, restringindo assim, as opções terapêuticas. O estudo objetivou identificar fenotipicamente linhagens de *P. aeruginosa* que apresentavam perfil de resistência aos beta-lactâmicos, quanto à produção de MBL.

**Materiais e métodos.** Foram avaliadas 44 cepas, identificadas por oxidação-fermentação e teste da oxidase (Robac®), apresentando perfil de resistência a beta-lactâmicos, previamente identificadas pelo método de Kirby-Bauer. Foi realizado o teste de disco aproximação para detecção fenotípica de MBL de acordo com Arakawa *et al.* (2000) e com Lee *et al.* (2001). A observação de uma distorção e amplificação do halo de inibição onde houve a difusão do agente quelante indicou teste positivo para MBL. Para controle negativo utilizou-se *P. aeruginosa* ATCC 27853. **Resultados.** Das 44 cepas utilizadas no estudo, 9 (20,5%) eram amostras comunitárias e 35 (79,5%) amostras nosocomiais. No total, 12 (27,3%) foram produtoras de MBL ( $p < 0,05$ ). Comparando o agente quelante utilizado, todos foram positivos quando testados frente ao EDTA (ácido etilendiaminotetracético), porém negativos quanto utilizado o MPA (ácido 2-mercaptopropiónico).

**Conclusões.** Estes achados causam preocupação, pois a disseminação de cepas produtoras de MBL pode alcançar grandes proporções, gerando impactos clínicos e limitação terapêutica. Outro ponto é a avaliação criteriosa do teste de susceptibilidade aos antimicrobianos uma vez que micro-organismos produtores de MBL podem apresentar-se sensíveis, *in vitro*, a antimicrobianos beta-lactâmicos, os quais *in vivo* levariam o paciente a fracassos terapêuticos.

### TLP-610. Perfis de proteínas de membrana externa de cepas de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de KPC aisladas en hospitales Chilenos

Alejandra Vera L.\*, Mariana Domínguez Y.\*, Helia Bello T.\*,  
Pamela Araya R.\*, Soledad Prat M.\*, Jorge Fernández O.\*,  
Juan Hormazábal O.\*, Gerardo González R.\*

\*Universidad de Concepción, Chile.

**Introducción.** El uso masivo de carbapenémicos ha facilitado la selección de enterobacterias con susceptibilidad disminuida o resistencia a estos compuestos. Los principales mecanismos de resistencia involucran producción de carbapenemasas y permeabilidad reducida por pérdida de porinas, asociada a producción de BLEE o hiperproducción de AmpC. Se ha informado diferentes niveles de CMI de carbapenémicos en aislados productores de KPC debido a mecanismos adicionales, entre los que se describe la diferente expresión de genes de porinas. Objetivo: determinar el perfil de proteínas de membrana externa (OMP) de cepas de *K. pneumoniae* productoras de KPC aisladas en hospitales Chilenos.

**Materiales y métodos.** Se incluyó 18 cepas de *K. pneumoniae* productoras de KPC aisladas en 8 hospitales, en 2012 y 2013, con diferente cmi de carbapenémicos. Una cepa sensible a carbapenémicos se utilizó como control. Mediante electroforesis en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) se determinó el perfil de OMP y por PCR los genes OMPK35 y OMPK36.

**Resultados.** Las cepas presentaron diferencias en el perfil de OMP, con respecto a intensidad de las bandas, en comparación con la cepa control. Se encontró OMPK35 y OMPK36 en 17 y 18 cepas, respectivamente. Por SDS-page se reveló presencia de OMPK35 en todos los aislados, pero con diferencias en intensidad y migración de la proteína; en cambio, no se encontró OMPK36. En cepas con mayor nivel de resistencia se observó menor intensidad de la banda correspondiente a OMPK35.

**Conclusiones.** Hay diferencias en el perfil de OMP de cepas de *K. pneumoniae* BLAKPC positivas y OMPK35 estaría contribuyendo a la resistencia a carbapenémicos; sin embargo, estos estudios preliminares no permiten establecer una relación directa con el nivel de CMI exhibido por los aislados. Financiamiento: proyecto FONDECYT N° 1130838 y beca CONICYT N° 2114122.

### TLP-611. Genetic diversity of invasive and nasopharyngeal carriage *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A before and after introduction of 10-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV10) in Brazil

Ana Paula Cassiolato\*, Samanta Cristine Grassi A.\*,  
Maria Luiza Leopoldo e Silva G.\*, Lincoln Spinazola do P.\*,  
Sergio Bokermann\*, Angela Pires B.\*, Maria Cristina de Cunto B.\*

\*Adolfo Lutz Institute Brasil.

**Introdução.** In 2010, Brazil introduced PCV10 in the national immunization program for children up to 2 years-old. The aim of this study was investigate the molecular lineages/clones of invasive *Streptococcus pneumoniae* Serotype 19A (INSPN19A) isolated in the periods 2005-2009 (pre-PCV10), 2010 and 2011-2012 (post-PCV10) and nasopharyngeal carriage SPN19A (CARSPN19A) isolated in the city of São Paulo in 2010 and 2013.

**Materiais e métodos.** Isolates were characterized by multilocus sequence typing and antimicrobial susceptibility was performed by broth microdilution according to CLSI, 2012.

**Resultados.** Among the INSPN19A (n=121), 20 sequence types (ST) belonging to 9 clonal complexes (CC) and 14 new sts were identified. In pre-PCV10 period (n=55), ST1118 (25%), ST2878 (13%) and ST2880 (9%), belonging to CC62, were prevalent; 77% of CC62 isolates showed resistance to penicillin (PEN) and susceptibility to ceftriaxone (CTX). In 2010 (n=14), ST1118, ST2878 and ST320 represented 21% each one. In post-PCV10 period (n=52), st320 (46%), founder of CC320, predominated. Among ST320 isolates, resistance to pen and CTX was found in 92% and 50% respectively. In CARSPN19A (n=21), 6 STs belonging to 4 CC were identified. Only one new st was found. ST733 (38%) predominated in 2010 (n=13), while ST276 (37%) predominated in 2013 (n=8). ST320 was found in 25% of CARSPN19A in the post-PCV10 period. Resistance to pen was observed in one (8%) isolate (ST320) from 2010 and 3 (38%) isolates (ST320 and ST276) from 2013.

**Conclusões.** These results suggest a change in the lineages of SPN19A isolates comparing pre and post-PCV10 periods. After introduction of PCV10 in Brazil, an increase of CC320 has been observed among invasive isolates whereas a dissemination of ST276 was identified among CARSPN19A. These data highlight the need to continue surveillance for pneumococcal disease to monitor the possible effects of vaccination on *S. pneumoniae* serotype 19A population in Brazil.

### TLP-612. Aislamiento y caracterización de una nueva especie del género *Helicobacter*

Luis Collado\*, Ivo Muñoz\*, Leslie Valdés\*, Ronald Jara\*

\*Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias,  
Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

**Introducción.** El género *Helicobacter* esta conformado por 35 especies, siendo *Helicobacter pylori* la especie más estudiada por su rol patógeno en humanos. Sin embargo, recientemente otros *Helicobacter* han adquirido importancia como patógenos emergentes y potenciales agentes zoonóticos asociados con enfermedades intestinales y hepatobiliares. Durante un estudio sobre diversidad de campylobacterias en muestras fecales de aves silvestres, realizado en valdivia entre los años 2013 y 2014, se ha aislado un taxon desconocido perteneciente al género *Helicobacter*, el cual hemos caracterizado y propuesto bajo el nombre de *Helicobacter valdiviensis* (IJSEM 2014, 64, 1913-2919). Recientemente, además de esta nueva especie, hemos aislado otra cepa (WBE-107T) identificada inicialmente como una potencial Campylobacter. Este aislamiento mostró un patrón de PCR-RFLP desconocido hasta el momento, por lo que fue seleccionada para una caracterización taxonómica polifásica. El objetivo del presente estudio fue determinar la posición taxonómica de la cepa WBE-107T.

**Materiales y métodos.** Se realizó un estudio taxonómico polifásico utilizando técnicas fenotípicas (diferenciación morfológica, fisiológica y bioquímica) y genotípicas (métodos basados en PCR y análisis filogenético de secuencias de DNA).

**Resultados.** Mediante PCR específico de *Campylobacter*, *Arcobacter* y *Helicobacter* se pudo comprobar que pertenecían a este último género. Esto fue confirmado por análisis de los genes RNAR 16S, ATPa y GYRB, donde claramente esta cepa forma una nueva línea filogenética. Además, presenta características fenotípicas diferentes al resto de los *Helicobacters* mediante API Campy (Biomérieux). La morfología, tamaño celular y presencia de flagelos fue analizada por microscopía electrónica de transmisión.

**Conclusiones.** Los resultados obtenidos, confirman que la cepa WBE-107T representa una nueva especie del género *Helicobacter*. El significado epidemiológico de este nuevo taxón se desconoce por lo que son necesarios estudios posteriores para definir sus reservorios naturales, su posible relevancia clínica y potencial zoonótico.

### TLP-613. *Staphylococcus* spp. multirresistentes aislados de superficies ambientales de unidades de atención básica de saúde do Brasil

Mayara Regina P.\*, Lara Stefânia Netto de Oliveira Leão-Vasconcelos\*, Érika Goulart Rodrigues\*, Alberto Herrero Faleiro\*, Thais Maitan Vieira\*, José Daniel Gonçalves Vieira\*, Iasmine Olinto de Almeida Leão\*

\*Universidade Federal de Goiás Brasil.

**Introdução.** Superfícies ambientais, equipamentos e artigos não críticos de estabelecimentos de saúde, são apontados como importantes reservatórios de bactérias multirresistentes. Porém, pouco se tem investigado sobre o perfil desses micro-organismos na ambiência da atenção básica. Objetivo: caracterizar o perfil fenotípico de *Staphylococcus* spp. Isolados de superfícies ambientais, equipamentos e artigos não críticos de salas de curativo da atenção básica de um município Brasileiro.

**Materiais e métodos.** Trata-se de um estudo epidemiológico do tipo analítico, realizado em cinco salas de curativos da atenção básica de saúde. Coletou-se swabs umedecidos em solução salina e friccionados, em pontos mais tocados de superfícies ambientais, equipamentos e artigos das salas de curativos, após o processamento de limpeza e desinfecção. Os espécimes foram cultivados em meios de cultura seletivos e os isolados caracterizados por meio de técnica padronizada.

**Resultados.** Das 61 amostras analisadas, 13 (21,3%) apresentaram cultura positiva para *Staphylococcus* spp., dessas, 10 (76,9%) *Staphylococcus* coagulase-negativos (cons) e três (23,1%) *S. aureus*. Quanto ao perfil de resistência, (84,1%), eram resistentes à penicilina, (61,5%) eritromicina, (30,8%) à cefoxitina e (40,0%) dos cons à metilicina.

**Conclusiones.** O perfil fenotípico dos *Staphylococcus* isolados de superfícies ambientais, equipamentos e artigos não críticos de salas de curativo da atenção básica demonstrou importantes fenótipos de resistência aos antimicrobianos, inclusive à metilicina. Considerando que o tempo de viabilidade dessas bactérias na ambiência de saúde, é longo, recomenda-se reavaliar as estratégias adotadas no processamento desses artefatos, aliada à políticas de capacitação dos trabalhadores em conformidade com as diretrizes de segurança.

### TLP-614. Detecção do gene da adesina UAFA e do operon ICA em *Staphylococcus saprophyticus* isolados de infecção urinária

Katheryne Benini Martins\*, Adriano Martison F.\*, Alessandro Lia Mondelli\*, Maria de Lourdes R.S. da Cunha\*

\*Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho Brasil.

**Introdução.** Para que infecção do trato urinário (ITU) possa se estabelecer, as bactérias precisam inicialmente se aderir na superfície das células epiteliais do trato urinário. Em *Staphylococcus saprophyticus*, a principal proteína responsável pela adesão às células do hospedeiro é o fator de uro-adesão a (UAFA), uma proteína de superfície. Depois da adesão primária nas células epiteliais do trato urinário, ocorre a adesão intercelular com a proliferação e acúmulo de células, sendo esta adesão promovida por um polissacarídeo de adesão intercelular que é codificado pelo locus ica do operon ICAADBC. Este trabalho tem como objetivo detectar a presença do gene que codifica a adesina uafa e os genes do operon ICAADBC em amostras de *S. saprophyticus* isolados de infecção urinária.

**Materiais e métodos.** As amostras isoladas foram avaliadas genotípicamente para identificação da espécie através da técnica de ITS-PCR (internal transcribed spacer - PCR). As amostras identificadas como per-

tencentes à espécie *S. saprophyticus* foram submetidas à técnica de PCR para detecção do gene UAFA e dos genes do operon ica.

**Resultados.** Foram isolados 147 amostras de *S. saprophyticus*, sendo que 140(95,2%) apresentaram o gene uafa. Em 143 (97,3%) amostras foi encontrado pelo menos um gene do operon ica, sendo que 48 (32,6%) amostras foram positivas para o operon ICAADBC completo.

**Conclusiones.** A maioria dos *S. saprophyticus* apresentou o gene de adesão primária, o que é fundamental para o estabelecimento da itu, bem como os genes do operon ica. Esses resultados confirmam a importância desses fatores de virulência no estabelecimento da itu causada por *S. saprophyticus*. O biofilme pode contribuir na patogênese da itu, não somente na aderência, mas também dificultando a eliminação do patógeno, resultando em uma infecção persistente.

### TLP-615. Principais alterações fenotípicas da família Enterobacteriaceae: impacto na identificação bacteriana através de reações bioquímicas

Flavia Scigliano Dabbur\*, Emerson A. de Lima Silva\*, Daniel de Oliveira Miro\*, Carmelita Ferreira dos Santos\*, Priscila de Almeida Vicente\*

\*Universidade Federal do Cariri Brasil.

**Introdução.** Nos humanos, as enterobactérias causam alta morbidade, mortalidade, processos infecciosos, como no trato urinário e doenças como septicemia e meningite neonatal. Estas bactérias são notadas pela ativa aquisição de informações genéticas, sobretudo através de conjugação e transformação, que reflete na resistência aos antimicrobianos e no metabolismo bioquímico. Assim, este estudo foi regido para avaliar mudanças fenotípicas ocorridas, por quase duas décadas, na família Enterobacteriaceae, baseadas nas tabelas de reações bioquímicas, as quais são usadas para identificar o gênero/espécie que uma bactéria possa pertencer. Assim, uma mínima alteração no perfil bioquímico de uma bactéria pode causar erro de diagnóstico laboratorial.

**Materiais e métodos.** Foram usados dados do centers for disease control and prevention (CDC) e publicados na 3ª e 6ª ed. Do livro "Diagnóstico Microbiológico de Koneman", na forma de tabelas de reações bioquímicas. Os dados foram analisados para detectar as principais mudanças percentuais.

**Resultados.** As espécies *C. freundii* e *C. koseri* exibiram alterações importantes no perfil bioquímico, como mudanças nutricionais fermentativas, na motilidade, no citrato e na produção de H<sub>2</sub>S. *C. freundii* aumentou de 50% para 100% de positividade no uso de melibiose e reduziu no citrato de 95% para 78%. Arginina elevou-se em 2%(65%→67%). Rafinose aumentou 14%(30%→44%). A *C. koseri* (diversus) aumentou 15%(65%→80%) na arginina e 5% no malonato (90%→95%). Salicina reduziu de 20%→15%.

**Conclusiones.** Citrobacter foi o gênero com mais mudanças fenotípicas entre as enterobactérias. Reduções notadas em algumas propriedades bioquímicas podem decorrer da investigação de uma população mais ampla de uma espécie ou refletir a perda gradativa, entre as gerações, de um metabolismo não essencial. Este estudo denota o valor da atualização periódica dos algoritmos de identificação bacteriana, inclusive os automatizados, para diagnóstico laboratorial e inquérito epidemiológico mais precisos, orientando melhor a terapêutica.

### TLP-616. Toxicidade e atividade inibitória do ácido 3,4,5-triacetobenzóico na formação de biofilmes bacterianos

Plínio Nunes\*, Diego Silva\*, Filipe Evangelista\*, Randys Caldeira\*, João Honorato\*, Antônio Menezes\*

\*Universidade Estadual de Goiás Brasil.

**Introdução.** A derivação constituiu-se numa interessante estratégia para o aumento da eficácia e diminuição da toxicidade de compostos químicos com propriedades medicinais. Este trabalho objetiva avaliar a toxicidade e a atividade inibitória da formação de biofilme do ácido 3,4,5-triacetobenzóico (3,4,5-tab), derivado formado a partir da esterificação do ácido gálico.

**Materiais e métodos.** A toxicidade foi determinada pelo ensaio de letalidade de artemia salina com cálculo da DL50 e a atividade inibitória da formação de biofilme de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Burkholderia cepacia* ATCC 17759, *Escherichia coli* gram ATCC 25312, *Escherichia coli* gram ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 e *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 foi

estudada pela técnica da resazurina para a quantificação da atividade metabólica das bactérias associadas ao biofilme na presença da concentração subinibitória (1000 µg/mL) do composto em relação ao controle. **Resultados.** O ácido 3,4,5-tab apresentou a DL50 de 481,69 µg/mL, enquanto que o composto original foi mais tóxico com DL50 de 222,60 µg/mL. O derivado reduziu o metabolismo das células associadas a biofilmes em torno de 90% para *S. epidermidis* ATCC 1228, *S. aureus* ATCC 6538 e *B. cepacia* ATCC 17759 e cerca de 60% para *P. aeruginosa* ATCC 9027, *E. coli* ATCC 25312, *E. coli* ATCC 8739 e *K. rhizophila* ATCC 9341. **Conclusões.** Compostos com DL50 superiores a 1000 µg/mL são considerando como atóxicos. O ácido 3,4,5-tab apresentou uma toxicidade moderada e uma significativa eficácia contra a formação de biofilme, ressaltando sua potencialidade no controle de micro-organismos.

### TLP-617. Pesquisa de integrons e cassetes gênicos em amostras de *Escherichiacoli* isoladas de espécimes fecais de crianças com e sem diarreia

Patrícia Oliveira\*, Andréa Nascimento\*, Carolina Silva\*, Deborah Freitas\*, Luiz Farias\*, Paula Magalhães\*

\*Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.

**Introdução.** *Escherichia coli* é um organismo de grande relevância clínica. Dois grandes grupos são diferenciados, um constituído por amostras que fazem parte da microbiota intestinal indígena do ser humano e apresentam baixo potencial de virulência e outro que inclui amostras não pertencentes à nossa microbiota, considerados patógenos para o homem. A resistência a drogas antimicrobianas é uma propriedade cada vez mais disseminada entre os microrganismos, que desperta grande preocupação. Os genes responsáveis pela característica apresentam grande mobilidade, sendo transferidos horizontalmente por meio de diversos processos de recombinação. A presença dos mesmos em estruturas denominadas integrons/cassetes contribui para a disseminação e expressão da característica. O objetivo deste estudo foi caracterizar amostras de *E. coli* isoladas de crianças com e sem diarreia, no que se refere a presença de integrons e cassetes gênicos.

**Materiais e métodos.** Foram incluídas no estudo 187 amostras de *E. coli*: 67 enterotoxigênicas (ETEC), 40 enteropatogênicas (EPEC) e 80 não diarreioigênicas. A pesquisa de integrons e cassetes gênicos foi realizada por PCR, conforme padronização prévia.

**Resultados.** Integrons classe 1, classe 2 e ambos os tipos foram detectados em 20,0%, 8,0% e 2,7% das amostras, respectivamente. As amostras de EPEC e ETEC apresentaram a maior (25,0%) e a menor (16,4%) frequência de integrons classe 1, respectivamente. Integrons classe 2 foram mais comumente observados em amostras não diarreioigênicas (8,8%). Entre as amostras positivas para integrons classe 1, 59,5% apresentaram cassete(s) gênico(s) e, entre as amostras que albergavam integrons classe 2, cassete(s) gênico(s) foram detectados em 86,7%.

**Conclusões.** Os resultados indicaram ausência de relação entre integrons e/ou cassetes gênicos e virulência. O próximo passo deste estudo é o sequenciamento dos amplicons correspondentes a cassetes gênicos, para avaliação da presença de marcadores de resistência a drogas antimicrobianas. Apoio financeiro: CNPQ, fapemig, capes e PRPQ/UFMG.

### TLP-618. Microbiota vaginal de vacas primíparas e múltiparas sem raça definida

Lucas Pereira Da Silva\*, Cicero Cerqueira Cavalcanti Neto\*, Tania Marta Carvalho Dos Santos\*, Yamina Coentro Montaldo\*

\*Universidade Federla de Alagoas Brasil.

**Introdução.** A vagina é suscetível ao estresse, a antibióticos e a condições adversas, como o uso contínuo de pessários vaginais para sincronização de cio. As causas mais importantes da baixa eficiência reprodutiva em vacas são as infecções do trato reprodutivo causadas por bactérias, tendo como consequência perdas econômicas com o descarte de matrizes e redução do número nascimento de crias. O objetivo dessa pesquisa foi isolar, quantificar e caracterizar os componentes da microbiota da vagina de vacas múltiparas e nulíparas, sem raça definida (SRD), visando à orientação adequada do manejo sanitário e reprodutivo.

**Materiais e métodos.** O estudo foi realizado em duas propriedades rurais, no estado de alagoas, foram realizadas coletas em 20 animais sadios, sendo 10 nulíparas e 10 mutíparas. Foi realizado o isolamento

bacteriano em ágar sangue e ágar macconkey, e em chromagar *Candida* sendo os microrganismos identificados de acordo com características morfológicas, tintoriais e bioquímicas. Os microrganismos isolados foram submetidas ao teste de difusão em disco para determinar o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos: amicacina, ampicilina+sulbactram, bacitracina, cefalexina, cefalotina, cefoxitina enrofloxacin, florfenicol, gentamicina, neomicina, norfloxacin e tetraciclina.

**Resultados.** Foram obtidos 24 isolados, sendo constatada uma maior frequência de *Staphylococcus* spp. (29,16%) seguido de *Candida* spp. (20,83) sendo verificado também enterobacter e *Escherichia coli*. Os isolados bacterianos obtidos neste estudo são sensíveis à maioria dos grupos de drogas antimicrobianas testadas.

**Conclusões.** Verificou-se a presença de microrganismos oportunistas de potencial patogênico, no entanto, foram sensíveis à maioria dos grupos de drogas antimicrobianas testadas.

### TLP-619. Actividad *in vitro* de la tigeiciclina frente a bacterias Gram negativas multirresistentes

Antonio Andrés Quesada S. \*, Soledad Sánchez M. \*, Wilber Romero F. \*, Marta Calatayud\*

\*Grupo de Investigación, Desarrollo E Innovación Biomédica, Facultad de Ciencias de La Salud, Universidad Técnica de Ambato, Ecuador.

**Introducción.** La tigeiciclina es un antibiótico de amplio espectro con actividad frente a una gran variedad de microorganismos patógenos, incluyendo anaerobios. En un entorno global de resistencia creciente a los antibióticos, la tigeiciclina está demostrando una potente actividad frente a muchos de estos microorganismos. El objetivo es poder evaluar el papel de la tigeiciclina frente a las cepas Gram negativas aisladas, a partir de hemocultivos procedentes del servicio de urgencias de un hospital de referencia en Santa Cruz de Tenerife.

**Materiales y métodos.** La identificación de los agentes causales de bacteriemias, así como el perfil de sensibilidad antibiótica de estos, se determinó mediante el proceso automatizado vitek system (Biomerieux, Francia), confirmándose con E-test la sensibilidad a tigeiciclina e interpretándose los resultados para esta según European Committee on antimicrobial susceptibility testing.

**Resultados.** Durante el año de estudio se aislaron 165 microorganismos como responsables de 135 episodios de bacteriemias, treinta de estos episodios fueron polimicrobianos. Las bacterias Gram negativas representaron el 55.2% (n:91) de los aislamientos totales, destacando a *Escherichia coli* con un 29.7% (n:49), *Klebsiella pneumoniae* con un 4.2% (n:7), *Pseudomonas aeruginosa* con un 4.2% (n:7), *Proteus mirabilis* con un 3% (n:5), *Acinetobacter baumannii* con un 1.8% (n:3) y *Salmonella typhi* con un 1.8% (n:3) como responsables más frecuentemente aislados. La sensibilidad a tigeiciclina fue del 100% excepto para *Proteus mirabilis* que estuvo en un 33% y *Pseudomonas aeruginosa* en 0%.

**Conclusiones.** La tigeiciclina ha demostrado una potente actividad *in vitro* frente a muchos microorganismos de importancia clínica, aunque su actividad frente a *Proteus mirabilis* es muy reducida y prácticamente es inactiva frente a *P. aeruginosa*. Será necesario estudios más detallados para determinar si dicha vulnerabilidad se debe a las bombas de expulsión activa.

### TLP-620. Estudio multicéntrico feno y genotípico de *Staphylococcus aureus* adquiridos de la comunidad aislados de niños paraguayos

Rosa María Guillén F. \*, Fátima Rodríguez A. \*

\*Instituto de Investigaciones En Ciencias de La Salud Paraguay. Grupo de estudio *Staphylococcus aureus*.

**Introducción.** *Staphylococcus aureus* es causante de un amplio espectro de infecciones en el humano. La comprensión de su epidemiología es compleja, debido a la alta variabilidad genética del mismo, por lo que se requiere de herramientas moleculares combinadas para la identificación precisa de los clones. Objetivo general. Describir las características fenotípicas y moleculares de *Staphylococcus aureus* obtenidos de muestras de niños.

**Materiales y métodos.** Se analizaron 113 aislados provenientes de 4 hospitales de referencia de gran asunción. El análisis fenotípico consistió en el antibiograma por disco de difusión. Los análisis moleculares incluyeron la detección de factores de virulencia como: leucocidina de panton valentine (PVL), enterotoxinas A, B, C, D y H, hemolisinas alfa

beta y toxinas exfoliativas A y B; además de la tipificación de secuencias multi-locus de número variable de repeticiones en tándem (MLVA).

**Resultados.** El 22% de los aislados fueron resistentes a metilicina, detectándose en todos ellos el gen MECA. los niveles de resistencia para penicilina y cloranfenicol fueron 98% y 35% respectivamente, mientras que clindamicina, eritromicina, gentamicina y rifampicina no superaron el 5% de los aislados analizados. No se detectaron aislados resistentes a ciprofloxacina, vancomicina, trimetoprim-sulfametoxazol, tetraciclina, teicoplanina y novobiocina. El factor de virulencia más frecuente fue la leucocidina de panton valentine, seguido de las hemolisinas alfa y beta. El análisis MLVA mostró 105 perfiles diferentes dentro de los cuáles, resaltan 5 agrupaciones que contienen de 2 a 4 aislados, con mismo perfil de antibiograma y virulencia.

**Conclusiones.** Este trabajo además de generar los primeros datos de virulencia y variabilidad de *S. aureus* provenientes de niños, ha permitido la implementación a nivel nacional de técnicas con fundamento molecular que pueden ser aplicadas para resolver problemas relevantes en salud pública asociados a infecciones o brotes originados por este microorganismo.

### TLP-621. *Staphylococcus aureus* isolates from skin infection of children with atopic dermatitis in Rio de Janeiro, Brazil

Fernanda Sampaio C.\*, Dennis de Carvalho F.\*, Celina Vieira A.\*, Eliane de Dios Abad\*, Kátia Regina Netto Dos S.\*

\*Universidade Federal Do Rio de Janeiro Brasil.

**Introduction.** The atopic dermatitis (AD) is a chronic cutaneous disease which symptoms are itching, xerosis and eczematous lesions. The scorad ("scoring atopic dermatitis") is used to classify the severity of the lesions of ad. In addition to immunological and hereditary factors, *Staphylococcus aureus* may aggravate the disease. Virulence factors associated with the pathogen may be related to this process. The aim of this study was characterize *S. aureus* isolates recovered from skin infection in children with ad treated at a pediatric outpatient clinic of Rio de Janeiro.

**Materials and methods.** Were analyzed 55 *S. aureus* isolates collected between september/2011 and august/2012. Virulence encoding genes and SCCmec types were evaluated by PCR.

**Results.** Eight (14.5%) patients presented mild AD, 27 (49%) moderate, 9 (16.5%) severe e for 11 (20%) patients the scorad was not evaluated. Among the 55 isolates, 25 (45.5%) were resistant to methicillin. Of them, 21 (84%) carried the SCCmec IV and 4 (16%) not-typeable cassettes. The highest prevalence rates were found to genes of seu enterotoxin (100%), eap and  $\gamma$ -haemolysin (98.2%), followed by sea (76%), CNA adhesin (72.7%), sem (58.2%), seg and sen (51%), pvl leukocidin (51%), seo (49%), BBP and sei (43.6%), FNBB (41.8%) and seb enterotoxin (23.6%). The lowest rates were found to eta and ETB (7.3%), TSST (3.6%) and sed (1.8%). The expression of delta-haemolysin was verified in 51% of isolates.

**Conclusions.** The SCCmec iv is highly prevalent among isolates from skin infection in ad children. A bivariate analysis of the data did not reveal significant correlation between results of toxins and the severity of ad. However, the high occurrence of genes encoding toxins among isolates from skin infection in children with ad may indicate the importance of these toxins in the pathophysiology of the disease.

### TLP-622. Produção de substâncias antagonistas tipo bacteriocina por amostras de bacteroides e parabacteroides isoladas de pacientes com infecção intra-abdominal

Marcela Braga\*, Natália Guimarães\*, Amanda Borges\*, Cássia Silva\*, Jaqueline Moreira\*, Jamil Oliveira\*, Simone Santos\*, Maria Auxiliadora Carvalho\*, Paula Magalhães\*, Luiz Farias\*

\*Universidade Federal de Minas Gerais Brasil.

**Introdução.** Membros dos gêneros bacteroides e parabacteroides são bastonetes Gram negativos anaeróbios obrigatórios, componentes da microbiota indígena de seres humanos e isolados de diversas infecções, principalmente intra-abdominais. Bacteroides e parabacteroides podem sintetizar bacteriocinas, substâncias que desempenham função ecológica, em especial em habitats densamente colonizados, como o intestino, conferindo vantagem competitiva às amostras produtoras. O

objetivo deste estudo foi avaliar a produção de substâncias antagonistas por bacteroides e parabacteroides.

**Materiais e métodos.** A pesquisa da expressão de antagonismo foi realizada pelo método de sobrecamada, empregando 40 amostras isoladas de pacientes com infecções intra-abdominais. Como reveladoras, além das amostras teste, foram incluídas 37 amostras de bactérias Gram positivas e Gram negativas. A influência das condições de cultivo na expressão do antagonismo foi avaliada, empregando-se diferentes meios de cultura (composição e pH). Para descartar a presença de fatores que poderiam interferir na interpretação dos resultados, foi avaliada a presença de bacteriófagos, ácidos graxos, clorofórmio residual e peróxido de hidrogênio.

**Resultados.** Cinco (12,5%) e 29 (72,5%) amostras expressaram isoantagonismo e heteroantagonismo contra bactérias filogeneticamente relacionadas, respectivamente. A melhor expressão de antagonismo foi observada em ágar BHI suplementado com hemina, menadiona e extrato de levedura, pH 6,5. Os fatores interferentes avaliados foram descartados. Uma das amostras, selecionada para as etapas subsequentes do estudo, foi submetida a extração proteica. Detectou-se atividade do extrato intracelular precipitado com (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 30% (C30). C30 foi inativado por proteases e altas temperaturas e manteve-se ativo após exposição a solventes orgânicos e uma ampla faixa de pH. O extrato apresentou atividade de natureza bacteriostática.

**Conclusões.** Os resultados indicam a produção de substâncias antagonistas tipo bacteriocina, demonstram a frequência elevada do fenômeno nos grupos estudados e sugerem o papel das mesmas nas relações interbacterianas, como fator de virulência, em um ambiente complexo como o de uma infecção intra-abdominal. Apoio financeiro: fapemig, CNPQ, capes e PRPQ/UFMG.

### TLP-623. Antimicrobial activities against atypical EPEC preformed biofilms

Cristiane Moda Mota\*, Hebert Fabricio Culler\*, Marcelo Palma Sircill\*, Marcia Regina Franzolin\*

\*Instituto Butantan, Brasil.

**Introduction.** The capacity of biofilm formation by atypical EPEC (AEPEC), one of the main bacterial agents of acute diarrhea in children, possibly plays a role in bacterial persistence. Biofilms are sessile communities of microorganisms attached to surfaces and may show increased antimicrobial drugs resistance. The aim of this study was verify the antimicrobial activities of streptomycin and tetracycline against formed biofilms by AEPEC strains.

**Materials and methods.** AEPEC preformed biofilms on polystyrene plates at 26°C (in LB without NaCl) and at 37°C (in *E. coli* broth) after 24 h of incubation were treated with streptomycin (100 µg/mL and 500 µg/mL) and tetracycline (50 µg/mL and 250 µg/mL). After 24 h, the alamar Blue® indicator (resazurin) was added to the wells in fresh broth and incubated for 1h at 37°C. The metabolic activity was measured at 550 nm and 595 nm. The biofilm mass was quantified using crystal violet staining assay.

**Results.** The biofilm formed by CB5.10 (low biofilm former strain) and BA4157 (high biofilm former strain) strains presented resistance to tetracycline and in higher degree to the streptomycin, both drugs employed in concentrations above the minimal inhibitory concentration (1 µg/mL and 4 µg/mL). AEPEC biofilms presented only decrease of viability (44.4 to 90.4% of inhibition), as well as of biofilm mass (12.5 to 89% of inhibition), mainly by the low biofilm former strain (DO595 nm of 0.157 to 0.574), whereas strain ba4157 showed do of 0.890 to 1.476.

**Conclusions.** The correct administration of drugs to control an infection may consider the bacteria sensibility in biofilm form, due to its capacity to resist to higher antibiotic concentrations than planktonic bacteria.

### TLP-624. Determinação da concentração mínima inibitória (CIM) em *Vibrio* spp. isolados da hemolinfa de camarões *Litopenaeus vannamei* a diferentes antimicrobianos

Edirsana Maria Ribeiro de C.\*, Daniel Rodrigues Dos S.\*, Viana de Sousa\*, Regine Helena Silva Dos Fernandes Vieira\*

\*Instituto de Ciências Do Mar – Labomar/UFC Brasil.

**Introdução.** O uso indiscriminado de drogas antimicrobianas em cultivos de organismos marinhos pode resultar na seleção de populações

resistentes. No cultivo de camarões marinhos, o uso de substâncias antimicrobianas é adotada como estratégia de inibição de agentes patogênicos, especialmente as do gênero vibrio. Objetivo. O objetivo da pesquisa foi estabelecer a concentração mínima inibitória (CIM) de antimicrobianos contra vibrio spp isolados de camarões cultivados na região nordeste do Brasil.

**Materiais e métodos.** Foram utilizadas 25 estirpes de vibrio spp. Isoladas de amostras de hemolinfa de camarões *L. vannamei* cultivados na região nordeste do Brasil (estado do Ceará) e que fazem parte do acervo de bactérias do laboratório de microbiologia ambiental e do pescado do instituto de ciências do mar- labomar/UFC. A determinação da CIM foi feita através da técnica de diluição em caldo (macrodiluição) de acordo com CLSI, (2010).

**Resultados.** Os valores de CIM encontrados foram: AMP (de 80 a 160 µg/l); CFL (de 64 a 512 µg/l); ERI (de 64 a 256 µg/l) e OTC (de 128 µg/l). Os valores de CIM para os antimicrobianos AMP, ERI e CFL foram elevados, o que indica a baixa eficiência dessas substâncias contra essas bactérias.

**Conclusões.** As concentrações apresentadas pelas estirpes podem estar relacionadas com a presença de resíduos fármacos dentro do ambiente de cultivo. Portanto, o monitoramento de substâncias antimicrobianas no ambiente de cultivo e nos animais cultivados é de extrema importância para se estabelecer leis que limitem a concentração dessas drogas.

### TLP-625. Atividade antimicrobiana de actinobactérias frente a *Staphylococcus aureus* multirresistente isolado de mastite bovina

Silvia Katrine Silva\*, Layla Rodrigues S.\*, Adriana Caroprezo M.\*, Bárbara Iansã Dos Santos Viana\*, José Jeosafá Vieira de Sousa Júnior\*, Janete Magalí Araújo\*

\*Universidade de Federal Do Oeste Do Pará Brasil.

**Introdução.** A mastite bovina é a inflamação da glândula mamária que envolve uma série de microrganismos onde merece destaque a bactéria *Staphylococcus aureus*. Esta bactéria vem apresentando resistência à maioria dos antibióticos utilizados na rotina clínica, sendo importante a prospecção de novos compostos antimicrobianos efetivos no seu controle. O grupo das actinobactérias vem sendo estudado devido o grande potencial biotecnológico na produção de compostos bioativos de extrema diversidade química e variada ação farmacológica, especialmente compostos antimicrobianos. O objetivo deste estudo foi avaliar a ação antimicrobiana de actinobactérias isoladas de solo rizosférico de aniba parviflora (macacaporanga) frente cepas de *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolados de mastite bovina.

**Materiais e métodos.** As linhagens de actinobactérias foram isoladas a partir da diluição de 10g de solo, seguido de diluição seriada e semeadura das diluições 10<sup>-4</sup> e 10<sup>-5</sup> em meio isp2. As placas foram incubadas à 30°C por 21 dias sendo efetuados os repiques para isolamento e caracterização cultural. Neste estudo foram escolhidas duas linhagens para avaliação da atividade antimicrobiana através do antagonismo direto pelo método do bloco de gelose frente à cepa de *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolado de mastite bovina.

**Resultados.** Foram isoladas 25 linhagens de actinobactérias, sendo avaliado o potencial antimicrobiano das linhagens mpo8 e mpo20. A linhagem mpo-8 descreveu maior atividade antimicrobiana com halo de inibição de crescimento acima de 17 mm, correspondendo à alta atividade antimicrobiana.

**Conclusões.** Os resultados obtidos neste ensaio comprovam o potencial deste grupo de bactérias na produção de compostos antimicrobianos com espectro de ação sobre bactéria Gram positivas multiresistentes.

### TLP-626. Avaliação do potencial antimicrobiano de compostos isolados a partir da raiz de *Cochlospermum regium* frente a bactérias relacionadas a infecções nosocomiais

Rafaella Souza C.\*

\*UFSJ, Brasil.

**Introdução.** A espécie *cochlospermum regium*, conhecida como algodãozinho, é aplicada tradicionalmente na medicina popular no trata-

mento ou controle de várias doenças. Com o aumento da incidência de micro-organismos multirresistentes em infecções nosocomiais, a prospecção de novos antimicrobianos de origem natural representa uma importante alternativa no combate a estas infecções. Avaliar a atividade *in vitro* bacteriostática e bactericida de substâncias isoladas de *C. regium* frente às bactérias Gram negativas *Escherichia coli* (ATCC 25.922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 4352) e *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19.606) e as Gram positivas *Staphylococcus aureus* (ATCC29.213), *Staphylococcus saprophyticus* (ATCC15.305), *Streptococcus mutans* (ATCC 25.174) e *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12.228).

**Materiais e métodos.** Os isolados de *C. regium*, ácido gálico e tanino foram avaliados quanto à concentração inibitória mínima (CIM) por meio da técnica de microdiluição em caldo e, posteriormente, quanto ao efeito bactericida através da determinação da concentração bactericida mínima (CBM). Os compostos foram diluídos em concentrações que variaram de 1000 a 31,25 µg/mL em dimetilsulfóxido 20% (v/v).

**Resultados.** O ácido gálico apresenta potencial antibacteriano, afetando o crescimento de *K. pneumoniae* e *S. aureus*, com uma CIM de 500 µg/mL, seguida da *E. coli* e *S. mutans* com CIM de 250 µg/mL e 125 µg/mL em relação a *S. saprophyticus*. O tanino apresentou CIM com valores que variaram de 1000 a 31,25 µg/mL, sendo um melhor potencial antimicrobiano observado contra *A. baumannii* (CIM de 31,25 µg/mL) e *S. epidermidis* (62,5 µg/mL), tendo efeito bacteriostático frente a todas bactérias testadas. O CBM para o ácido gálico foi de 500 µg/mL para *E. coli*, para o tanino foi de 1000 µg/mL para as bactérias *A. baumannii*, *S. aureus* e *S. epidermidis*.

**Conclusões.** Os isolados do *C. regium* possuem um potencial antibacteriano, oferecendo subsídios para a pesquisa e descoberta de agentes antimicrobianos derivados dessa fonte vegetal.

### TLP-627. Identificación de loci fimbriales de la familia gamma-2 en cepas de *Escherichia coli* enterotoxigénica obtenidas desde países en desarrollo

Daniela Gutiérrez C.\*, Myron M. Levine\*, Chris Hill\*, Mihai Pop\*, David Rasko\*, O. Colin Stine\*, Roberto Vidal Á.\*, Felipe Del Canto F.\*

\*Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile. Center For Vaccine Development, University Of Maryland School Of Medicine, Baltimore, Maryland, EEUU. Department Chile.

**Introducción.** *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) es una de las causas más frecuentes de diarrea en países en desarrollo, principalmente en niños y viajeros a las regiones endémicas. ETEC coloniza el epitelio intestinal utilizando un diverso repertorio de adhesinas que incluyen principalmente estructuras ensambladas mediante el sistema secretina/chaperona, las cuales pueden ser clasificadas de acuerdo a la secuencia aminoacídica de la secretina. Dentro de un grupo de 35 cepas de ETEC obtenidas a partir de casos de diarrea, que resultaron negativas para la detección de genes de las adhesinas conocidas de ETEC mediante PCR, ocho fueron positivas para la detección de genes de secretina de la familia gamma-2, dentro de la cual se encuentran dos adhesinas ya descritas en ETEC, CS12 y CS18. Objetivos: identificar loci fimbriales de la familia gamma-2 en cepas de ETEC obtenidas desde casos de diarrea, negativas para la detección de adhesinas conocidas.

**Materiales y métodos.** Se realizó la búsqueda de loci fimbriales en las secuencias genómicas parciales de ocho cepas de ETEC, obtenidas mediante secuenciación en la plataforma Hiseq 2000 (Illumina). Los loci identificados fueron caracterizados en base su tamaño, organización de los posibles marcos de lectura abiertos y similitud con genes conocidos.

**Resultados.** Se identificó un locus fimbrial de la familia gamma-2 en cada una de las 8 cepas de ETEC. Cada uno de estos loci tiene al menos 6,2 kbp de longitud e incluye un gen codificante para la secretina, uno para la chaperona y al menos dos codificando una subunidad estructural. Como se esperaba, los genes presentan homología con genes de estructuras fimbriales funcionales, de la familia gamma-2, principalmente CS18 de ETEC.

**Conclusiones.** Cepas de ETEC negativas para la detección de adhesinas conocidas, portan loci fimbriales de la familia gamma-2 como posibles determinantes de su capacidad de adherencia al epitelio intestinal.



### TLP-628. Evolución molecular en el pangenoma de *Acinetobacter baumannii* y su asociación con la virulencia y patogenicidad

Jeanneth Mosquera R.\*, Mauricio Corredor\*, Alfonso Benítez P.\*

\*Grupo de Análisis Bioinformático – GABI. Centro de Investigación y Desarrollo En Biotecnología – CIDBIO, Colombia.

**Introducción.** *Acinetobacter baumannii* es una bacteria Gram negativa asociada principalmente al ámbito hospitalario ocasionando numerosas infecciones nosocomiales. Posee diversos mecanismos de resistencia a diferentes antibióticos de amplio espectro dentro de los cuales se encuentra su capacidad de adquirir genes asociados a la resistencia a antibióticos mediante elementos genéticos móviles que se integran en el cromosoma, y que contribuyen a su vez a la diseminación de resistencias en *A. baumannii* y otras especies patógenas humanas. Se estudiará la variación genotípica del pangenoma de *A. baumannii* con el fin de establecer su patrón de evolución molecular y genes asociados a la patogénesis y a la resistencia a antibióticos.

**Materiales y métodos.** La información genómica de más de 250 cepas de *A. baumannii*, disponibles en la base de datos Patric, se usaron con el propósito de reconstruir su pangenoma. Para cada gen constitutivo del pangenoma se calcularon las respectivas tasas de sustituciones sinónimas (DS) y no sinónimas (DN) a nivel de codones en las secuencias codificantes. El análisis funcional se realizó usando la anotación de los sistemas KEGG y SMART.

**Resultados.** Encontramos que 17206 genes conforman el pangenoma de *A. baumannii*, y de ellos, 271 familias génicas presentaron una proporción DN/DS > 2, parámetro que indica selección positiva en dichos genes. Tras el análisis funcional encontramos que dentro de los genes con selección positiva existen familias génicas asociadas a resistencia a tetraciclina y bombas de extrusión de multidrogas.

**Conclusiones.** Los resultados contribuyen tanto a la generación de nuevas estrategias de genotipificación de cepas de *A. baumannii* asociadas a determinados fenotipos de interés clínico, como al control y vigilancia epidemiológica de infecciones nosocomiales. También contribuyen en la implementación de técnicas genómicas que ayuden al descubrimiento de nuevos agentes antimicrobianos y al desarrollo de vacunas basados en la selección de Dianas moleculares con baja variación molecular.

### TLP-629. Colonização de gestantes por *Streptococos* do grupo B atendidas pelo sistema único de saúde no sul do Brazil

Jéssica Z. A Mandelli\*, Karla J. Perez\*, Alexandre Ehrhardt\*

\*Universidade e Luterana Do Brasil - ULBRA, Campus Carazinho/RS E Faculdade Especializada Na Área Da Saúde Do Rio Grande Do Sul - Fasurgs, Passo Fundo/RS Brasil.

**Introdução.** Os *Streptococos* do grupo B são micro-organismos que podem colonizar o trato gastrointestinal e genital de adultos de forma assintomática. Estes micro-organismos se tornam motivo de preocupação durante a gestação quando medidas profiláticas intra-parto não forem tomadas. Relatos de literatura indicam que a maioria dos recém-nascidos de mães portadoras nascem colonizados, podendo desenvolver quadros graves de meningite e septicemia. O objetivo do trabalho consistiu em avaliar o percentual de gestantes colonizadas por *Streptococos* do grupo B na estratégia saúde da família (ESF), do bairro floresta, no município de Carazinho/RS, localizado no sul do Brasil.

**Materiais e métodos.** Durante o período de outubro a novembro de 2013 foram coletadas amostras vaginais e anorretais de 32 gestantes que realizavam rotina pré-natal no esf floresta. Foi realizado um cálculo amostral, visto que ocorrem em média 600 partos anuais realizados pelo sus no município. As amostras foram acondicionadas em meio de transporte Stuart até o laboratório de microbiologia da ulbra campus carazinho. O material foi inoculado em caldo Granada®, marca (Bio-Meérieux), e incubado a 37°C por 24 h e as amostras que realizaram a viragem da cor original do caldo de amarelo para alaranjado foram consideradas positivas.

**Resultados.** Observou-se uma média de idade de 24,2 (± 6,2) anos nas gestantes analisadas, com variação da primeira a décima gestação. As primíparas representaram 87% das gestantes avaliadas. A média do período de gravidez deste estudo foi de 26 (± 3,5) semanas. Do total das gestantes avaliadas, 26 (81,25%) apresentaram resultado negativo e 6 (18,75%) apresentaram cultura positiva para *Streptococos* do grupo B (p<0,05).

**Conclusões.** A colonização na amostra populacional do esf está em consonância com os parâmetros nacionais e internacionais. Dada a incidência significativa dos achados laboratoriais, sugere-se a adoção de medidas preventivas pelas secretarias de Saúde dos municípios Brasileiros.

### TLP-630. Aislamiento y caracterización de la cepa *Lactobacillus salivarius* UCO\_979C con propiedades probióticas y actividad anti *Helicobacter pylori*

Apolinaria García\*, Carlos González\*

\*Univ. de Concepción Chile.

**Introducción.** Algunos probióticos pueden ser adyuvante en el tratamiento de infecciones por *Helicobacter pylori*, principal factor de riesgo de cáncer gástrico. Aislar y caracterizar cepas de *Lactobacillus* de origen gástrico humano para seleccionar una cepa con propiedades probióticas y actividad anti-*H. pylori*.

**Materiales y métodos.** Se cultivaron 200 muestras de biopsias gástricas en medio M.R.S. A las colonias obtenidas se les realizó pruebas fenotípicas y genotípicas para identificación de *Lactobacillus*. Las que correspondieron a *Lactobacillus* fueron caracterizadas mediante pruebas probióticas funcionales y de inocuidad.

**Resultados.** Se aisló la cepa *Lactobacillus salivarius* UCO\_979C con las siguientes características probióticas funcionales: tolera pH 3.0, crece en bilis de buey salada al 2,0%; produce ácido láctico y peróxido de hidrógeno, posee capacidad de agregación de solución salina y alta hidrofobicidad; posee el gen para salivacina; muestra alta adherencia a vidrio, células CACO-2 y AGS, y muy buena colonización en gerbos monogolianos; inhibe el crecimiento de cepas de *H. pylori* de colección y clínicas; e inhibe la ureasa de *H. pylori* *in vitro* y en células AGS. UCO\_979C es capaz de inhibir significativamente la producción de IL-8. La cepa es capaz de matar a *H. pylori* en menos de 5 h. Produce gran cantidad de exopolisacárido, que podría estar implicado en su notable capacidad inhibitoria de *H. pylori*, en conjunto al H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ácido láctico y bacteriocinas. En relación a propiedades de inocuidad: muestra susceptibilidad a diversos antibióticos, excepto bencil-penicilina; baja producción de aminas biógenas totales y no produce histamina; no produce beta hemólisis al crecer en agar con diversos tipos de sangre.

**Conclusiones.** La cepa UCO\_979C es un excelente Candidato probiótico anti-*H. pylori*.

### TLP-631. Descripción de la epidemiología molecular de la colonización nasal por *Staphylococcus aureus* en menores al interior de ocho hogares infantiles de Medellín, 2011

Erika Andrea Rodríguez T.\*, Alejandra Ruiz C.\*, Leidy Maritza Sánchez G.\*, Natalia García V.\*, Judy Natalia Jiménez Q.\*

\*Grupo de Microbiología Básica Y Aplicada, Grupo de Microbiología Molecular, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia Colombia.

**Introducción.** La colonización por *Staphylococcus aureus* juega un papel importante en la epidemiología de las infecciones que causa, principalmente en la población infantil. En Colombia, los estudios en comunidad son pocos. El objetivo de este trabajo fue describir la epidemiología molecular de la colonización nasal por *S. aureus* al interior de 8 hogares infantiles de Medellín.

**Materiales y métodos.** Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal. Un total de 200 niños (0-5 años) de 8 centros infantiles fueron incluidos. *Staphylococcus aureus* fue identificado por métodos fenotípicos. A los aislamientos se les realizó confirmación molecular de especie y de susceptibilidad a meticilina mediante los genes NUC y MEC, respectivamente. La genotipificación se realizó empleando PFGE, tipificación de SPA, MLST y caracterización del SCCMEC. los datos epidemiológicos fueron analizados en SPSS® 21.0.

**Resultados.** La frecuencia de colonización nasal por *S. aureus* entre los menores de los 8 hogares infantiles varió desde 16.7% (n=3) hasta 53.6% (n=15), y de MRSA hasta un 8% (n=2). Los menores colonizados de cada uno de los centros infantiles frecuentemente se caracterizaron por convivir en sus casas con otros niños, presentar antecedentes de uso de antibióticos y ser fumadores pasivos. En cuanto a las características moleculares de los aislamientos, el 50% se agruparon en 3 clusters pertenecientes a 3 complejos clonales, el CC45, CC30 y CC121. El análisis

de PFGE realizado por cada hogar infantil, muestra 4 hogares con cepas relacionadas entre sí, indicando la posible transmisión de *S. aureus* dentro de cada uno de estos espacios.

**Conclusiones.** Estos resultados reafirman la importancia de los centros infantiles como entornos óptimos para la transmisión de *S. aureus* en comunidad. Así mismo, las características epidemiológicas y moleculares encontradas pueden ser útiles en la toma de medidas de control para prevenir la diseminación de este microorganismo en estos espacios.

### TLP-632. *In vitro* evaluation of *Staphylococcal* enterotoxin B production under action of isolated compounds from plants

Mariana Albano\*, Fernanda Cristina Bérnago A.\*,  
Bruna Fernanda Murbach Teles de A.\*, Lidiane Nunes B.\*,  
Lídia Raquel de Carvalho\*, Vera Lúcia Mores R.\*, Ary Fernandes J.\*

\*Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP Brasil.

**Introduction.** *Staphylococcus aureus* is a pathogen of major concern for clinical infection and foodborne illness and has remarkable invasiveness and toxin-mediated virulence. *Staphylococcal* enterotoxins are a major cause of foodborne illnesses. Studies have shown that plant essential oils can influence production of toxins, avoiding overuse of antibiotics and the development of bacterial resistance. To verify the influence of major phenolic compounds of plant essential oils in subinhibitory doses on enterotoxin B (SEB) production from *Staphylococcus aureus*.

**Materials and methods.** Five phenolic compounds (eugenol, geraniol, cinnamaldehyde, citronellol and terpineol) were tested. Amounts corresponding to 60% and 80% of minimum inhibitory concentration (MIC90%) were added to culture medium tryptic soy broth (TSB). Each treatment was inoculated with a suspension of standardized *S. aureus* (ATCC 14558) overnight culture and incubated (37°C/24 h). TSB inoculated with *S. aureus* was used as positive control. After incubation each treatment was centrifuged (9000g/4°C/30 min) and supernatant was used to detect enterotoxin production by reverse passive latex agglutination (RPLA). The interpretation of results was performed according to manufacturer's instructions kit. Colony forming units counts were done to ensure that cultures reached the minimum number for toxin production. Assays were performed in duplicate. Kruskal-Wallis nonparametric test was performed using scores related to enterotoxin production.

**Results.** All compounds interfered with enterotoxin b production ( $p < 0,001$ ) except cinnamaldehyde which production did not differ from control. Terpineol and eugenol inhibited completely enterotoxin b production in both concentrations tested, citronellol with 80% of MIC90% and using geraniol, enterotoxin B production was moderate compared to control.

**Conclusions.** All phenolic compounds interfered with enterotoxin b, decreasing its production. However, further studies are necessary to understand mechanism of action and toxicity of these compounds, but it may represent a promising way to prevent diseases caused by *S. aureus* enterotoxigenic, a public health problem and to contribute for reduction of antimicrobial drugs consumption.

### TLP-633. Immunochemiluminescent detection of the *Leptospira* spp. in human urine

Larissa Do Rego Barros M.\*, Zenaide Maria de Moraes\*,  
Ana Maria Moro\*, Silvio Arruda Vasconcellos\*,  
Luiz Bezerra de Carvalho J.\*, Patrícia Antonia Estima A.\*

\*Universidade de São Paulo/ Instituto Butantan Brasil.

**Introduction.** Leptospirosis is a zoonotic disease caused by the pathogenic *Leptospira* spp. which may cause mild to serious complications in humans and animals. It is often associated with poor sanitation and high rodent infestations. Late diagnosis of leptospirosis is still a major cause of death, due to the unspecific symptoms and the difficulty of clinical investigation. The development of new diagnostic methods is needed. Chemiluminescent compounds such as acridine and its derivatives have been used as revealers and are important tools for the diagnosis, being widely used due to their stability, specificity and efficiency. General objective. This study aimed to evaluate the use of a chemiluminescent immunoassay for the detection of leptospires in urine.

**Materials and methods.** We produced anti-leptospira IGG in rabbits and performed its conjugation with the DMAE-NHS acridine ester. The

complexes were separated chromatographically, and then had their chemiluminescence evaluated. We also analyzed the efficiency of the *Leptospira* detection in human and hamster infected urine.

**Results.** The use of the anti-leptospira IGG conjugated to the DMAE-NHS enabled the rapid detection of leptospires in small volumes the infected urine by chemiluminescence. These results were confirmed by bacteriological culture which is the standard diagnostic method for leptospirosis.

**Conclusions.** This method may be a promising tool for future development of early diagnostic kits of leptospirosis, and its patent was requested under the number INPI BR 10 2014 011648 6.

### TLP-634. *In vitro* antibacterial activity of Cu(II) compounds loaded or not loaded into a nanostructured system

Patricia Bento Da Silva\*, Bruna Vidal Bonifácio\*, Kamila Maria Silveira N.\*, Matheus Aparecido Dos Santos R.\*, Regina Célia Galvão Frem\*, Adelino Vieira De Godoy N.\*, Antonio Eduardo Mauro\*,  
Maria Stella Gonçalves R.\*, Taís Maria Bauab\*, Marlus Chorilli

\*Universidade Estadual Paulista - UNESP, Brasil.

**Conclusions.** Copper is the third most abundant transition metal element in biological systems. The ion Cu (II) has a tendency to form complexes with other molecules, like coordination compounds that comprise different properties, including the antibacterial activity. Nanostructured lipid systems, such as microemulsions (ME's), have gained prominence in the field of pharmaceutical sciences because they are able to improve the solubility and stability of pharmaceuticals, providing prolonged action and carrying substances that have different degrees of hydrophilicity/lipophilicity in the same formulation. This work aims to evaluate the bacterial growth inhibition of complexes:  $[\text{CuCl}_2(\text{INH})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$  (1),  $[\text{Cu}(\text{NCS})_2(\text{INH})_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (2) and  $[\text{Cu}(\text{NCO})_2(\text{INH})_2] \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (3) loaded or not loaded into a nanosystem prepared by sonication.

**Materials and methods.** The antibacterial activity of the compounds loaded or not loaded into the nanosystem was evaluated by microdilution technique against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 25922. The compounds were tested at concentrations ranging from 1000 to 7.81  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , and the ampicillin (5 g/mL) was used to check if this medication will work with that bacteria. After the incubation at 37°C/24 h the visual reading with the developer resazurin (0.01%) was performed to determine the minimum inhibitory concentration (MIC).

**Results.** Of the compounds not loaded into the me, only the 2 (MIC 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) showed activity for *S. aureus*. After loading the compounds into the nanosystem, the 1, 2 and 3 had their antibacterial activity improved against *E. coli* (MIC's 125, 125 and 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectively) and *S. aureus* (MIC's 250, 500 and 125  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectively). These results prove that the process of loading these complexes into the me developed ensured much better results when compared to the free compounds, which may encourage the development of an effective therapeutic alternative with lower doses.

**Conclusions.** The results prove that the Cu (II) compounds can be considered a promising antibacterial Candidate when carried by the developed me.

### TLP-635. Mathematical modeling of the thermal inactivation of endospores of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in tropical fruit juices at different pH values

\*Universidade e Federal de Viçosa - UFV Brasil.

Wemerson Castro O.\*, Míriam Teresinha Dos Santos\*,  
Maria Cristina Dantas\*, Hilário Cuquetto Mantovani\*

**Introduction.** *Alicyclobacillus acidoterrestris* is a microorganism that resists the processing steps of fruit juices, remaining in the final product in the form of endospores, which germinate and spoil the juices. This study aimed to evaluate the effects of different combinations of pH and temperature on the thermal inactivation (D and Z values) of *A. acidoterrestris* endospores in different tropical fruit juices to obtain mathematical models using polynomial regression analysis.

**Materials and methods.** The influence of pH, temperature and juice matrix on the endospore resistance during processing steps was evaluated by preparing endospore solution in fruit juices (orange, mango, pineapple, guava, papaya and passion fruit) at different pH values (2.0,

2.5, 3.0, 3.5, 4.0 and 4.5) and heated at 90°C and 95°C for 25 min. The decimal reduction time (d value) was obtained using kill curve and used to calculate the z values. Mathematical models were achieved using polynomial regression.

**Results.** The thermal inactivation analysis showed that d values were different among the juices. The maximum values found were 24.7 min (D90°C, pH 4.5) for passion fruit; 7.7 min (D95°C, pH 4.5) for pineapple and orange; and the minimum values were 3.5 min (D90°C, pH 2.5) and 1.7 min (D95°C, pH 2.5) for papaya. The pH had a small effect on the thermal resistance at 95°C. Mathematical models of thermal inactivation indicated that the pH factor and interactions between temperature and pH were statistically significant. The better adjustment sleeve was obtained for mango (R<sup>2</sup>=0.93) and the lowest one for papaya (R<sup>2</sup>=0.74). The interaction between pH and temperature was the most significant on *A. acidoterrestris* endospores thermal reduction.

**Conclusions.** The results of this study indicate that pH and juice matrix influenced the resistance of *A. acidoterrestris* to heat.

### TLP-636. Descripción de los patrones de resistencia antimicrobianos en enterobacterias productoras de I.T.U. en atención primaria

Antonio Andrés Quesada S.\*<sup>1</sup>, Marta Calatayud\*<sup>2</sup>,  
Wilber Romero F.\*<sup>3</sup>, Soledad Sánchez M.\*<sup>4</sup>

\*Grupo de Investigación, Desarrollo E Innovación Biomédica, Facultad de Ciencias de La Salud, Universidad Técnica de Ambato, Ecuador.

**Introducción.** Las infecciones del tracto urinario son patologías frecuentes en atención primaria. La mayoría de estas infecciones urinarias son cuadros infecciosos no complicados producidos por enterobacterias tipo *E. coli* y *K. pneumoniae*. El manejo terapéutico de este tipo de infecciones no es difícil, siendo frecuente el tratamiento empírico con quinolonas. a partir de muestras de urocultivos procedentes de atención primaria en Santa Cruz de Tenerife, el objetivo es conocer tanto la prevalencia de cepas de *E. coli* y *K. pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), así como la frecuencia de resistencia de estas cepas a quinolonas.

**Materiales y métodos.** Durante cuatro años se realizaron 138.307 urocultivos. La identificación de los microorganismos aislados y el perfil de sensibilidad antibiótica se determinó mediante el proceso vitek system (Biomérieux, Francia), confirmándose la producción de BLEE mediante técnicas de difusión en disco, interpretándose los resultados según las normas del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

**Resultados.** Se realizaron 138.307 urocultivos, de los que se aislaron 11.756 uropatógenos, 8.018 de los cuales (68.2% del total) se identificaron como *E. coli* y 764 (6.5% del total) como *K. pneumoniae*. de los 8.018 aislamientos totales de *E. coli*, la prevalencia de BLEE fue de 3.06% (245), mientras que de los 764 aislamientos totales de *K. pneumoniae*, la prevalencia de BLEE fue de 2.62 % (20). La frecuencia de resistencia *in vitro* para quinolonas entre cepas productoras de BLEE fue de un 56% para *E. coli* y de un 60% para *K. pneumoniae*.

**Conclusiones.** La presión selectiva que ejerce el extenso uso empírico de quinolonas, puede acarrear un problema terapéutico grave, por el riesgo asociado entre el consumo de estas y la prevalencia de cepas productoras de BLEE.

### TLP-637. *E. coli* isolated from urine: Susceptibility profile and ESBLI production

Amanda Ferreira Do N.\*<sup>1</sup>, Renan de Souza S.\*<sup>2</sup>,  
José Daniel Gonçalves V.\*<sup>3</sup>, Geraldo Sadoyama\*<sup>4</sup>

\*Universidad e Federal de Goiás Brasil.

**Introduction.** The urinary tract infection (UTI) is the second of the most prevalent infections in humans. Its treatment in many cases is done empirically, resulting in increased bacterial resistance to several antimicrobial agents, including the emergence of beta-lactamase extended spectrum enzymes (ESBL). the objective of this study was to determine the susceptibility profile and multidrug resistance of *Escherichia coli* isolated from urine, associated with resistance among isolates and verify the production of ESBLs.

**Materials and methods.** The microorganisms' identification was performed by traditional techniques and phenotypic susceptibility tests were performed according to the "Clinical Laboratory Standards Institute, CLSI". This work is part of an approved project by the CEP/HUGO/SES N° 084/08 ethics committee.

**Results.** Among 240 strains of *E. coli*, a high rate of resistance to cephalothin (56.13%), tetracycline (46.67%) and sulfamethoxazole/trimethoprim (46.03%) was detected. A smaller percentage of detected resistance to gentamicin (20%), cefotaxime (24.3%), ceftriaxone (24.4%), aztreonam (24.5%), ceftazidime (24.6%) and ciprofloxacin (27, 5%), and all the samples identified as sensitive to imipenem. A total of 25 % were multiresistant. Associated with greater resistance was observed between tetracycline and sulfamethoxazole/trimethoprim (RR=8). High risk values of resistance were also identified between sulfamethoxazole/trimethoprim and ciprofloxacin (RR=2.91). The drug gentamicin was the relative risk which showed resistance to more antimicrobials. Of these samples, 25 were tested for production of ESBL, 64% positive.

**Conclusions.** We conclude that the samples of *E. coli* showed a high rate of resistance to various antimicrobials and expressive multidrug resistance, which can be associated with the production of ESBLs. The determination of the isolated *E. coli* from urine and their susceptibility profile, are fundamental to the implementation of treatment, prevention and infection control protocols.

### TLP-638. *Clostridium perfringens* de origem humana e animal: avaliação clonal por multilocus sequence typing (MLST)

Viviane Nakano\*<sup>1</sup>, Marcelo P. Sircili\*<sup>2</sup>, Mario Julio Avila-Campos\*<sup>3</sup>

\*Universidade de São Paulo - Instituto de Ciências Biomédicas E Instituto Butantan Brasil.

**Introdução.** *Clostridium perfringens* é considerado um microrganismo ubíquo no meio ambiente e no trato intestinal de vertebrados, podendo causar patologias severas no hospedeiro humano ou animal. Neste estudo foi realizada a análise de similaridade clonal de 19 cepas de *Clostridium perfringens* isoladas de fezes normais de 11 crianças e de 8 frangos com enterite necrótica pelo método do multilocus sequence typing (MLST).

**Materiais e métodos.** Foram pesquisados oito genes housekeeping: D-alanina D-alanina ligase (DDL), superóxido dismutase (SOD), deoxiridina trifosfato (DUT), glicérol quinase (GLPK), deoxiguanilato quinase (GMK), triose fosfatase isomerase (TPI), recombinase (RECA), e o gene de virulência fosfolipase C – alfa toxina (PLC).

**Resultados.** Foi realizada uma análise comparativa da presença desses genes entre as cepas de humanos e animais, observando-se que todas as cepas se agruparam em clusters apresentando 100% de homologia. Além dessa análise, foi construído o filograma com as sequências concatenadas dos oito genes, verificando-se a presença de dois clones nas amostras de origem animal (um frango criado no estado do paraná e outro no ceará) evidenciando a presença de um clone circulante nesta amostragem. Também, essas análises revelaram que as cepas de humanos e animais compartilham relações clonais muito próximas, mas sem a observação de agrupamentos, mostrando 100% de identidade entre as cepas.

**Conclusões.** Os resultados gerados pelo mlst sugerem a existência de diversidade genética entre os *C. perfringens* isolados independentemente da sua origem. Apoio financeiro: CNPQ 158799/2012-7, FAPESP 2013/17739-9. E-mail: vivinkn@usp.br; mariojac@usp.br.

### TLP-639. Susceptibilidad antimicrobiana en cepas de *Listeria monocytogenes* aisladas desde alimentos y casos clínicos en Chile

Dácil Rivera O.\*<sup>1</sup>, Roberto Vidal A.\*<sup>2</sup>,  
Lisette Lapierre A.\*<sup>3</sup>, Maricel Vidal O.\*<sup>4</sup>

\*Magister En Ciencias Animales y Veterinarias. Red de Investigación En Zoonosis Emergentes y Re Emergentes. Facultad de Medicina Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. Seremi de Salud Región M. Chile.

**Introducción.** *Listeria monocytogenes* es un patógeno que habita distintos ambientes y que puede ser transmitido por alimentos, causando infecciones sistémicas graves en grupos de riesgo como adultos mayores, embarazadas e inmunocomprometidos. Para el tratamiento, los an-

tibióticos más utilizados corresponden a aminopenicilinas (ampicilina o amoxicilina), en combinación con aminoglicósidos como la gentamicina, en casos de infecciones invasivas. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la resistencia fenotípica de aislamientos de *L. monocytogenes* obtenidos desde alimentos y de casos clínicos a 8 antimicrobianos.

**Materiales y métodos.** Se trabajó con 172 aislamientos obtenidos desde alimentos y con 40 cepas clínicas. Se realizó un screening de susceptibilidad a sulfametoxazol-trimetoprim, cefalotina, gentamicina, ciprofloxacino, eritromicina, ampicilina, tetraciclina y penicilina G, por el método de Kirby Bauer y posteriormente a las cepas resistentes e intermedias se les determinó la concentración mínima inhibitoria (CIM) por el método de microdilución.

**Resultados.** Del total de cepas analizadas, 45 presentaron resistencia a algún antibiótico. Los antibióticos con mayor número de cepas resistentes fueron gentamicina y ciprofloxacino. El 82,2% fueron aislados de alimentos de origen animal, 11,1% de origen clínico y el 6,6% alimentos de origen vegetal. Un 62,2% presentó multiresistencia, siendo el perfil más común cefalotina, ciprofloxacino, eritromicina y sulfa+trimetoprim.

**Conclusiones.** Un porcentaje importante de cepas aisladas desde alimentos de origen animal presentan resistencia y multiresistencia a los antibióticos. Estas cepas resistentes podrían causar enfermedad en la población vulnerable lo que representa un riesgo, ya que se ven disminuidas las alternativas terapéuticas. Es primordial que en nuestro país existan programas de vigilancia de la resistencia en cepas zoonóticas que integren tanto a las cepas de origen clínico como los aislados de alimentos, con el fin de aplicar medidas de control y prevención adecuadas tanto en la práctica clínica como a nivel de la cadena de alimentos. Agradecimientos: FONDECYT 11075051 y FONDECYT 11110200.

### TLP-640. Prevalencia de genes de virulencia ESP y HYL y su asociación a resistencia en *Enterococcus faecium* resistentes a vancomicina en el hospital infantil de México Federico Gómez

Federico Gómez M.\*, Gerardo Escalona V.\*, María Eugenia Sepulveda G.\*, Sara Ochoa-Pérez\*, Ariadna Cruz-Córdova\*

\*Hospital Infantil de México.

**Introducción.** En el Hospital Infantil de México Federico Gómez, *Enterococcus faecium* multiresistente es un patógeno nosocomial importante que ha sido relacionado con la diseminación de un complejo clonal 17 (CC17). Objetivo. Determinar genes de virulencia en cepas multiresistentes de *E. faecium* resistentes a vancomicina (VREF) en pacientes pediátricos.

**Materiales y métodos.** Se incluyeron 64 cepas de VREF provenientes de aislados clínicos de varias muestras, como orina y sangre. La susceptibilidad a antibióticos fue determinada por la concentración inhibitoria mínima descrito por el CLSI. La detección de genes de resistencia y virulencia se realizó por PCR. La tipificación molecular por PFGE y ensayos de MLST realizados únicamente en 12 cepas por su importancia clínica.

**Resultados.** El 100% de las cepas clínicas mostraron resistencia a penicilinas y aminoglicósidos, 98.4% (63/64) a teicoplanina, 11.7% (7/64) a quinupristina/dalfopristina y 59.4% (38/64) a tetraciclina y doxiciclina. Además, 26.6% (17/64), mostraron un alto nivel de resistencia a gentamicina (500 µg/mL), 9.4% (6/64) a estreptomina (1000 µg/mL) y 34.3% (22/64) gentamicina/estreptomina. El 29.7% (19/64) amplificaron el gen ESP, 17.2% (11/64) a HYL y 48.4% (31/64) a HYL-ESP; 4.7% (3/64) de las cepas no amplificaron ninguno de estos genes. El análisis filogenético por PFGE sugirió la presencia de 4 cluster relacionados y por MLST, 75% (9/12) de las cepas amplificaron al CC17.

**Conclusiones.** La expresión de genes de virulencia ESP y HYL asociados con la alta resistencia a aminoglicósidos, podría significar una habilidad importante de EFVR para colonizar, sobrevivir y causar infección en pacientes pediátricos.

### TLP-641. Phenotypic effects of *in vitro* induction of imipenem in clinical strains of *Enterobacteriaceae*

\*Universidade de Sao Paulo / Universidad de La Frontera Brasil.

Mónica Pavez\*, Camila Martins\*, Lara Mendes de Almeida\*, Leticia Barrientos\*, Nilton Lincopan\*, Elsa Mamizuka\*

**Introduction.** Carbapenems antibiotics have been considered the therapy of choice to esbls producing enterobacteria. The disadvantage

of these antibiotics is their ability to induce resistance to  $\beta$ -lactamic antibiotics favoring the induction of  $\beta$ -lactamases and the selection of intrinsic resistance mechanisms contributing to the profile multi-drug resistant (MDR). The aim of this study is evaluate the changes in the resistance profile from clinical isolates of enterobacteria by *in vitro* exposure to different concentrations of imipenem.

**Materials and methods.** Three groups of clinical isolates were selected according to the resistance profile, molecular typing and hydrolysis of imipenem: i) sensitive, ii) ESBL producers and iii) AMPC producers. The CIM by microdilution to several antibiotics, and outer membrane porins analysis by SDS-page were evaluated in an initial step. The study of genes encoding  $\beta$ -lactamases was performed by PCR. Next, successive passages in mediums containing sub-inhibitory concentrations of imipenem followed by CIM and phenotypic analysis by sds-page were performed.

**Results.** After induction with imipenem, 77% of strains increased the CIM for carbapenems, especially in groups II and III. Also was affected the resistance profile to other antibiotics such as polymixina B. The porin loss was observed only for one isolate, however, even in the initial step the lack of 36KDA porins was observed in groups II and III.

**Conclusions.** Induction with imipenem proved to be an important factor in the development of carbapenems resistance and others unrelated antibiotics. The impermeability determinants contributing to the profile of carbapenems resistance, however porin loss is not a frequent adaptive response in the early establishment of resistance.

### TLP-642. Avaliação do potencial antimicrobiano de compostos de coordenação derivados do metronidazol frente às bactérias e leveduras de importância clínica

Fabiana Paula Pereira\*, Rosiane Cristina Santos S.\*, Laís Cardoso Cunha\*, Rafael Russo Chagas\*, Jaqueline Maria Siqueira F.\*

\*Universidade e Federal de São João Del-Rei Brasil.

**Introdução.** Infecções nosocomiais são consideradas um grande problema de saúde pública, e os microrganismos, em especial as bactérias, são a principal causa destas infecções. O desenvolvimento de mecanismos de resistência às drogas atualmente disponíveis faz com que a busca por novas substâncias com atividades biológicas, como os complexos de coordenação, se torne necessária. Objetivo: avaliar onze compostos de coordenação, complexos derivados do metronidazol, frente a bactérias e leveduras de importância clínica.

**Materiais e método.** A atividade antimicrobiana dos compostos foi avaliada *in vitro*, através da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e da concentração letal mínima (CLM). Os compostos foram diluídos em dmsO 100% e testados em concentrações que variaram de 500 a 3,125 µg/mL frente as bactérias de referência (ATCC) Gram negativas *Escherichia coli* (25922), *Klebsiella pneumoniae* (27736), *Pseudomonas aeruginosa* (25853) e *Acinetobacter baumannii* (9606) e Gram positivas *Staphylococcus aureus* (29213), *Staphylococcus epidermidis* (12228), *Streptococcus agalactiae* (13813) e *Listeria monocytogenes* (15313) e leveduras *Candida albicans* (10231), *C. glabrata* (2001) e *C. tropicalis* (28707).

**Resultados.** Dentre os compostos testados, o complexo MTZ-BR+ apresentou melhor atividade menor CIM, de 3,125 µg/mL, foi obtido frente a *S. epidermidis*. Porém, as concentrações encontradas para as demais bactérias também foram promissoras, como o CIM de 6,25 µg/mL para *E. coli*, *L. monocytogenes* e *S. aureus*. O melhor resultado obtido para as leveduras foi CIM de 12,5 µg/mL para *C. glabrata* e *C. albicans*. O CBM apresentou-se entre 100 e 6,25 µg/mL, sendo o melhor resultado encontrado para a *L. monocytogenes*, que apresentou os mesmos valores de CIM e CBM.

**Conclusões.** O complexo MTZ-BR+ mostrou-se como potencial antibacteriano e antifúngico. Os resultados obtidos são de extrema importância científica e principalmente clínica, tendo em vista o aumento das taxas de infecções nosocomiais e a crescente resistência aos antimicrobianos usualmente utilizados.

### TLP-643. Manual interactivo de microbiología general

Diego Fernando López M.\*, Cristian Cuellar G.\*, Ana María Rodríguez L.\*, Oscar Zapata, Marina Marulanda P.

\*Universidad Católica de Manizales, Colombia.

**Introducción.** Prefacio la microbiología es la ciencia encargada del estudio de los microorganismos, seres vivos pequeños (del griego «μικρος»

mikros “pequeño”, «βίος» bios, “vida” y «-λογία» -logía, tratado, estudio, ciencia), también conocidos como microbios. Aunque los conocimientos microbiológicos de que se dispone en la actualidad son muy amplios, todavía es mucho lo que queda por conocer y constantemente se efectúan nuevos descubrimientos en este campo. En las estimaciones más habituales, sólo un 1% de los microbios existentes en la biosfera han sido estudiados hasta el momento. Por lo tanto, a pesar de que han pasado más de 300 años desde el descubrimiento de los microorganismos, la ciencia de la microbiología se halla todavía en su infancia en comparación con otras disciplinas biológicas. Objetivo general: desarrollar en el estudiante competencias interpretativas, argumentativas y propositivas en el conocimiento general de los microorganismos y su forma de controlarlos, como fundamentación básica para avanzar en temáticas más específicas que lo lleven al diagnóstico microbiológico en el laboratorio. Objetivos específicos: 1. Reconocer los descubrimientos y avances más importantes que han transformado la microbiología durante las diferentes épocas históricas. 2. Clasificar los microorganismos de acuerdo a sus características taxonómicas estableciendo relaciones con el metabolismo de cada grupo microbiano y su aplicación en los procesos clínicos e industriales. 3. Manejar en el laboratorio de microbiología todas las técnicas necesarias para el control de calidad. 4. Desarrollar habilidades y destrezas para la preparación de medios de cultivo. Manejo de las coloraciones básicas del laboratorio para la respectiva clasificación de los grupos bacterianos. 5. Comprender y aplicar las normas y conceptos sobre bioseguridad y control de calidad en el laboratorio de microbiología. 6. Identificar la biota normal y su interacción con el huésped según el sistema inmunológico. 7. Determinar los procesos fisicoquímicos que se desarrollan en las bacterias de acuerdo a sus componentes, necesidades nutricionales, procesos metabólicos y factores de crecimiento. 8. Adquirir destrezas para la toma, recolección y transporte de muestras microbiológicas de las secreciones y fluidos corporales, según los parámetros clínicos establecidos. 9. Correlacionar los procesos de esterilización, desinfección y antisepsia, como mecanismos de protección del ser humano y del medio ambiente. 10. Interpretar y analizar los mecanismos de acción de los antimicrobianos y demostrar su sensibilidad o resistencia.

**Materiales y métodos.** Rastreo bibliográfico en bases de datos correspondientes a la Universidad Católica de Manizales. Gráficos e imágenes conservando los estilos de autor. Recomendaciones pedagógicas como estrategia para el aprendizaje de la microbiología básica. Diseño intro.

**Resultados.** Diseño de material de acuerdo a la intencionalidad de formación. Crear conciencia en los estudiantes para desarrollar educación continuada permitiendo cambio de actualización pertinente al momento actual. Motivación del grupo de estudiantes en el RA.

**Conclusiones.** Utilizar la virtualidad como estrategia y herramienta en los estudiantes los cuales interactúan a menudo con los sitios web y pueden encontrar material de estudio claro, preciso y sustentado en el aprendizaje de la temática. Creación de una página web.

#### TLP-644. Comparative analysis of the presence of *Bifidobacterium* spp. in children feed with breast milk and formula milk

Miriam Rodriguez F.\*, Aline Ignacio, Francisco C. Groppo\*, Ary C. Lopes\*, Mario Julio Avila-Campos\*, Viviane Nakano\*

\*Universidade de São Paulo - Instituto de Ciências Biomédicas Brasil.

**Introduction.** The intestinal microbiota of breast-fed infants is primarily composed by lactic acid bacteria, such as *Bifidobacteria* and *Lactobacilli*. Intestinal microbiota of formula-fed infants is diverse and in general contains *Bacteroides*, *Clostridium*, and *Enterobacteriaceae*. In this study, the presence of *Bifidobacterium* spp., *B. adolescentis*, *B. breve* and *B. infantis* was compared between breast-fed and formula-fed children in the first six months life.

**Materials and methods.** Stools were collected from 113 healthy children from 3 to 12 years old, and grouped as, 60 breast-fed, 18 formula-fed, and 35 breast- and formula-fed. The stools were streaked onto bifidobacterium medium, and the genus *Bifidobacterium* and *B. adolescentis*, *B. breve* and *B. infantis* were identified by PCR. A quantification of *Bifidobacterium* spp. Was also performed by using a SYBR green system.

**Results.** Our results show that *B. breve* was in small amount by culturing in all groups. *Bifidobacterium* spp. Was detected in 96.4% of children and no statistically significant differences ( $p = 0.704$ ) between groups

was observed. Considering each type of feeding was noted a moderate and significant ( $p = 0.037$ ) correlation between age and number of isolated bacteria in formula-fed children, suggesting that older children show a lower concentration of *Bifidobacterium* spp., and no correlation in breast-fed children ( $p = 0.753$ ) or breast- and formula-fed ( $p = 0.515$ ) was observed.

**Conclusions.** In this study, no significant difference regarding to *Bifidobacterium* spp., *B. adolescentis*, *B. breve* and *B. infantis* as well as the type of feeding that these children received at birth. However, it is important to emphasize the breastfeeding due to the numerous benefits to children and mothers. E-mail: miriamfernandes@usp.br; mariojac@usp.br; vivinkn@usp.br. Financial support: capes, CNPQ 158799/2012-7.

#### TLP-645. Molecular characterization of *Campylobacter coli* strains isolated from different sources in Brazil

Carolina Nogueira G.\*, Jaqueline Passaglia\*, Roberto Antonio de Souza\*, Fábio Campioni\*, Juliana Pfrimer F.\*

\*Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto- USP Brasil.

**Introduction.** *Campylobacter coli* is an important causative agent of human diarrheal diseases worldwide. In Brazil, *C. coli* is not usually studied, therefore studies that molecularly characterize strains of this species are of important. Objectives: the aims of this study were to genotype and investigate the presence of some virulence genes of *C. coli* strains.

**Materials and methods.** A total of 47 *C. coli* strains isolated from humans (6), animals (14), the environment (18) and food (9) between 1995-2011 in Brazil were studied. For PFGE, genomic aDNA was digested with 40u of *smal* and the fragments resolved in a CHEF-DRIII. The presence of 11 virulence genes was searched by PCR. Data were analyzed by bionumerics 7.1 version software and the dendrogram constructed by UPGMA method and dice similarity coefficient.

**Results.** All the 47 strains studied presented the genes FLAA and *cadf*. The genes CDTB and *flha* were found in 9 strains. Otherwise, CIAB, IAMA, CDTA, CDTC, DOCA, WLAN and VIRB11 genes were not found. A high genomic diversity of more than 48.5% was observed among the strains. However, 31 strains presented a high genotypic similarity of more than 80% and were grouped in six clusters. Cluster a comprised 8 isolates from animals and environment. Cluster B comprised 7 humans and food isolates. Cluster c comprised 4 isolates from animals, environment and humans. Cluster d comprised 3 indistinguishable food strains. Cluster e comprised 7 isolates from environment, animals and humans. Cluster f comprised 2 indistinguishable environment strains.

**Conclusions.** The high discriminatory power of PFGE confirmed the heterogeneity of the *C. coli* studied. However, the high similarity (>80%) among some strains of animals, environment, humans and food suggests that a possible contamination occurred between these clinical and non-clinical sources in Brazil. The presence of important virulence genes indicates the pathogenic potential of those strains.

#### TLP-646. Cepas Antárticas producen compuestos antimicrobianos específicos contra *Porphyromonas gingivalis*

Diana Schofield\*, Catalina Reyes\*, Alejandro Gran\*, Luis Saona\*, Darna Venegas\*, Anilei Hoare\*, José Manuel Pérez\*, Denisse Bravo\*

\*Bionanotechnology And Microbiology Laboratory, Center For Bioinformatics And Integrative Biology (CBIB), Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Andres Bello. Laboratorio de Microbiología Oral, Facultad de Odontología, Universidad de Chile. Chile.

**Introducción.** La periodontitis es una enfermedad infecciosa multifactorial responsable de la destrucción de estructuras de soporte del diente. Esta patología se produce por una disbiosis en la biopelícula subgingival, en el cual la bacteria *porphyromonas gingivalis* tiene un papel clave. El tratamiento actual de la periodontitis se basa en la remoción mecánica de la biopelícula subgingival y el uso de antimicrobianos de amplio espectro. Así, se remueven tanto microorganismos asociados a enfermedad como a salud. Por ello, es necesario contar con antimicrobianos orientados a atacar específicamente a los patógenos responsables de la enfermedad. El estudio de compuestos producidos por microorganismos extremófilos podría aportar en este sentido. El objetivo de este

trabajo fue obtener compuestos antimicrobianos derivados de bacterias Antárticas para el control de bacterias asociadas a enfermedades periodontales.

**Materiales y métodos.** Muestras de suelo antártico se resuspendieron en medio LB. Luego, se sembraron 100 µl del sobrenadante en placas LB y se incubaron a 37°C por 24 h. Para seleccionar las colonias con actividad antibacteriana específica contra *P. gingivalis*, se crecieron colonias de las cepas Antárticas en medio lb por 7 días y luego se centrifugaron recuperando el sobrenadante. Finalmente, mediante ensayos por difusión se analizaron los sobrenadantes libres de célula en placas con *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* y *P. gingivalis*. Se seleccionaron las cepas con actividad antibacteriana específica contra *P. gingivalis*.

**Resultados.** Nuestros resultados muestran que del total de 113 cepas Antárticas analizadas, 10 fueron capaces de secretar compuestos antibacterianos con actividad contra *P. gingivalis*. No encontramos actividad antimicrobiana de estas cepas contra *E. coli*, *S. aureus* y *S. typhi*, indicando que existe especificidad sobre *P. gingivalis* de las 10 cepas productoras de antimicrobianos, 9 son Gram positivo y sólo una Gram negativo.

**Conclusiones.** En este trabajo se determinó que 10 cepas Antárticas son capaces de generar compuestos antimicrobianos secretables específicos contra *P. gingivalis*.

### TLP-647. Perfil de susceptibilidad aos antimicrobianos de *Escherichia coli* comensal e diarreioagênica isoladas de amostras fecais de crianças sem diarreia

Miriam Rodriguez F.\*, Aline Ignacio\*,  
Mario Julio Avila-Campos\*, Viviane Nakano\*

\*Universidade de São Paulo - Instituto de Ciências Biomédicas Brasil.

**Introdução.** *Escherichia coli* pertence a um grupo heterogêneo de bactérias tipicamente não patogênicas e que fazem parte da microbiota intestinal de humanos e animais. Algumas cepas possuem genes de virulência e em algumas situações podem ocasionar doenças, sendo denominadas *E. coli* diarreioagênicas (DEC). O objetivo desse estudo foi avaliar o perfil de susceptibilidade de cepas comensais e diarreioagênicas de *E. coli* em crianças com e sem antibióticoterapia.

**Materiais e métodos.** Foram coletadas amostras fecais de 30 crianças sem uso de antibióticos e 31 crianças em antibióticoterapia, todas sem diarreia. O isolamento foi realizado em ágar macconkey e a identificação em nível de espécie por PCR. Os patótipos de *E. coli* foram identificados por multiplex-PCR pela presença dos genes de virulência. A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada pelo método de microdiluição, testando-se onze drogas.

**Resultados.** Foi observada elevada porcentagem de resistência entre os isolados (10,6 a 100%), principalmente no grupo com antibióticoterapia. No grupo controle foi observada elevada resistência para nitrofurantoína (93,3%), ampicilina (77,7%) e cloranfenicol (46,6%). Todas as cepas dec apresentaram resistência para nitrofurantoína, independentemente do grupo analisado, e nenhum padrão comum de resistência foi observado nos grupos com e sem antibióticoterapia, evidenciando padrões de resistência bem definidos para cada grupo.

**Conclusiones.** Os resultados deste estudo ressaltam a magnitude do problema da resistência bacteriana aos antimicrobianos, e mostra a urgente necessidade da vigilância e controle desse fenômeno, pela utilização de métodos baratos e sensíveis para monitorar continuamente a susceptibilidade dessas bactérias. Apoio financeiro: capes, CNPQ 158799/2012-7.

### TLP-648. Avaliação microbiológica do leite pasteurizado comercializado na cidade de Tucuruí, Pará, Brasil

Jasna Letícia Pinto P.\*, Beatriz Costa R.\*, Luciana Mendes F.\*

\*Instituto Federal de Educação, Ciência E Tecnologia Do Pará - Campus Tucuruí Brasil, Marcos Felipe Bentes Cansação Pereira.

**Introdução.** O leite é um alimento de elevado valor nutritivo em função do teor de proteínas, sais minerais, carboidratos gorduras e vitaminas, elementos fundamentais na dieta humana. Torna-se assim, um alimento ideal para o crescimento de vários microrganismos que

surgem em função de deficiências higiênicas-sanitárias e/ou problemas no tratamento térmico durante o processo de produção, armazenamento e distribuição do alimento. A técnica utilizada para a descontaminação de microrganismos patogênicos do leite é a pasteurização, que torna o produto inócuo ao consumo humano. A legislação Brasileira estabelece que a pasteurização deva ser realizada a temperaturas entre 72°C a 75°C por 15 a 20 segundos. Neste contexto, o presente trabalho realizou a avaliação microbiológica do leite pasteurizado de todas as marcas do produto comercializado em diferentes estabelecimentos na cidade de Tucuruí-PA.

**Materiais e métodos.** As avaliações foram feitas conforme os parâmetros exigidos pela anvisa (RDC Nº 12 de 02 de janeiro de 2001), ou seja, a presença/ausência de *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, além da determinação de coliformes totais e termotolerantes.

**Resultados.** Os resultados microbiológicos demonstraram ausência de *Salmonella* sp. Em 100% das amostras analisadas (n=7), estando assim de acordo com o padrão estabelecido pela legislação vigente, que preconiza a sua ausência em 25g. Em relação à contagem de *Staphylococcus aureus*, constatou-se que quatro amostras (57,14%) estavam contaminadas, sendo que uma apresentou incontáveis colônias. Foi observada a presença de coliformes totais em apenas uma amostra (14,28%), com valor de 2 x 10 nmp/g, estando de acordo com a legislação que preconiza um valor de 4 nmp/g. E pôde-se verificar a ausência de coliformes termotolerantes em todas as amostras (100%) analisadas.

**Conclusiones.** Os resultados deste trabalho evidenciaram que o leite pasteurizado comercializado na cidade de Tucuruí-PA apresentam, no geral, uma qualidade microbiológica satisfatória em relação aos padrões de qualidade exigidos pela legislação vigente.

### TLP-649. Avaliação do potencial probiótico in vitro de Lactobacilos de queijo minas artesanal

Leonardo Borges A.\*, Andréa Vieira\*, Sheyla Moura C.\*,  
Rafael Wesley B.\*, Silvia Helena Sousa P.\*, Felipe Machado de  
Santana\*, Marcelo Resende de Souza\*, Jacque Robert Nicolli\*

\*Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) Brasil.

**Introdução.** Microbiotas de derivados de leite têm em comum com a microbiota intestinal humana a presença em dominância e sub-dominância de bactérias do filo firmicutes, em particular do gênero *Lactobacillus*. Dessa forma, lactobacilos de diferentes isolados têm sido avaliadas quanto ao seu possível potencial probiótico. O objetivo do estudo foi de avaliar o potencial probiótico *in vitro* de lactobacilos isolados de queijo minas artesanal através de antagonismo por co-cultivo e sobrenadante.

**Materiais e métodos.** Os lactobacilos foram isolados de queijo minas artesanal do estado de mg e identificadas por testes morfotintórias e moleculares (PCR ardra 16S-23S), sendo submetidos a testes prévios de antagonismo "spot-on-the-lawn", resistência a ácidos e sais biliares e susceptibilidade à antimicrobianos. Dessa forma espécies de *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus hilgardii* e *Lactobacillus rhamnosus* foram selecionadas para os testes de co-cultivo e sobrenadante. O co-cultivo foi realizado com culturas mútuas dos lactobacilos e *S. typhimurium* em inóculos de 1%, em caldos MRS e BHI/18 h, sendo seu produto cultivado em ágar MacConkey por 24 h/37°C. Já o teste de sobrenadante foi realizado através da filtragem de substâncias (puras e neutralizadas para pH neutro) provenientes do sobrenadante das amostras duplamente ativadas, sendo posteriormente adicionados em um inóculo de 1% de *S. typhimurium* e incubado/18 h. Sendo seu resultado plaqueado ágar Macconkey e incubadas por 24 h/37°C.

**Resultados.** As amostras de lactobacilos conseguiram antagonizar significativamente *S. typhimurium* quando crescidas em meio MRS frente ao meio BHI do qual essas amostras não foram capazes de inibir o crescimento do patógeno (p<0,001). Os resultados do teste de antagonismo por sobrenadante demonstram o efeito antagonístico direto dos ácidos orgânicos produzidos pelas bactérias ácido lácticas contra *S. typhimurium*, uma vez que houve diferença significativa entre os meios puros e neutralizados (p<0,001).

**Conclusiones.** O antagonismo contra *S. typhimurium* em co-cultivo e sobrenadante evidencia influência do ácido produzido pelos lactobacilos na sua ação antagonística.

### TLP-650. Characterization of the *in vitro* binding ability of O26:H11 atypical enteropathogenic *Escherichia coli* via cellular fibronectin

Claudia Trigo Pedroso de M.\*, Sarita Schneider R.\*, Ângela Silva Barbosa\*, Juliana Moutinho P.\*, Waldir Pereira Elias\*, Daniel Carvalho P.\*, Mariana Izquierdo\*, Mauricio J. Farfan\*, Roxane Maria\*

\*Instituto Butantan, Brasil.

**Introduction.** Enteropathogenic *Escherichiacoli* (EPEC) are distinguished mainly by the presence of EPEC adherence factor plasmid (EAF) in typical EPEC (TEPEC) and the absence of this plasmid in atypical EPEC (AEPEC). The bundle-forming pili (BFP) is lack in AEPEC, thus the adherence to intestinal cells is mediated by others virulence factors, as accessory adhesins described in other pathogenic *E. coli* strains. Extracellular components of matrix (ECM) of eukaryotic cells are commonly recognized by bacterial adhesins. Therefore, binding to ECM proteins may facilitate colonization, invasion and/or signaling by intestinal pathogens. Some proteins as outer membrane protein a (OMP), flagellin (FLIC) and *E. coli* gene product (GROEL) have been described either as involved in adhesion, colonization, invasion and dissemination or as major antigens in many important pathogens. Previous results from our group demonstrated that two isolates O26:H11 serotype, BA2103 and BA2459, presented high binding to laminin and fibronectin components. The aims of this work was to investigate the influence of ECM in the adhesion of BA2103 to epithelial hep-2 cells and identified which proteins were involved in the ECM binding.

**Materials and methods.** The binding of ba2103 to ECM proteins was verified by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The adhesion pattern of the isolate in hep-2 isolate changed after the incubation which each ECM proteins.

**Results.** Three proteins of apparent molecular weight of 107, 52-48 and 35 kda were visualized by western blotting after ba2103 and ECM proteins incubation. Finally two proteins, flagellin (50 kda) and groel (52 kda) were identified by mass spectrometry after fibronectin-associated immunoprecipitation.

**Conclusions.** Our results suggest that the interaction between BA2103 and ECM proteins works as a cross talk between bacterial and host cell. Furthermore, our data also showed that flagellin and groel were recognized by fibronectin as a presumed accessory that can be involved in this adhesion process.

### TLP-651. Antimicrobial effect of eugenol on biofilm of *Streptococcus agalactiae* harboring different types of pilus genes

Renata Perugini Biasi-Garbin\*, Eliane Saori Otaguiri\*, Alexandre Tadachi Morey\*, Mayara Fernandes Pereira da Silva\*, Ana Elisa Belotto Morquette\*, Márcia Regina Eches Perugini\*, Lucy Megumi Yamauchi\*, Sueli Fumie Yamada-Ogatta\*

\*Universidade Estadual de Londrina Brasil.

**Introduction.** *Streptococcus agalactiae* (group B *Streptococcus*-GBS) is an opportunistic pathogen, which can cause severe infections in newborns. These infections are strongly associated with maternal vaginal colonization by GBS. The presence of pili in different bacterial species seems to be important for the colonization of host cells, as well as biofilm formation on various surfaces. In general, the biofilm is resistant to most available antimicrobials. Thus, the study of natural products with antibiofilm activity may contribute to the development of new and more effective antimicrobial agents. In this study, GBS isolates were characterized for the presence of pili and biofilm formation, and analyze antibiofilm activity of eugenol.

**Materials and methods.** Clinical isolates of GBS, obtained from vaginal-rectal swabs of colonized women seen at the university hospital of Londrina, Paraná, Brazil were used in this study (ethic committee cep/uel 193/2012). PCR was performed for detection of pili encoding genes. The viability of the biofilm formed on polystyrene surface, treated or not-treated with different concentrations of eugenol, was evaluated by the xtt reduction assay.

**Results.** GBS isolates harbored one or two pilus encoded genes (PI-1, PI-2A or PI-2B) and all were able to form biofilms on polystyrene surface. Eugenol inhibited biofilm formation of all isolates, with a reduction of viability ranging from 42 to 82% at concentration of 0.25%, and 62 to 90% at concentration of 1%.

**Conclusions.** All GBS isolates were able to form biofilm, regardless of the presence of specific type of pilus. In addition, the antibiofilm activity of eugenol indicates its potential application in the control and/or therapy of infections caused by GBS.

### TLP-652. Identificación y caracterización de aislamientos clínicos de *Staphylococcus* spp. causantes de sepsis y diseño de péptidos antibiopelícula

Glady Pinilla B.\*, Liliana Muñoz M.\*, Jeannette Navarrete O.\*, Luz Mary Salazar P.\*, Bibiana Chavarro P.\*, Betsy Castro\*

\*Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Universidad Nacional de Colombia, Universidad El Bosque Colombia.

**Introducción.** La sepsis es un síndrome clínico caracterizado por una infección sistémica; los *Staphylococcus* spp. involucrados en estas infecciones, además de haber desarrollado varios mecanismos de resistencia, incrementan su virulencia con la producción de biopelícula. Por lo anterior, surge la necesidad de buscar alternativas al uso de antibióticos, como lo son los péptidos antimicrobianos, los cuales pueden ser usados como principios activos en la terapéutica específica antibiopelícula. Objetivo general: caracterizar molecularmente aislamientos clínicos de *Staphylococcus* spp. Causantes de sepsis y diseño de péptidos antibiopelícula como posible terapia alternativa.

**Materiales y métodos.** Se estudiaron 53 aislamientos de *Staphylococcus* spp., clasificados genotípicamente. Mediante PCR múltiple se determinó el integron clase 1, genes para enzimas bifuncionales, así como cassette AAC y AADA2, de resistencia a aminoglucósidos; 35 aislamientos fueron caracterizados para producción de biopelícula. Finalmente, mediante la técnica FMOC, se diseñaron tres péptidos antimicrobianos con especificidad antibiopelícula.

**Resultados.** El operon ICA ADDB e ICAR y el integron clase 1 completo, se encontraron en el 88.9 % y el 79.3% de los aislamientos respectivamente. El gen de resistencia a aminoglucósidos AAC(6')APH(2'') en el 95 % y el casete AAC en el 86.4%.

**Conclusiones.** La presencia del integron clase 1, en ADN cromosomal como plasmídico, la presencia de genes y cassette de resistencia a aminoglucósidos y del operon ICA ADDB e ICAR, relacionado con la producción de biopelícula, son factores incidentes en la capacidad de virulencia de estos microorganismos. En cuanto a los 3 péptidos antimicrobianos diseñados a partir de la proteína reguladora ICAR, su baja actividad hemolítica evidencia confiabilidad para su uso en ensayos *in vitro* y pueden ser postulados como moléculas candidatas en el diseño de nuevos fármacos con especificidad antibiopelícula, dando respuesta a nuevas y novedosas estrategias para contribuir con la contención de la resistencia bacteriana, como problema de salud pública.

### TLP-653. Susceptibilidade antimicrobiana de isolados clínicos de *Staphylococcus* spp. provenientes de pacientes oncológicos de Recife-PE

Marcelle Aquino Rabelo M.\*, Natália Regina Souza Da S.\*, Paula Regina Luna de A.\*, Stephanie Targino Da S.\*, Paulo Sérgio Ramos A.\*, Ana Catarina de Souza Lopes A.\*, Maria Amélia Vieira M.\*

\*Departamento de Medicina Tropical- Universidade Federal de Pernambuco Brasil.

**Introdução.** Centros de terapia intensiva concentram as maiores taxas de infecções associadas aos cuidados em saúde e são considerados epicentros de emergência da resistência antimicrobiana. As infecções bacterianas são umas das principais causas de complicações em pacientes com cânceres e as infecções estafilocócicas estão entre as mais prevalentes neste grupo de pacientes. *Staphylococcus aureus* por sua enorme capacidade de adaptação e resistência, tornou-se uma das espécies de maior importância nesse contexto. O objetivo deste trabalho é traçar um perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos em cepas de *Staphylococcus* spp. provenientes de pacientes de oncologia.

**Materiais e métodos.** Foram obtidos 47 isolados de *Staphylococcus* spp. de pacientes de oncologia do hospital do câncer de pernambuco, entre os meses de dezembro de 2012 e julho de 2014, identificados através dos procedimentos padrões. Esses isolados foram submetidos a teste de susceptibilidade pela técnica de disco-difusão. As amostras com perfil fenotípico resistente à oxacilina e cefoxitina

foram submetidas à reação em cadeia da polimerase (PCR) para detecção do gene *mecA*.

**Resultados.** 93,62% dos isolados estudados foram identificados como sendo da espécie *S. aureus* e 78,72% (37/47) foram resistentes a penicilina; 10,64% (5/47) a oxacilina; 14,90% (7/47) a clindamicina, ciprofloxacina e cefoxitina e 31,91(15/47) a eritromicina. Todos os isolados foram sensíveis à vancomicina. Observou-se que 5 (10,64%) isolados apresentavam resistência à oxacilina e cefoxitina, porém quando submetidos à PCR não apresentaram o gene *MECA*.

**Conclusões.** Pacientes de oncologia são imunocomprometidos e, portanto, mais susceptíveis à infecções. O uso indiscriminado de antibióticos aumenta o risco de seleção de cepas bacterianas resistentes, principalmente *S. aureus*, considerado o mais comum agente de infecções hospitalares. Apesar de uma frequência dentro do esperado de cepas resistentes à oxacilina, medidas de controle de infecção hospitalar mostram-se alternativas mais propícias para a diminuição de número de casos de futuras infecções por cepas resistentes.

### TLP-654. Phenotypic and molecular characterization of enteric *Salmonella* collected stool samples from children 0-10 years old in the city of Manaus Amazonas

\*Andréia Santa Rita\*, Carolinie B. N. Da Cruz\*, Ivanildes Santos\*, Paula Takita Serra\*, Antonio Balieiro\*, Patricia P. Orlandi\*

\*Instituto Leônidas E. Maria Deane – ILM-D- Fiocruz Brasil.

**Introduction.** *Salmonella* sp. Lives in the intestinal tract of many warm and cold blooded animals. *Salmonella* can cause mild gastroenteritis and severe invasive diseases. Those are responsible for 216 thousands deaths/year, and are most commonly linked with areas of low socioeconomic status and sanitation. The aim of this study was to describe the genotypic and phenotypic characteristics of *Salmonella* isolated from countryside and urban areas of Manaus/AM.

**Materials and methods.** Samples were collected from children 0-10 years old with and without diarrhea in the urban area and in the countryside samples were collected from stools of adults, children, animals, and the water. Colonies were then selected with morphological characteristics for *Salmonella* and sown in biochemical tests for phenotypic characterization and identification. We performed the amplification and sequencing of 16S rRNA and analyzed genetic similarity using the pulsed field technique for genotypic characterization and identification of these strains.

**Results.** In total, 22 *Salmonella* samples were characterized, 3 of *S. paratyphi* b, 3 of *S. javiana*, 3 of *S. enterica* subsp. *arizonae*, 3 of *Salmonella enterica*, 3 of *Salmonella* sp., 2 *S. bareilly*, 2 of *S. typhimurium*, 1 of *S. agona*, 1 *S. stanley* and 1 of *S. enteritidis*. Among the 22 isolates, 100% were sensitive to ciprofloxacin, 10 (46%) were resistant to nitrofurantoin and 8 (36, 3%) were resistant to sulfametaxazol + trimethoprim. These strains have the ability to cause infections. All of them presented virulence factors with invasion, adhesion and survival capacity into the cell. The genetic similarity analysis generated different profiles among clinical isolates and wild isolates.

**Conclusions.** We must call attention to this type of research and continue focusing on improving the diagnosis and decreasing resistance to antibiotics and ultimately the creation of programs for control and prevention of that disease.

### TLP-655. Prevalence and virulence factors of asymptomatic carriers of *Staphylococcus aureus* isolated from students

Ana Paula Becker\*, Maria Eugênia Bolasell\*

\*Centro Universitário Franciscano Brasil.

**Introduction.** *Staphylococcus aureus* is a common bacteria causing bloodstream infections, respiratory, skin or gastrointestinal, usually found in the human normal flora, such as skin, soft tissue and nasal. In the last decade, there has been an increase in the number of methicillin-resistant (MRSA), hospital or community origin strains, thus revealing a problem of public health. Given the above, this study aimed to estimate the prevalence of *S. aureus* in healthcare students.

**Materials and methods.** We collected 36 samples from the students nasal cavity studying biomedicine and physiotherapy. Samples were collected with sterile swab and transported to the Microbiology Laboratory of

Centro Universitário Franciscano. The samples were cultured in mannitol salt medium and incubated at 37°C for 24 h. The colonies grown were identified by biochemical tests. Resistance to oxacillin was evaluated with cefoxitin (30 µg) disk, and interpreted according to CLSI 2014 and samples classified as MRSA or MSSA. Bacteria (3,0x10<sup>8</sup> per well) were allowed to form biofilms overnight at 37°C in 96-well flatbottom microplates.

**Results.** We found 14 positive samples. Of these, one 1 (7.14%) was methicillin-resistant (MRSA). All isolates were submitted to the tests of biofilm formation, 1 isolate was not able to form biofilm, 7 (50%) were moderate biofilm producers, 3 (21.43%) was weak producers and 3 (21.43%) were strong biofilm producers.

**Conclusions.** Studies suggest that health professionals acquire the bacteria by contact with the hospital, our study suggests that some may leave the academic environment already colonized. Furthermore, although MRSA is typically hospital, there are reports of its spread in the community and this work corroborate with these data. More studies are necessary to understand in depth the role of virulence in nasal carriers.

### TLP-656. *Staphylococcus* spp. resistentes à metilina isolados de portadores de feridas crônicas na atenção básica de um município

Mayara Regina Pereira\*, Lara Stefânia Netto de Oliveira Leão-Vasconcelos\*, Silvana de Lima Vieira Dos Santos\*, Érika Goulart Rodrigues\*, Moisés Moraes Inácio\*, Thais Maitan Vieira\*, José Daniel Gonçalves Vieira\*

\*Universidade Federal de Goiás Brasil.

**Introdução.** As unidades básicas de saúde se constituem locais de referência para a população portadora de feridas crônicas e a sala de curativo é o espaço destinado ao tratamento dessas lesões. Tais lesões são frequentemente colonizadas por diferentes espécies de micro-organismos, desses destacam-se as bactérias. Conhecer o perfil fenotípico desses agentes provenientes dessas lesões impactará positivamente no cuidado seguro e na terapêutica assertiva. Entretanto, estudos direcionados a temática são escassos, impossibilitando uma assistência de qualidade do ponto de vista da segurança do trabalhador e do paciente. Objetivo: investigar o perfil fenotípico de *Staphylococcus* spp. Isolados de feridas crônicas de pacientes atendidos em salas de curativos da atenção básica.

**Materiais e métodos.** Trata-se de um estudo epidemiológico do tipo analítico, realizado em cinco salas de curativos da atenção básica de saúde de um município do Brasil. Coletou-se swabs do leito das feridas conforme técnica proposta por Levine e colaboradores. Os espécimes foram cultivados em meios de cultura seletivos e os micro-organismos caracterizados por metodologias padronizadas.

**Resultados.** Participaram do estudo 30 portadores de feridas, com 30 amostras analisadas, das quais, constatou-se 13 (43,3%) culturas positivas para *Staphylococcus* spp. Destas 13 (100%), isolou-se 15 *Staphylococcus* spp., sendo que seis (40,0%) eram resistentes à metilina e um (6,7%) apresentou resistência induzida ao grupo MLSB. Ainda foram observados que 93,0% deles eram resistentes à penicilina e seis (40,0%) à eritromicina.

**Conclusões.** A presença de *Staphylococcus* spp. Nas lesões de usuários das salas de curativos da atenção básica, com perfil de resistência aos antibióticos como a metilina e ao grupo MLSB são indicadores importantes para a cadeia epidemiológica desses agentes entre usuário, trabalhador e ambiente. Os profissionais da área da saúde prestadores de assistência a esta população devem rever suas condutas terapêuticas, pois os achados sugerem falhas nas medidas preventivas e assistenciais.

### TLP-657. Micobacterias no tuberculosis una amenaza emergente causante de enfermedad pulmonar?

Ingrid Tatiana Gomez M.\*, Claudia Regina Llerena P.\*, Angie Paola Zabaleta V.\*

\*Instituto Nacional de Salud Colombia.

**Introducción.** El complejo *Mycobacterium avium* (MAC) y *Mycobacterium abscessus* son las principales especies de micobacterias no tuberculosis causantes de enfermedad pulmonar después de *M. tuberculosis*, sin embargo la literatura de su epidemiología es escasa. Clínicamente la infección pulmonar ocasionada por estos agentes es de difícil y prolongado tratamiento, inicia de forma asintomática hasta bronquiectasia severa, normalmente puede afectar a personas fumadoras, mujeres de



edad mayor con o sin antecedentes de enfermedad pulmonar, personas con una inmunosupresión. Actualmente se ha reportado a nivel mundial un incremento del número de casos de enfermedad pulmonar causada por micobacterias no tuberculosas. Objetivo: realizar un análisis descriptivo retrospectivo de los aislamientos identificados como MAC y *M. abscessus* en personas con enfermedad pulmonar durante los años 2012 a 2013 en Colombia.

**Materiales y métodos.** Se analizaron 390 aislamientos, clasificando los resultados de acuerdo al tipo de muestra, micobacteria identificada, presencia de coinfección con VIH, EPOC, diabetes y antecedente de tratados con tuberculosis.

**Resultados.** Los aislamientos evaluados 43(11%) fueron identificados como *M. abscessus* de los cuales el 17(39%) corresponden a muestras de tipo pulmonar. Se identificó MAC en un 43(11%); de estos 32(73.6%) provienen de muestras pulmonares y 11(25.5%) de muestras extrapulmonares y/o sin dato. Se identificaron cinco pacientes VIH, seis con EPOC, cuatro con desnutrición, dos con inmunosupresión, dos con diabetes y cinco con antecedentes de tratamiento antituberculoso. Solo siete pacientes con enfermedad pulmonar por *M. abscessus* presentaban un factor de riesgo, de los cuales seis presentaban compromiso pulmonar para el desarrollo de la fisiopatología.

**Conclusiones.** La presencia de MAC tiene relación con algunos factores de riesgo que condicionan la presencia de la enfermedad pulmonar, para el caso de *M. abscessus* no se encontró una asociación que permita esta relación, afectando a personas sin factores de predisposición.

### TLP-658. Papel de HFQ na regulação dos fatores de virulência *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC)

Ruiz Renato M.\*, Couto Samuel F. C.\*, Culler Hebert F.\*  
Juliana Suyama Higa\*, Min Jung Yang\*,  
Vanessa Bueris\*, Marcelo Palma Siricli\*

\*Instituto Butantan Brasil.

**Introdução.** Amostras de *Escherichia coli* enteropatogênicas fazem parte de um importante grupo de patógenos capazes de causar diarreia. As EPEC podem ser classificadas em típica e atípica, baseado na presença do plasmídeo EAF. As amostras de EPEC apresentam em seu genoma uma ILHA de patogenidade denominada região *lee*, na qual estão contidos os genes relacionados à formação da lesão (A/E). A regulação gênica da região *lee* é multifatorial e o principal regulador o gene *ler*. Até o momento não existem trabalhos sobre a participação de HFQ em EPEC. O presente estudo analisa o papel de HFQ na regulação dos fatores de virulência de EPEC típica (O127:H6) e atípica (O55:H7).

**Materiais e métodos.** A mutagênese do gene HFQ foi obtida através do sistema  $\lambda$  Red de recombinação alélica.

**Resultados.** A mutagênese do gene HFQ foi obtida através do sistema  $\lambda$  Red de recombinação alélica. As amostras mutantes apresentaram uma diminuição na capacidade de adesão e formar a lesão a/e. Análise transcricional dos mutantes revelou uma significativa diminuição na transcrição do gene *ESPA* e do gene *EAE*. Foi possível evidenciar uma diminuição da motilidade das amostras mutantes. A análise *in silico* revelou a possibilidade do dobramento natural do mRNA *ler*, bloqueando o sítio de ligação do ribossomo.

**Conclusões.** Aqui demonstramos a necessidade de HFQ para a transcrição dos genes responsáveis pela lesão A/E.

### TLP-659. Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC): serotypes, toxin profiles and epidemiological features of strains causing human infections in Brazil

Carolina Sorgatto Amorim\*, Sandra Regina Pinheiro\*,  
Tania Mara Ibelli Vaz\*, Kinue Irino\*, Luis Fernando Dos Santos\*

\*Instituto Adolfo Lutz Brasil.

**Introduction.** Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) strains are a cause of diarrhea in the developing world, and also one of the causative agents of the so called traveler's diarrhea. ETEC disease is mediated by the action of heat-labile (LT) and/or heat-stable (ST) toxins. In Brazil, despite the importance currently attributed to pathotypes such as atypical enteropathogenic and enteroaggregative *E. coli* strains, infection due to ETEC still persists, being the bacteria regarded as the third most common cause of illness among diarrheagenic *E. coli*. The aim of this study

was to investigate the epidemiological features, serotypes and toxin profiles of ETEC strains in Brazil during the period 2007-2014.

**Materials and methods.** Fifty five strains were analyzed. They were recovered from human sources during epidemiological investigations performed in different Brazilian states. Serotypes were determined by standard agglutination tests. Genes for Lt or st toxins were searched by colony hybridization or PCR assays.

**Results.** In the period studied infections due to ETEC occurred in seven distinct Brazilian states, being the majority of the cases registered in the southeast region, mainly São Paulo, and associated with outbreaks. No significant difference was observed regarding the sex of the affected individuals, however in relation to the age, most of the cases occurred in children under 10 years. Fourteen distinct serogroups were present. However, considering their association with the H antigens found, the majority of the strains belonged to only three serotypes, O6:H16, O25:H- and O128:H45. In relation to the toxigenic profiles, 25 (45%) of the strains harbored both Lt and ST genes, while 15 (27,2%) strains had Lt or st alone.

**Conclusions.** Shift in the virulence properties of ETEC, involving O antigens and toxin profiles, has been observed lately in some geographical areas. Our study showed that a diversity of serotypes was found in association with Brazilian ETEC isolates; however, in our settings, previously well-known serotypes still represent in the majority of the strains.

### TLP-660. Evaluación de la estructura taxonómica de la especie *Arcobacter cryaerophilus*

Luis Collado\*, Oscar Salgado\*, Violeta Lefiñanco\*, Jessica Caro\*

\*Instituto de Bioquímica Y Microbiología, Facultad de Ciencias,  
Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

**Introducción.** El género *Arcobacter* incluye actualmente 18 especies, tres de las cuales (*Arcobacter butzleri*, *Arcobacter cryaerophilus* y *Arcobacter Escherichia coli*) son consideradas patógenas emergentes. La especie *A. cryaerophilus* se ha asociado a gastroenteritis en humanos y a abortos, mastitis y diarrea en animales de granja. Lamentablemente esta especie posee una estructura taxonómica ambigua que no ha logrado ser clarificada. Algunos autores incluso han postulado que pueda tratarse de un complejo de especies. Sin embargo, los intentos previos por resolver su taxonomía mediante pruebas fenotípicas y análisis moleculares han mostrado resultados no concluyentes, probablemente por el uso de cepas poco representativas de la diversidad de esta bacteria. Por lo tanto, el principal objetivo de este trabajo fue resolver la situación taxonómica de *A. cryaerophilus*.

**Materiales y métodos.** El estudio se realizó utilizando un grupo de 42 cepas obtenidas de diversas fuentes (heces de humanos y animales, sangre de humano, mariscos y abortos de animales), de diversos orígenes geográficos (9 países distintos) y aisladas en un rango temporal amplio (1985-2013). El estudio taxonómico se desarrolló mediante caracterización fenotípica (17 pruebas bioquímicas, morfológicas y fisiológicas) y molecular (estudio filogenético de secuencias de múltiples genes).

**Resultados.** Los resultados obtenidos mediante el análisis individual y concatenado de los genes *GYRB*, *GYRA*, *RPOB*, *ATPA* y *CPN60* demostraron que las cepas se agrupan en dos clusters principales. El valor de similitud, de las secuencias del gen *RNAR 16S* de cepas representativas de estos dos clusters, esta por debajo del punto de corte propuesto para diferenciar especies bacterianas. Sin embargo, estas agrupaciones de cepas no se diferenciaron mediante las pruebas fenotípicas realizadas.

**Conclusiones.** Por lo cual concluimos que *A. cryaerophilus* es un complejo de dos genomovars. El único requisito para diferenciar formalmente estos genomovars en dos especies bacterianas distintas es una eventual diferenciación fenotípica, lo cual debería ser el objetivo de futuros estudios.

### TLP-661. Eficácia do teste de hodge modificado para detecção de KPC

Adriane Borges C.\*, Rita de Cássia Andrade M.\*,  
Marcelle Aquino R.\*, Armando Monteiro Bezerra N.\*,  
Maria Amélia Vieira M.\*, Ana Catarina Souza L.\*

\*Universidade Federal de Pernambuco, Brasil.

**Introdução.** Os carbapenêmicos são usados com frequência para tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-negativas multirresistentes. Dentre os mecanismos de resistência a esta classe de fármacos

destaca-se a produção de enzimas KPC (*Klebsiella pneumoniae carbapenemase*). Este mecanismo de resistência tem se disseminado mundialmente, limitando as opções terapêuticas. Objetivos: avaliar a eficácia do teste de teste de hodge modificado (MHT) em detectar KPC confrontando com a detecção genotípica por PCR pra BLAKPC, BLASHV, BLATEM e BLACTX-M.

**Materiais e métodos.** Foram analisados 14 isolados clínicos de *K. pneumoniae* provenientes de um hospital particular da cidade de Recife-PE. O MHT foi realizado conforme anderson *et al.* (2007), e a presença dos genes BLAKPC, BLASHV, BLATEM e BLACTX-M foi investigada por PCR.

**Resultados.** E discussão: o MHT foi eficaz na detecção de cinco isolados BLAKPC positivos, foi negativo para um isolado BLAKPC negativo e falhou na detecção desse mecanismo de resistência para cinco isolados. A falha em um destes testes pode ser explicada pelo fato de que o isolado não expressava essa resistência fenotípica aos carbapenêmicos (gene silencioso), o que pode explicar muitos episódios de insucesso terapêutico na tentativa de controle de infecções. Em relação aos quatro resultados falso-negativos obtidos, deve-se ao fato de que métodos moleculares são mais específicos que métodos fenotípicos para detecção de mecanismos de resistência. Entretanto, no Brasil é mais comum a ocorrência de resultados falso-positivos no MHT devido à presença do gene BLACTX-M à simultânea perda de porinas.

**Conclusões.** O teste de hodge modificado, apesar das limitações dos testes fenotípicos, é uma ferramenta laboratorial útil da triagem de mecanismos de resistência aos carbapenêmicos.

### TLP-662. Influência do gene BLAKPC na eficácia do teste de sinergia de disco duplo para detecção de ESBL

Adriane Borges C.\*, Rita de Cássia Andrade\*,  
Marcelle Aquino R.\*, Armando Monteiro B.\*,  
Maria Amélia Vieira M.\*, Ana Catarina de Souza L.\*

\*Departamento de Medicina Tropical-  
Universidade Federal de Pernambuco Brasil.

**Introdução.** *Klebsiella pneumoniae* é uma enterobactéria responsável por uma alta incidência de infecções hospitalares principalmente em pacientes imunocomprometidos. Estas infecções são causadas geralmente por cepas produtoras de ESBLs. Há várias técnicas fenotípicas e genotípicas para detectar esse mecanismo de resistência, porém a presença de vários mecanismos de resistência em um mesmo isolado pode dificultar esta detecção. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia do teste de sinergia de disco duplo (DDST) em detectar ESBL do tipo blactx-m na ausência e presença do gene BLAKPC.

**Materiais e métodos.** Foram analisados 24 isolados clínicos de *K. pneumoniae*, 10 isolados provenientes do hospital A e 14 isolados do hospital B, ambos de Recife-PE. O ddst foi realizado conforme vercauteren *et al.* (1997), e a presença dos genes BLASHV, BLATEM, BLACTX-M e BLAKPC foi investigada por PCR.

**Resultados.** Dentre as amostras do hospital A, o DDST foi positivo para seis isolados BLACTX-M positivos e foi negativo para 4 amostras que eram BLACTX-M negativas, ou seja, o DDST foi 100% eficaz na detecção de BLACTX-M. Dentre as amostras do hospital B (presença de BLAKPC neste hospital), o DDST foi eficaz para detecção de ESBL em dois isolados (na ausência de BLAKPC) e falhou na detecção de CTX-M em sete isolados. A falha em seis destes isolados deve-se a concomitante presença de BLAKPC, DDST positivo na ausência de BLACTX-M pode sugerir a presença de outras ESBLs nos isolados, como BLASHV e BLATEM.

**Conclusões.** O DDST é eficaz para detecção de ESBLs CTX-M em isolados negativos para BLAKPC, porém a presença de BLAKPC leva a resultados falso-negativos para ESBLs. É sugerida a adição de ácido borônico para inibição fenotípica de enzimas KPC.

### TLP-663. Prevalência de fatores associados à virulência de APEC em amostras de galinhas caipiras da região de Ribeirão Preto-SP, Brasil

Elisabete Schirato de O.\*, Marita Vedovelli C.\*, Clarissa Araújo B.\*,  
Livia Gerbasi B.\*, Fernando Antonio de Ávila\*

\*Univ. Estadual Paulista, Faculdade de  
Ciências Agrárias E Veterinárias Brasil.

**Introdução.** *Escherichia coli* patogênica para aves (APEC) é incriminada por uma variedade de doenças extra-intestinais nesses hospedeiros

e podem se manifestar na forma de infecções localizadas ou sistêmicas. Os mecanismos de virulência têm sido continuamente estudados e considerados multifatoriais, assim sendo, o conhecimento da genética bacteriana capaz de gerar tais mecanismos, pode auxiliar na identificação de amostras patogênicas isoladas de aves. Esse trabalho tem como objetivo verificar a prevalência de genes relacionados à virulência dos isolados a partir de amostras de fezes e de orofaringe coletadas de galinhas caipiras na região de Ribeirão Preto-SP.

**Materiais e métodos.** Para tanto, foram coletadas 50 amostras de fezes e 50 amostras orofaríngeas. Utilizou-se a técnica de multiplex-PCR, onde foram analisados a presença e/ou ausência de 10 genes associados à virulência, os quais são responsáveis pela capacidade de adesão, invasão, resistência sérica, toxinas e aquisição de ferro.

**Resultados.** Do total de 100 amostras analisadas, foram obtidos 26 isolados contendo genes relacionados à APEC. Dentre os 10 genes investigados, os isolados apresentaram no mínimo cinco e no máximo dez, com uma média de sete fatores de virulência por amostra. Todos os isolados deste estudo apresentaram o gene ISS, relacionado a resistência sérica, e o gene hlyf, relacionado à toxinas. A frequência dos demais genes observada nos isolados de *E. coli* foi 61,5% CVAC, 96,1% IRON, 96,1% OMPT, 69,2% IUTA, 92,3% SITA, 15,4% TSH, 30,8% IUCC e 84,6% TRAT.

**Conclusões.** Os dados deste estudo fornecem um panorama geral sobre as características de virulência de patótipo APEC isolados de galinhas caipiras da região de Ribeirão Preto-SP. Com isso, futuros trabalhos podem ser desenvolvidos baseados nessas características iniciais, além de outras técnicas que permitam comparar amostras de APEC e possam ajudar a elucidar sua forma de desenvolver enfermidades em diferentes hospedeiros.

### TLP-664. Standardization of inoculum preparation for *Mycobacterium abscessus* growth on MGIT 960 Tb exist system

Natalia Carvalho\*, Andreia R. Souza\*, Daisy N. Sato\*,  
Lucilaine Ferrazoli\*, André Luis Santos\*, Erica Chimara\*

\*Instituto Adolfo Lutz y Becton-Dickinson Brasil.

**Introduction.** *Mycobacterium abscessus*, the rapid grower (RGM) most frequent of pulmonary disease, is resistant to many antimicrobials. Minimal inhibitory concentration is the recommended method for drug susceptibility testing (DST), although it is more prone to subjectivity and, to more errors. Alternatively, fully-automated bactec *Mycobacterium* growth indicator tube 960 system (MGIT960)/epicenterv.6.20 equipped with the TB exist software has been used for slow growers as a more reliable method. Objective: standardize the inoculum preparation of *M. abscessus* in order to use MGIT960 as DST method for RGM.

**Materials and methods.** A bacterial suspension was used to make 5x10<sup>3</sup>, 10<sup>4</sup>, 5x10<sup>4</sup> and 10<sup>8</sup> dilutions of *M. abscessus* ATCC19977 culture on mueller-hinton broth. The suspensions were added to MGIT960 supplemented with 800 µl OADC. MGIT960 with 400 µl or without oadc were inoculated with 5x10<sup>3</sup> suspension, and the same dilution was added to mgit960 containing clarithromycin (cla). Additionally, 10<sup>4</sup> suspensions of one susceptible and one resistant isolate to cla were added to mgit960, 10<sup>2</sup> suspension to MGIT960 containing cla and to MGIT960 without OADC.

**Results.** Growth was detected on first day for 5x10<sup>3</sup> and 10<sup>4</sup> dilutions; on second day with 5x10<sup>4</sup>; and on third day with 10<sup>8</sup>. MGIT960 with 400 µl oadc and without OADC, both inoculated with 5x10<sup>3</sup> suspension presented growth at days 2 and 3, respectively. In the presence of 0.5, 1.0, 2.0, and 8.0 µg/mL CLA, growth was detected on days 5, 6, 7, and 12, respectively. Growth from *M. abscessus* susceptible and resistant isolates was detected in four days, except for the CLA-resistant isolate at 10<sup>2</sup> suspension, detected in three days.

**Conclusions.** This standardization is a first step to establish MGIT960 as DST for NTM rapid grower. Due to rapid growth, this study identified the need for growth starting on day four for the test to be interpreted. This condition was obtained by using a 10<sup>4</sup> suspension in mgit960 without OADC.

### TLP-665. *Arcobacter butzleri* and *Arcobacter cryaerophilus* isolated from swine and chicken meat in São Paulo – Brazil: antimicrobial susceptibility approach

Oliveira Maria Gabriela X.\*, Moreno Andrea Mücke\*, Spindola Maria Garcia\*, Gomes Vasco Túlio de Moura\*, Filsner Pedro Henrique de Lima\*, Silva Givago Faria R.\*o, Knöbl Terezinha\*

\*FMVZ-USP - Faculdade de Medicina Veterinária E Zootecnia-USP, Brasil.

**Introduction.** *Arcobacter butzleri* and *A. cryaerophilus* are emerging foodborne pathogens and belong to Campylobacteraceae family. The presence of these organisms in poultry and pig products are commonly associated with enteritis and sepsis in humans. Antimicrobial-resistant strains represent a public health concern. The aim of this study was to determine the antimicrobial susceptibility of *A. butzleri* and *A. cryaerophilus* strains isolated from chicken and pigs meat in São Paulo/Brazil.

**Materials and methods.** A total of 115 cuts of swine muscle and 105 of chickens were used for cultivation and isolation in JM broth and JM agar, incubated at 30°C for 72 h. Characteristics colonies were submitted to multiplex-PCR to identify species of the genus. After PCR confirmation we performed antimicrobial susceptibility by the minimum inhibitory concentration test (MIC) in plates with azitomicina, ciprofloxacin, erythromycin, gentamicin, tetracycline, florfenicol nalidixic acid, clindamycin and telithromycin.

**Results.** *Arcobacter* was isolated from 10.4% (12/115) of swine meat and 4.7% (5/105) of poultry meat. *A. cryaerophilus* was the most prevalent specie in swine meat (6%; 7/115). This species was detected in one sample of poultry meat (0.9%; 1/105). *A. butzleri* were detected in 4.3% (5/115) and 3.8% (4/105) from swine meat and chicken meat, respectively. The analysis of a. *Butzleri* mic showed resistance to clindamycin 94.4% (> 8 µg/mL), 77.7% florfenicol (> 8 µg/mL), 77.7% nalidixic acid (> 64 µg/mL), 11.1% ciprofloxacin (> 4 µg/mL) and 5.5% telithromycin (> 4 µg/mL).

**Conclusions.** Food of animal origin are incriminated for the transmission of *arcobacter* to humans. Our findings indicated the presence of *A. cryaerophilus* and *A. butzleri* in swine and poultry meat in São Paulo Brazil. Most of strains of *A. butzleri* were resistant to antimicrobials prescribed for *Campylobacteraceae* control. Acknowledgment: FAPESP and CAPES.

### TLP-666. Investigation of antimicrobial effect of hydroalcoholic extract of Urucum (*Bixa orellana*) against pathogenic bacteria

Adrielle Zagmignam\*, Rogério Coutinho das Neves†, Enzo Elder Costa R.\*, Aruanã Joaquim Matheus Costa Rodrigues P.\*, Leticia Torres C.\*, Lídio Gonçalves Lima N.\*, Adeliene Castro da Costa†, André Kipnis†, Ana Paula Junqueira K. †, Leticia Machado G.\*, Marco Aurélio Benini P.\*, Eduardo Martins de S.\*

\*Laboratório de Imunologia e Microbiologia das Infecções Respiratórias. Programa de Pós-Graduação em Biologia Parasitária, Universidade Ceuma. †Laboratório de Imunopatologia das Doenças Infecciosas. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás.

**Introduction.** Natural products are often used as source for drug discovery mainly related with antimicrobial activity. *Bixa orellana*, also known as urucum, has been used in many tropical countries to treat infectious disease. Published studies have indicated an antioxidant effect, antifungal, analgesic and anti-inflammatory as well as antimicrobial action. Due to widespread use of urucum as antimicrobial, it is necessary to investigate its efficacy against human pathogens. To investigate the antimicrobial activity of leaves and seeds hydroalcoholic extracts of urucum against human pathogenic bacteria.

**Materials and methods.** Fresh leaves and seeds of the plant were collected at ático seabra herbarium from UFMA, air dried and macerated with water-alcohol solution (70% ethanol, v/v). The *Bixa orellana* hydroalcoholic extract (BOHA) were concentrated on a rotary evaporation and stored at -200c until its use. The antimicrobial activity was evaluated by agar diffusion method to each respective extract in muller hinton plates which were scattered each studied bacteria for 24 h. To evaluate the antimicrobial activity in m. Massiliense was used the microdilution technique in Muller Hilton broth. A concentration of each extract at concentrations of 200, 25 and 3,125 µg/mL was incubated at 37°C for 24 h under agitation. After this, it was performed serial dilutions and plated in muller hinton agar at 37°C for 72 h for colony forming units (CFU) determination.

**Results.** The boha of leaves and seeds were able to pathogenic bacteria inhibition of *S. pyogenes* (ATCC13613 – inhibition zones of 25,5 and 10 mm); *S. agalactia* (ATCC13813 - inhibition zones of 11,5 mm and 15,5 mm) whereas the leave extract inhibited *S. aureus* (ATCC25923 - inhibition zone of 22 mm) and *E. faecalis* (ATCC19433 – inhibition zone of 12,5 mm).

**Conclusions.** The studied extracts of urucum were able to inhibit *M. massiliense*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *S. agalactiae* and *S. pyogenes*.

### TLP-667. *Chlamydia felis* in cats with upper respiratory tract infection associated with poor sanitary condition in cat shelters from Sao Paulo city, Brazil

Fernanda Gonsales\*, Aline Da Hora\*, Eveline Zuniga\*, Paulo Brandão\*, Nilson Benites\*

\*University Of Sao Paulo, Brasil.

**Introduction.** The evaluation of the occurrence of *chlamydia felis*, as well as polymorphic of membrane proteins (PMPS), is essential for optimal clinical approach in cats living in shelters. It is believed that the PMPS have a crucial role in establishing infection and survival of the pathogen, and interfering with biological functions such as the induction of inflammatory and immune responses, in addition to immune evasion of the host.

**Materials and methods.** In this study the occurrence of *C. felis* was evaluated by PCR in ocular conjunctiva and oral swabs. The clinical symptoms of the animals were ranked from 1 to 4, with 4 assigned to those with the most severe symptoms.

**Results.** In the cattery a, with the best sanitary condition, the predominant stage of clinical symptoms was 1=59.32%, 2=22.03%, 3=11.86% and 4=6.78% while in cattery B, classified as intermediate in terms of sanitary condition, the animals were mostly in grade 3=41.38%, 1=23.33%, 2=20.51% and 4=15.38%; cats in the third of the cattery c), with a poor sanitary condition, were classified the grade 3=66.67%, 1=5.13%, 2=10.26% and 4=17.95%. The occurrence of *C. felis* was 7.41% (cattery a), 46.15% (cattery b) and 23.08% (cattery c). Twenty positive samples were subjected to PCR for genes of 12 PMPS, be all of then positive for all genes.

**Conclusions.** As a conclusion, the occurrence of *C. felis* might be associated to poor sanitary condition.

### TLP-668. Identificación de integrones en cepas de *Aeromonas* spp. aisladas de pescado (*Cyprinus carpio* L.)

Yohanna Sarria G.\*, María Patricia López R.\*, Yosef Chávez R.\*, Erick Ruiz R.\*, Luc Dendooven\*, Juan Manuel Bello L.\*

\*Centro de Investigación y de Estudios Avanzados Del Instituto Politécnico Nacional, Mexico.

**Introducción.** En lo últimos años se ha reportado un aumento de la resistencia a antibióticos en cepas de *Aeromonas* spp. Debido al uso irracional de los medicamentos para controlar las infecciones en los peces. Esto genera presión de selección sobre los microorganismos y, por consiguiente induce la adquisición de resistencia a antibióticos. Por lo tanto, la búsqueda de elementos genéticos asociados a la resistencia a los antibióticos en microorganismos se vuelve más importante. Plásmidos, transposones e integrones pueden llevar genes resistentes a antibióticos y pueden ser transferidos horizontalmente entre los microorganismos. Los integrones pueden capturar más de una casete de resistencia a diferentes antibióticos. El objetivo de este trabajo fue identificar integrones de clase I en cepas de *Aeromonas* spp. Aisladas de muestras de *Cyprinus carpio* L. Comercializado en la ciudad de México.

**Materiales y métodos.** Las cepas se aislaron a partir de pescado fresco en un medio selectivo para aeromonadales, y se seleccionaron mediante pruebas bioquímicas para el género *Aeromonas*. Las cepas se tipificaron mediante ERIC-PCR y se identificaron por análisis del gen RPOD. Le detección de elementos de integrones y la determinación Resultados. Se identificaron cepas de *Aeromonas* de las especies *A. hydrophyla*, *A. veronii*, *A. salmonicida*, *A. media*, *A. sobria*, *A. allosaccharophila*, *A. caviae* y *A. punctata*. Se detectaron 11 cepas portadoras de integrones completos, 3 con integrones incompletos y 4 con integrones vacíos.

**Conclusiones.** La incidencia y prevalencia de cepas multirresistentes de *Aeromonas* en el pescado para el consumo humano es visto como un riesgo potencial de infección. La búsqueda de elementos genéticos asociados con la resistencia a los antibióticos es por consiguiente de gran importancia.

### TLP-669. Estudio de la presencia de l-asparaginasa II (ANSB) en la membrana externa de cepas de *Escherichia coli* productor de shigatoxinas (STEC) y su participación en patogenicidad

Nayaret Chamorro V.\*, David Montero F.\*, Alexia Torres\*, Mirka Pardo C.\*, Mercedes López\*, Roberto Vidal Á.\*

\*Universidad de Chile, Chile.

**Introducción.** La enzima l-asparaginasa II (ANSB) de *E. coli*, conocida por su utilización en el tratamiento de niños con leucemia linfoblástica aguda (ALL), ha sido descrita como una proteína de ubicación periplásmica. Sin embargo, hemos detectado su presencia en extractos de proteínas de membrana externa (PME) de distintos serotipos de STEC, mediante western blot con sueros de pacientes pediátricos con diagnóstico de shu por infección con STEC. El objetivo de nuestro estudio fue determinar la presencia ANSB, en la membrana externa en distintos serotipos de STEC, su secreción (utilizando anticuerpo específico para la enzima) y su efecto en la proliferación de células T.

**Materiales y métodos.** Las PME y proteínas solubles fueron separadas por SDS-page al 12% y detectadas usando un anticuerpo específico para ANSB. Para su visualización por microscopía electrónica, se utilizó un anticuerpo secundario marcado con partículas de oro. Células mononucleares de sangre periférica, provenientes de individuos sanos, fueron incubadas en ausencia o presencia de stec O157:H7, O157:H7-ansb, O157:H7-ANSB/PVB1\_ ANSB, la cepa comensal HS y como control positivo *Salmonella typhimurim*. La supresión de la proliferación fue medida mediante citometría de flujo.

**Resultados.** Mediante western blot y microscopía electrónica, utilizando anticuerpos específicos contra ANSB se observó la presencia de ANSB en extractos de PME, en la superficie bacteriana de distintos serotipos de STEC estudiados y la cepa HS y en el ambiente extracelular (secreción). La expresión de ANSB en O157:H7 además inhibió la proliferación de linfocitos T a diferencia de lo observado en O157:H7-ANSB.

**Conclusiones.** La enzima ANSB es secretada y se asocia a la membrana externa en STEC y *E. coli* hs. La expresión de ANSB en O157:H7 aportaría a la patogenicidad de este serotipo mediante la inhibición de la proliferación de linfocitos T.

### TLP-670. Identificación de *S. agalactiae* empleando discos con $\beta$ Lisina de cepas *S. aureus* aisladas de personas sanas

Rubén Rodrigo Carreón-Díaz\*, Rosa María Ribas-Aparicio\*, Patricia Isidra Cauich-Sánchez\*

\*Instituto Politécnico Nacional, México.

**Introducción.** *Streptococcus agalactiae* causa varios cuadros clínicos que van desde leves hasta severos, es de suma importancia llevar a cabo una identificación rápida para que el médico instaure el tratamiento adecuado. Una de las pruebas presuntivas para su identificación es la prueba de camp en la cual se emplea la cepa tipo de *Staphylococcus aureus* cowan I, sin embargo algunos laboratorios clínicos no cuentan con esta cepa y otros no la pueden conservar a largo plazo, por lo que es necesario tener otras alternativas para realizar esta prueba. Objetivo identificar cepas de *S. agalactiae* mediante la prueba de camp empleando discos impregnados con Lisina de cepas *S. aureus* aisladas de personas sanas.

**Materiales y métodos.** Se aislaron 4 cepas de *S. aureus* a partir de 15 exudados faríngeos, se hizo la extracción de la Lisina de estas cepas y de *S. aureus* ATCC 25923 y cowan I. Se probó su actividad en una placa de gelosa sangre. Se realizaron las pruebas de camp convencional y con los discos con Lisina, y posteriormente se llevó a cabo la identificación en ciego de 15 cepas clínicas de *Streptococcus* Hemolíticos de diferente especie empleando estos discos.

**Resultados.** De las 4 cepas de *S. aureus* aisladas de personas sanas, 3 presentaron la Lisina. Se pudo visualizar con claridad la potenciación de la hemólisis en la prueba de camp empleando los discos con Lisina de estas cepas. Solamente las cepas clínicas que eran *S. agalactiae* fueron positivas.

**Conclusiones.** La Lisina de algunas cepas aisladas de *S. aureus* de personas sanas se pueden emplear en la prueba de camp usando discos impregnados con ella. La prueba fue específica para la identificación de *S. agalactiae*.

### TLP-671. Oxacillin resistance and susceptibility profile to vancomycin and novel drugs of *Staphylococcus epidermidis* and *S. haemolyticus* isolated from blood cultures

Luiza Pinheiro\*, Priscila Luiza Mello\*, Carla Ivo Brito\*, Valéria Cataneli Pereira\*, Adilson de Oliveira\*, Ariane Rocha B.\*, Carlos Henrique Camargo\*, Maria de Lourdes Ribeiro de Souza Da C.\*

\*Departamento de Microbiologia E Imunologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, UNESP, Botucatu, SP, Brazil. Núcleo de Doenças Entéricas E Infecções Por Patógenos Especiais, Centro de Bacteriologia, Instituto Adolfo Lutz, Brasil.

**Introduction.** *Staphylococcus epidermidis* and *S. haemolyticus* are some of the leading causative agents of medical device-associated infections. The indiscriminate use of antimicrobial agents has led to an increased number of strains with oxacillin resistance and reduced susceptibility to vancomycin. Potential alternatives for these strains include the new antimicrobials linezolid, tigecycline, daptomycin, and quinupristin/dalfopristin. This work aimed to evaluate the antimicrobial susceptibility profile to oxacillin, vancomycin, tigecycline, linezolid, daptomycin and quinupristin/dalfopristin in 85 strains of *S. epidermidis* and 84 strains of *S. haemolyticus* isolated from blood cultures over a period of 12 years.

**Materials and methods.** Strains were identified by biochemical tests and its-PCR, MECA gene and SCCmec type were detected by PCR. The minimal inhibitory concentration (MIC) of vancomycin, linezolid, daptomycin, tigecycline and quinupristin/dalfopristin were determined by estest.

**Results.** The rate of MECA positivity was 92.9% and 100% in *S. epidermidis* and *S. haemolyticus*, respectively. The most frequent SCCmec types were iii (%) for *S. epidermidis* and i (32.1%) for *S. haemolyticus*. All isolates were susceptible to linezolid and daptomycin, but 7.1% of *S. haemolyticus* and 2.3% of *S. epidermidis* isolates were resistant to tigecycline and 1.2% each of *S. haemolyticus* and *S. epidermidis* were resistant and intermediate resistant to quinupristin/dalfopristin, respectively. Three isolates showed vancomycin mics of 3  $\mu$ g/mL; *S. epidermidis* exhibited higher vancomycin MICs (52% with mic 1.5  $\mu$ g/mL).

**Conclusions.** Despite a high oxacillin resistant rate was observed, clinical strains have shown good susceptibility to new drugs as linezolid, daptomycin, tigecycline and quinupristin/dalfopristin. However, resistance to new drugs could be identified in a few strains, which could represent a barrier for treatment of multidrug resistant coagulase-negative *Staphylococci*. Vancomycin was effective against the isolates despite high MICs that can cause treatment failure.

### TLP-672. Metodo simple para el aislamiento de bacterias anaerobias de hemocultivos aerobicos negativos

Rito Zerpa L.\*, Luz Huaroto\*, Marcos Ñahuincopa\*, Eduardo Ticona\*

\*Instituto Nacional de Salud Del Niño / Hospital Dos de Mayo, Perú.

**Introducción.** Existen escasos reportes de aislamiento de bacterias anaerobias en hemocultivos anaeróbicos, principalmente en pacientes inmunodeprimidos y más aún en hemocultivos aeróbicos. Objetivos: presentar un método simple para la recuperación de bacterias anaerobias de hemocultivos aeróbicos negativos.

**Materiales y métodos.** Se trabajó con muestras de hemocultivos negativos de pacientes inmunodeprimidos del hospital dos de mayo de Lima-Perú. de los hemocultivos aeróbicos negativos (BACTEC), previa observación microscópica sugestiva de presencia de bacterias, se procedió a colocar el frasco de hemocultivo, en posición invertida, en un soporte, durante 1 h, luego se obtiene una muestra del sedimento del hemocultivo, para la observación microscópica con la tinción de Gram y siembra en agar sangre y cultivo anaeróbico y aeróbico a 35°C, durante 2-5 días para su lectura e identificación de la bacteria que no ha desarrollado aeróbicamente pero sí anaeróbicamente.

**Resultados.** Se logró recuperar bacterias anaerobias de 4 hemocultivos aeróbicos negativos, correspondiente a: *Brachyspira pilosicoli* en dos casos (no se confirmó con PCR), *Clostridium perfringens* en un caso, así como *Propionibacterium acnes* en otro caso.

**Conclusiones.** Se reporta un método simple como alternativa para recuperar bacterias anaerobias de hemocultivos aeróbicos negativos, en 4 casos de pacientes inmunodeprimidos.

### TLP-673. Caracterização da cascata regulatória de SPDR envolvida a resposta a carência de carbono e fase estacionária em *Caulobacter crescentus*

Carolina Antunes Do Prado Tavares Da Silva\*, Ricardo Ruiz M.\*, Rodolfo Alvarenga R.\*, Marilis Do Valle M.\*

\*Universidade de São Paulo, Brasil.

**Introdução.** *C. crescentus* utiliza diferentes fontes de nutrientes, característica que resulta, dentre outros fatores, de uma grande quantidade de genes codificando sensores ambientais, transportadores e diversas vias de sinalização no seu genoma. Neste organismo, frequentemente as vias de sinalização ocorrem por meio de sistemas de dois componentes, isto é, uma histidina quinase sensora (HK) e um regulador de resposta efetor (RR), que sinalizam uma condição ambiental específica por meio de transferência de fosfato. Foi identificado nesta bactéria, um regulador de resposta de sistema de dois componentes denominado SPDR (Stationary Phase CSPD Regulator), que regula diretamente o gene CSPD (Cold Shock Protein) ativando sua transcrição em fase estacionária. SPDR e sua HK cognata, SPDS, apresentam grande similaridade a REGA/REGB, sistema descrito em *E. coli* como atuante no controle redox de vários processos biológicos. O regulon de SPDR foi determinado através de microarranjos de ADNA, que revelaram diversos genes-alvo codificantes para reguladores transcricionais, dentre eles o CC0517, que codifica um possível membro da família TRMB. Este trabalho tem como objetivo a caracterização da cascata regulatória de SPDR durante carência nutricional e fase estacionária.

**Materiais e métodos.** Para entender melhor o papel da proteína codificada pelo gene CC0517, uma linhagem mutante foi construída. Ensaios de crescimento com esta linhagem mutante em 190 diferentes fontes nutricionais, demonstraram que esta apresenta deficiência de crescimento em diversas das fontes nutricionais testadas quando comparada a linhagem selvagem NA1000.

**Resultados.** As regiões promotoras dos genes SPDR e CC0247 foram clonadas em fusões de transcrição com o gene repórter LACZ e, utilizadas em ensaios de atividade de  $\beta$ -galactosidase. Ambos promotores mostraram-se positivamente responsivos a fase estacionária, em ambos meios testados (PYE e M2).

**Conclusões.** Estes resultados demonstram a importância da cascata regulatória SPDR e os efeitos que a ausência de SPDR e CC0517 causam à célula durante a fase estacionária e carência nutricional.

### TLP-674. Perfil de suscetibilidade AOS antimicrobianos de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas em indivíduos no baixo Amazonas, Brasil

Luana Rodrigues\*

\*Universidade Federal Do Oeste Do Pará Brasil.

**Introdução.** A *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) é um dos principais agentes de infecção hospitalar. Identificar o perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos de *P. aeruginosa* isoladas em internos das unidades de terapia intensiva (UTI) e descrever as características epidemiológicas relacionadas à infecção pela *P. aeruginosa*.

**Materiais e métodos.** O estudo é do tipo transversal, no qual foram coletados dados do laboratório de análises clínicas de um hospital público localizado no Baixo Amazonas, Brasil sobre as culturas positivas para a presença de *P. aeruginosa* de internos das UTI adulto, infantil e neonatal, de 2012 à 2013. **Resultados.** Observou-se que a maioria dos pacientes com resultado positivo na cultura para *P. aeruginosa* era do sexo masculino (68,2%) e com idade igual ou superior a 46 anos (45,4%). Na UTI adulto foi maior a prevalência (72,7%) da infecção por *P. aeruginosa*. A metade (11/22) dos casos de infecção por esta bactéria foi detectado em secreção traqueal. Quanto ao perfil de suscetibilidade, no grupo dos penicilínicos e inibidores de  $\beta$ -Lactamases, a bactéria foi resistente em 36,8% (7/19) dos antibiogramas, enquanto que amoxicilina, amoxicilina + ácido clavulânico e ampicilina foram testados em apenas uma amostra de cada, sendo que em todas a *P. aeruginosa* não teve o crescimento inibido. Os carbapenemas apresentaram uma sensibilidade de 95%. A resistência bacteriana encontrada para aztreonam foi de 45,5% (10/22). Com aminoglicosídeos a resistência foi de 33,3% (7/21) para gentamicina, 21,4% (3/14) para amicacina e no único teste utilizando tobramicina a bactéria foi resistente. O microorganismo foi resistente

em 23,8% (5/21) dos testes com norfloxacin, 27,3% (6/22) com ciprofloxacino, 31,8% (7/22) com ofloxacina e sensível nas duas análises feitas com levofloxacino.

**Conclusões.** O monitoramento da suscetibilidade da *P. aeruginosa* aos antimicrobianos pode minimizar os fracassos terapêuticos devido a resistência bacteriana.

### TLP-675. Prevalence of nasal/oral carrying of CA-MRSA and encoding genes of panton-valentine leukocidin among indigenous populations of the Amazon and the southeast region in Brazil

Lígia Maria Abraão\*, Carlos M. C. B. Fortaleza\*, Thais Alves B.\*, Ana Cláudia M. L. Dos Santos\*, Eliane Patrícia L. Pereira-Franchi\*, Rodrigo M. de Souza\*, Maria de Lourdes R. S. Da Cunha\*

\*Department Of Tropical Diseases - Botucatu Medical School, UNESP. Department Of Microbiology And Immunology - Botucatu Bioscience Institute - UNESP. Department Of Nursing - Federal University Of ACRE - UFAC. Outros Países.

**Introduction.** Indigenous peoples with their peculiar habits were more likely to carry *Staphylococcus aureus* and to often develop skin infections. Objectives: determine the prevalence of sensitive and resistant to methicillin *S. aureus* (MSSA and MRSA) and LUKS-PV and LUKF-PV encoding genes of the panton-valentine leukocidin –PVL circulating among the natives of Brazil.

**Materials and methods.** 328 samples were taken using swabs in nasal/oral mucosa of healthy indigenous villages located in feijó and mândico lima in acre state, belonging to the Amazon region, and 115 were taken in avai, São Paulo state, in the southeast of the country. The samples were identified through traditional methods such as Gram stain, catalase, and coagulase tests. For testing the antimicrobial susceptibility the disk diffusion method with cefoxitin and oxacillin impregnated disks were used. Detection of the MECA gene and LUKS-PV/ LUKF-PV genes was performed by means of PCR. For the characterization of the SCCmec the multiplex PCR was performed.

**Results.** In the Amazon region, we can identify the nasal/oral prevalence of *S. aureus* carrying of 55.8% whereas 59.1% were obtained in the southeast region. From all the samples analyzed, only 01 nasal isolate was resistant to cefoxitin while 03 oral isolates were resistant to oxacillin. For detection of the MECA gene, 01 nasal isolate and 02 oral showed positive, an overall MRSA prevalence of 0.6%. SCCmec typing was belonging to type IV. In the southeast region all the isolates were methicillin sensitive. Regarding LUKS-PV/LUKF-PV genes detection, rates of 5,1% were identified among natives of the northern region and 14.7% in the southeast region.

**Conclusions.** The results show higher prevalence of *S. aureus* than that found in non-indians population of Brazil. However, the prevalence of CA-MRSA was greater among the Amazonians, without relation to presence of PVL gene as the findings described in the literature.

### TLP-676. Eficácia de desinfetantes sobre *Salmonella enteritidis* SE86 aderida ou suspensa sobre a superfície de aço inoxidável

Marília Kochhann\*, Eliandra Mirlei Rossi\*, Eduardo César Tondo\*

\*Universidade Do Oeste de Santa Catarina- UNOESC, Campus de São Miguel Do Oeste-SC E Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul-UFRGS, Brasil.

**Introdução.** *Salmonella enteritidis* se 86 tem sido frequentemente isolada de surtos de doenças transmitidas por alimentos no rio grande do sul desde 1999. Desse modo, este estudo teve o objetivo de avaliar a eficácia de desinfetantes sobre *Salmonella enteritidis* se 86 aderidas e suspensas sobre a superfície de aço inoxidável 304.

**Materiais e método.** A cepa foi inoculada em caldo tripton de soja e incubada a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 24 h até atingir a turvação de 0,5 da escala de MacFarland ( $\sim 10^8$  UFC/mL). Os desinfetantes utilizados foram: ácido peracético (0,50% p/v), quaternário de amônia (0,50% p/v) e hipoclorito de sódio (1,50% p/v). A suscetibilidade da cepa foi avaliada para células planctônicas e aderidas nos corpos de prova de aço inoxidável 304.

**Resultados.** Os resultados das células planctônicas demonstraram que *S. enteritidis* SE86 apresentou resistência somente ao ácido peracético, mas quando aderida em aço inoxidável o microrganismo foi resistente para todos os desinfetantes testados. Embora torna-se necessário des-

taçar que os três desinfetantes foram capazes de reduzir as contagens de *S. enteritidis* SE86, quando aplicados no aço inoxidável 304, demonstrando sua ação contra este microrganismo. As maiores reduções foram observadas no tratamento com hipoclorito de sódio, tanto para as células aderidas quanto para as planctônicas.

**Conclusões.** Desse modo, os resultados permitem concluir que *Salmonella enteritidis* SE86 é resistente aos desinfetantes utilizados nas indústrias de alimentos quando essa bactéria estiver aderida a superfícies de aço inoxidável 304, o que aumenta os riscos de contaminação dos alimentos e consequentemente transmissão de DTA.

### TLP-677. Etiología de las conjuntivitis e infecciones de los anexos oculares y susceptibilidad antimicrobiana. Instituto Cubano de Oftalmología "Ramón Pando Ferrer", 2013

Beatriz Muñoz\*

\*Instituto Cubano de Oftalmología "Ramón Pando Ferrer", Cuba.

**Introducción.** Las infecciones bacterianas y micóticas de la conjuntiva y los anexos oculares ocupan un papel importante dentro de las patologías oftalmológicas. Identificar sus agentes etiológicos y el comportamiento de los mismos frente a los antimicrobianos tópicos más utilizados en el campo de la oftalmología, centró el objetivo de esta investigación.

**Materiales y métodos.** Se realizó un estudio transversal descriptivo en 200 pacientes que acudieron al laboratorio de microbiología del instituto cubano de oftalmología (ICO) "Ramón Pando Ferrer", desde mayo hasta octubre de 2013, con una infección de la conjuntiva o de los anexos oculares. La toma de muestra ocular y la identificación microbiana se hizo según los métodos convencionales y los sistemas comerciales API (Biomérieux). La determinación de la susceptibilidad antimicrobiana se realizó por el método Bauer-Kirby; y en *Staphylococcus* spp., se investigó la concentración mínima inhibitoria (CMI) para la oxacilina mediante el método de microdilución en caldo.

**Resultados.** En 149 casos (74,5%) se confirmó una infección ocular en al menos una de las muestras procesadas. Predominaron *S. coagulans* negativa (49,4%) y *S. aureus* (28,1%). Se notificó por primera vez, en Cuba, como patógeno ocular a *C. macginleyi* (3,4%). Dentro de los Gram negativos (14,7%), predominaron las *Enterobacterias* (10,2%); *P. mirabilis* (4,5%) y *E. coli* (2,2%). Se confirmó una alta resistencia a la metilicina en *Staphylococcus* spp., de la provenientes de la comunidad.

**Conclusiones.** La confirmación del predominio de bacterias grampositivas como agentes etiológicos de las conjuntivitis y los anexos oculares en el ICO, así como del predominio de *Staphylococcus* spp., resistentes a la metilicina como responsables de infecciones oftálmicas extrahospitalarias sugiere que este fenómeno constituye un problema actual y creciente en la institución.

### TLP-678. The RNA chaperone HFQ is important for adherence and stress tolerance in serotype 1 *Actinobacillus pleuropneumoniae*

Josicelli Souza Crispim\*, Monalessa Fábria Pereira\*, Ciro César Rossi\*, Elza Fernandes de A. \*, Marisa Vieira de Q. \*, Yanwen Li\*, Janine T. Bossé\*, Paul R. Langford\*, Denise Mara Soares B. \*

\*Universidade Federal de Viçosa Brasil.

**Introduction.** Swine pleuropneumonia is a severe and contagious disease caused by the Gram-negative bacterium *Actinobacillus pleuropneumoniae*. This microorganism belongs to the *Pasteurellaceae* family and consists of 15 serotypes that differ in their capsule antigenic properties. Given its RTX exotoxins production pattern, strains of serotype 1 are considered the most virulent. Alongside other important virulence determinants, like the biofilm-forming capacity, capsule and iron-acquisition systems, the protein HFQ has been shown to be have pleiotropic effects related to the capacity of causing disease by several bacterial pathogens. These effects are possible because HFQ is a molecular chaperone that mediates the interaction between small regulatory rnas and their cognate mRNAs, thereby regulating their expression. The objectives of this work were to evaluate the impact of HFQ in serotype 1 *A. pleuropneumoniae* strain.

**Materials and methods.** An HFQ mutant from the strain shope4074 and its wild type were tested according to their growth characteristics, resistance to different stress conditions, capacity of adherence in stainless steel coupons as observed by scanning electron microscopy and virulence

in the alternative model *Galleria mellonella*.

**Results.** The HFQ mutant displayed a similar growth to the wild type, but a lower adherence capacity, increased sensibility to oxygen peroxide, sodium chloride, ethanol and pH values of 6.0-6.5. *G. mellonella* larvae that were inoculated with the mutant strain also presented higher survival rates when compared to the wild type.

**Conclusions.** Our results indicate that the protein HFQ is likely associated to the expression of virulence factors in *A. pleuropneumoniae*, since a mutant for the HFQ gene presents attenuated characteristic in relation to its parental strain. This work is a step forward in the understanding of the importance of HFQ protein in *A. pleuropneumoniae*.

### TLP-679. Infection of the bloodstream by multiresistant *Elizabethkingia meningoseptica* in cancer patients: report of two cases

Jailton Lobo Jailton\*, Giwellington Albuquerque\*, Lilian Alves\*, Kaliny Torres\*, Luciana Mello\*, Polliana Cavalcanti\*, Paulo Araújo\*, Maria Amélia\*

\*Universidade de Pernambuco Brasil.

**Introduction.** *Elizabethkingia meningoseptica* (previously described as *Chryseobacterium meningosepticum* and *Flavobacterium meningosepticum*) is a Gram negative non-fermenting Gram widely distributed in nature, but rare in humans, in whom it is considered an opportunist pathogen. The objective this study was report two cases of sepsis in critically ill patients in two tertiary hospitals in Recife-pe, Brazil.

**Materials and methods.** The bacteriological diagnosis of *E. meningoseptica* in both clinical cases was carried out on a BACT/ALERT 3D apparatus from biomérieux, after the positivity of the aerobic bottles. To identify the morphology and cell arrangement, Gram stain was conducted, from which Gram negative pleomorphic bacilli were observed. In the Blood Agar, yellowish colonies with a grayish hue grew around the colonies. *E. meningoseptica* was identified in the biomérieux vitek 2 equipment, and an antibiogram was conducted.

**Results.** In the first case an 87-year-old patient with chronic myeloid leukemia, was admitted to intensive care unit (ICU) due to exacerbation of chronic pyelonephritis and cardiac arrhythmia, *Elizabethkingia meningoseptica* was identified in sepsis and the patient was treated with polymyxin b for ten days and ciprofloxacin for 30 days and there was a favorable outcome. The second case, a 93-year-old patient with prostate cancer who presented septic shock caused by multiresistant *E. meningoseptica*, was managed with a vasopressor drug, corticosteroid and mechanical ventilation and treated with piperacillin/tazobactam, sixteen days after admission, his hemodynamics worsened after an ultrafiltration and dialysis session which was when the patient died.

**Conclusions.** *E. meningoseptica* bacillus should always be considered as offering an etiological diagnosis of septicemia that makes a difference in clinical cases similar to those described in this article, in long-stay hospital patients with co-morbidities, who do not respond to empirical treatment, and do not have a defined microbiological diagnosis.

### TLP-680. Avaliação de uma técnica de PCR em tempo real in house para a detecção rápida do complexo *Mycobacterium tuberculosis* em amostras de escarro

Juliana Maira Watanabe P. \*, Claudio Tavares S. \*, Andreia Moreira Santos C. \*, Maria Cecilia Cergole-Novella \*, Regina Ruivo Ferro E. Silva \*, Lucilaine Ferrazoli \*, Rosângela Siqueira de Oliveira \*

\*Instituto Adolfo Lutz Brasil.

**Introdução.** Em 2013, foram notificados 71.123 casos novos de tuberculose no Brasil, sendo o estado de São Paulo responsável por 23% desses casos. O diagnóstico laboratorial é realizado tradicionalmente por baciloscopia e cultura. A baciloscopia é rápida e pouco sensível, enquanto a cultura é bastante sensível, porém demorada. Considerando que o diagnóstico rápido e acurado é essencial ao controle da tuberculose, avaliou-se o desempenho da PCR em tempo real ou quantitativa (qPCR) in house, utilizando como alvo o gene *mpt64*, no diagnóstico da tuberculose a partir de amostras de *Escherichia coli*.

**Materiais e métodos.** No período de agosto de 2012 a outubro de 2013, foram analisadas 715 amostras de pacientes com suspeita de tubercu-

lose, residentes em quatro municípios do estado de são paulo: santo andré, mauá, diadema e são bernardo do campo. Estas amostras foram submetidas à baciloscopia, cultura, identificação bioquímica e molecular de micobactérias, e qPCR.

**Resultados.** Com relação aos casos confirmados de tuberculose (n= 62 ou 8,7%), a baciloscopia apresentou sensibilidade de 82,3% (IC 95%, 71–89,8%), a cultura e a qPCR mostraram a mesma sensibilidade (90,3%; ic 95%, 80,5–95,5%). Os valores de especificidade foram 99,7% (IC 95%, 98,9–99,9%), 99,4% (IC 95%, 98,4–99,8%) e 98,6% (IC 95%, 97,4–99,3%) para a baciloscopia, cultura e qPCR, respectivamente.

**Conclusões.** A qPCR permitiu o diagnóstico de tuberculose a partir de amostras negativas na baciloscopia e/ou contaminadas na cultura. Além disso, as amostras das quais foram isoladas micobactérias não tuberculosas não apresentaram amplificação para o gene-alvo, sugerindo um diagnóstico indireto de doença pulmonar causada por estes microrganismos em pacientes com baciloscopia positiva. A qPCR in house poderia ser implantada com sucesso nos laboratórios Brasileiros que já possuem infra-estrutura para a aplicação desta técnica, que possibilitou a realização do diagnóstico de tuberculose com a mesma sensibilidade da cultura em até cinco horas.

### TLP-681. Pathogenic *Leptospira* secrete proteases that cleave extracellular matrix proteins and human fibrinogen

Ludmila Bezerra Da Silva\*, Milene Cristina Menezes\*, Ana Karina Oliveira\*, Silvio Arruda de Vasconcellos\*, Solange Maria de Toledo Serrano\*, Ángela Silva Barbosa\*

\*Butantan Institute Brasil.

**Introduction.** Leptospirosis, a zoonosis widely spread around the world, is caused by *Spirochetes* of the genus *Leptospira*. Highly frequent in tropical and subtropical areas, the disease represents an important public health problem. In the last years, researches have been focused on factors related to the pathogenesis of the disease. Pathogenic leptospire have the ability to circumvent host's defense mechanisms by avoiding complement mediated lysis. Moreover, they express membrane proteins that interact with cells and extracellular matrix proteins from the host. The aim of this work is to evaluate the secretion of proteases by different leptospira species capable of directly degrading extracellular matrix and coagulation cascade proteins.

**Materials and methods.** Proteolytic activity in the supernatants of the pathogenic *Leptospira* strain lpf and of the saprophytic *Leptospira* strain patoc 1 was assessed by direct cleavage of extracellular matrix components as well as human plasminogen and fibrinogen. The presence of gelatinases in the supernatants was assessed by zymography analysis.

**Results.** Here we demonstrate that the supernatant of the pathogenic *Leptospira* strain lpf displays proteolytic activity, being able to degrade human fibrinogen and laminin. Interestingly, human plasminogen was not cleaved by proteases present in the supernatant. Moreover, gelatin zymography revealed that the supernatant of the pathogenic strain lpf contains at least two gelatinases with molecular weights of approximately 72 and 35 kda.

**Conclusions.** The ability to cleave conjunctive tissue molecules may certainly contribute to invasion and tissue destruction observed upon infection with these bacteria.

### TLP-682. Isolamento e identificação de bastonetes Gram negativos de resíduos odontológicos e dos profissionais que fazem seu manuseio e gerenciamento

Thaysa Tagliaferri\*, Cristina Vieira\*, Maria Auxiliadora Carvalho\*, Paula Magalhães\*, Luiz Farias\*, Simone Santos\*

\*Universidade Federal de Minas Gerais Brasil.

**Introdução.** Os resíduos de serviços de saúde (RSS) contêm carga microbiana, incluindo bastonetes Gram-negativos (BGN), que representam um papel relevante nas infecções relacionadas à assistência à saúde. A manipulação dos RSS pode ser um fator de risco para profissionais que os manipulam e gerenciam, uma vez que os micro-organismos podem ser inalados e/ou carreados pelos trabalhadores. Buscou-se isolar e identificar as amostras de bgn obtidas dos resíduos odontológicos, gerados em 24 h, e de superfícies dos profissionais que fazem seu gerenciamento.

**Materiais e métodos.** Os resíduos foram pesados, separados e alíquotas aleatórias foram retiradas para obtenção do líquido lixiviado a ser analisado. Para a coleta dos funcionários, as amostras foram obtidas com o auxílio de swabs nas mucosas nasais, vestuário e mãos. Todas as amostras obtidas foram cultivadas em meios rico e seletivos. As bactérias que se mostraram Gram-negativas, foram identificadas e testadas quanto ao seu perfil de susceptibilidade a antimicrobianos no sistema automatizado Vitek® 2.

**Resultados.** Um total de 22 amostras de bgn foi recuperada dos resíduos e dos funcionários. A espécie *Pseudomonas aeruginosa* foi a prevalente, correspondendo a 87,5% (7/8) daquelas dos resíduos e 12,5% (1/8) das mãos dos funcionários. Três amostras de *proteus mirabilis* e uma de *Escherichia coli* foram isoladas das fossas nasais de três profissionais. Dos resíduos, também foi possível isolar amostras de *Acinetobacter junii*, e *Stenotrophomonas maltophilia*, dentre outras. Das 21 amostras que tiveram o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos testado, 12 foram resistentes à cefoxitina e à tigeciclina e oito à cefuroxíma.

**Conclusões.** Foram recuperadas das fossas nasais de alguns funcionários, bactérias infrequentes neste sítio. Espécies de *P. aeruginosa* recuperadas dos profissionais e dos resíduos exibiram perfil de susceptibilidade semelhante. Os dados reforçam a necessidade de implantação e aprimoramento de medidas de proteção efetivas além de treinamentos periódicos com estes profissionais. Apoio financeiro: FAPEMIG; CNPQ; CAPES; PRPQ/UFMG.

### TLP-683. Espectro de ação, extração, purificação e caracterização de substâncias tipo bacteriocina produzidas por *Acinetobacter baumannii*

Natália Guimaraes\*, Jamil Oliveira\*, Simone Santos\*, Luiz Farias\*, Paula Magalhães\*

\*Universidade Federal de Minas Gerais Brasil.

**Introdução.** *Acinetobacter baumannii* é uma bactéria ubíqua, frequentemente encontrada colonizando a pele de seres humanos, associada à etiopatogenia de diversas infecções nosocomiais, especialmente, envolvendo pacientes internados em unidades de terapia intensiva. Diversos microrganismos são capazes de expressar substâncias antimicrobianas de natureza proteica, denominadas bacteriocinas, relevantes do ponto de vista ecológico e com grande potencial de aplicação biotecnológico. O presente estudo tem por objetivo avaliar e caracterizar a síntese de substância(s) antagonista(s) tipo bacteriocina por amostras de *A. baumannii* isoladas de hemoculturas.

**Materiais e métodos.** A expressão de antagonismo por 19 amostras de *A. baumannii*, que constituíram o grupo teste, foi avaliada pelo método de difusão em sobrecamada. Como reveladoras, além do grupo teste, foram incluídas nove amostras bacterianas de referência. Diferentes condições de cultivo foram utilizadas para avaliar a expressão de antagonismo, empregando-se diversos meios de cultura (composição e pH) e condições (temperatura e tempo) de incubação. A presença de bacteriófagos, ácidos graxos, clorofórmio residual e peróxido de hidrogênio foi investigada, para descartar a possibilidade de interferência na interpretação dos resultados.

**Resultados.** Apenas uma das 19 amostras testadas, *A. baumannii* 397, expressou antagonismo. A atividade foi observada exclusivamente contra amostras da mesma espécie, o que caracteriza o fenômeno de isoantagonismo. A expressão de antagonismo ocorreu apenas quando a amostra produtora foi cultivada em BHIA-S, a 25°C, sendo observados halos de inibição das amostras reveladoras grandes e límpidos. Todos os fatores de interferência avaliados foram descartados.

**Conclusões.** Os resultados sugerem a síntese de substância(s) antagonista(s) tipo bacteriocina pela amostra de *A. baumannii* em estudo. Apoio financeiro: CNPQ, FAPEMIG, capes e PRPQ/UFMG.

### TLP-684. Caracterización microbiológica y molecular de cepas de *Pasteurella multocida* asociadas con el síndrome respiratorio en conejos de experimentación

Sonia Lugo Marante\*, Francisca Campos\*, Rodrigo Muñoz\*, Ricardo Cabrera\*, Carlos A. Lagos\*, Macarena Varas\*, Javieria Ortíz S. \*, Francisco P. Chávez\*

\*CENPALAB Cuba.

**Introducción.** El síndrome Respiratorio Cunicula (SRC), se considera un proceso patológico de origen multifactorial, originado por un grupo

de agentes microbiológicos, factores ambientales predisponentes y a la susceptibilidad endógena del animal. *Pasteurella multocida* es una las bacterias más asociadas al SRC, su vía de transmisión es aerógena, afectando tanto a los animales como a los humanos; esta bacteria permanece latente en su hospedero y ante un estrés desencadena la infección, su prevención incluye un buen manejo de la colonia, un programa de salud adecuado y el empleo de la inmunoprofilaxis. El objetivo del presente trabajo es mostrar los resultados obtenidos en la caracterización de 10 cepas de *Pasteurella multocida* aisladas de procesos respiratorios en conejos de experimentación en diferentes brotes originados entre los años 1993 y 2013.

**Materiales y métodos.** Se realizó la identificación microbiológica de las cepas auxiliándonos de los sistemas de identificación bioquímica API, y molecularmente mediante un PCR, además se determinó el tipo de capsula de estas cepas y la presencia de fimbrias, neuroaminidasas y proteínas de membrana externa, relacionadas todas con la virulencia de la bacteria.

**Resultados.** Los resultados obtenidos arrojaron que todas las cepas pertenecen a la especie *Pasteurella multocida* y del tipo capsular a, pudiendo suponer que todas partieron de un clon común que aparecen en diferentes momentos en forma de brotes por la similitud tanto bioquímica como molecular y en los factores de virulencia involucrados con el síndrome respiratorio, en todas la cepas estudiadas.

**Conclusiones:** todas las cepas de *Pasteurella multocida* estudiadas en los diferentes brotes de lo últimos 20 años pertenecen al tipo capsular A.

### TLP-685. Identificación de *Salmonella* spp. mediante la detección de los genes INVA, SPVC y THRS

Claudia Barahona\*, Sarahi Díaz\*, Sarahi Núñez\*,  
Aaron Herrera\*, Jorge Carrasco\*

\*IHIMV-Senasas-Sag, Escuela de Microbiología UNAH Honduras.

**Introducción.** La salmonelosis es una zoonosis y es una eta que causa problemas de salud pública. La detección e identificación de *Salmonella* spp. es un reto interesante de abordar porque los métodos convencionales son parsimoniosos para aplicarlos. La técnica de PCR punto final y en tiempo real, es una alternativa interesante de aplicar si es dirigida a blancos importantes para que no pierda la especificidad. Objetivo: detectar la presencia del gen INVA (factor de virulencia), SPVC (factor de virulencia) y el THRS (treonil arnt sintetasa) mediante PCR punto final y tiempo real para identificar a *Salmonella* spp.

**Materiales y métodos.** Procedencia de los aislados de *Salmonella*: los aislados de *Salmonella* spp. procedieron de la sección de bacteriología del ihmiv. Estudio molecular: a) extracción y purificación de ADN: el ADN de las *Salmonella* spp. fue extraído y purificado mediante la técnica de ctab-modificado, b) PCR tiempo real: para la detección del gen THRS se utilizó el PCR tiempo real mediante la modalidad de Taqman, c) PCR punto final: la detección de los genes INVA y SPVC, se realizó mediante la técnica de PCR punto final.

**Resultados.** Del banco de cepas de *Salmonella* spp. estudiadas, 20 de 30 (66.7%) fueron positivas para el gen THRS, 18 de 34 fueron positivas para el gen INVA (52.9%) y 16 de las 34 para el gen SPVC (47.1%).

**Conclusiones:** de las cepas de *Salmonella* spp. analizadas se detectó con mayor frecuencia con el gen THRS por la sensibilidad del PCR tiempo real; sin embargo este blanco no es específico. de los factores de virulencia estudiados el más frecuente fue el gen inva que el SPVC.

### TLP-686. Avaliação da atividade antimicrobiana de desinfetantes utilizados em um hospital universitário Brasileiro frente a cepas de *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) e *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (MRSA)

Hellen Marques P.\*, Nilton Lincopan\*,  
Jorge Timenetsky\*, Guilherme Barreto C.\*

\*Universidade Nove de Julho (Uninove)/Universidade de São Paulo (USP)  
– Instituto de Ciências Biomédicas (ICB) Brasil.

**Introdução.** Cepas de MRSA e KPC representam um problema de saúde pública em todo o mundo. A capacidade de resistir a antibióticos dificulta o tratamento de doenças ocasionadas por esses agentes. Para isso, uma das estratégias, para o controle de infecções nosocomiais é o emprego de agentes desinfetantes e antissépticos. Assim, o presente

estudo teve o objetivo de verificar a efetividade de desinfetantes de uso hospitalar frente a cepas de MRSA e KPC.

**Resultados.** Todos os agentes desinfetantes e antissépticos foram efetivos nos testes realizados nos diferentes tempos. Não houve crescimento visível de colônias nas placas.

**Conclusões.** Os resultados obtidos demonstraram que os agentes desinfetantes utilizados pelo hospital são efetivos. Isto pode refletir positivamente no controle de infecções relacionadas a microrganismos antibiótico-resistentes.

### TLP-687. Expedición Antártica: búsqueda de microorganismos resistentes a cobre y su relación con la resistencia a estrés oxidativo

Luis Alberto Saona A.\*, Nicolás Órdenes A.\*, Claudia Cabrera T.\*,  
Nicolás Bruna\*, Alejandro Gran Scheuch\*, Vicente Durán T.\*,  
José Manuel Pérez D.\*

\*Universidad de Chile, Chile.

**Introducción.** La Antártica representa un ambiente poli-extremófilo para los microorganismos donde gran cantidad de estresores abióticos favorecen la resistencia a estrés oxidativo. Objetivo general. Aislar bacterias Antárticas resistentes a cobre y analizar su relación con la resistencia a estrés oxidativo.

**Materiales y métodos.** Se incubó 1 g de tierra en 1 mL de medio LB, y luego se sembró 100 µl del sobrenadante en placas LB suplementadas con CUSO4 (4 mm) las cuales se incubaron a 15°C. En las cepas aisladas se determinó la CIM para CUSO4 y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, además de la actividad peroxidasa (Gallardo y cols., 2014). El consumo de cobre se evaluó utilizando el ensayo de apagamiento de fluorescencia de quantum-dots reportado por Durán-Toro y cols, 2014.

**Resultados.** Se aisló 21 bacterias resistentes a cobre (solo 1 de ellas gram+). La temperatura óptima de crecimiento para todos los microorganismos más resistentes crecieron en presencia de cobre 100-150 mm. El ensayo de actividad peroxidasa total reveló gran actividad en las cepas más resistentes a Cu, superando niveles de 1000 u/mg de proteína. El consumo de Cu fue similar para todas las bacterias, lo que descarta un mecanismo asociado a la exclusión del metal en los aislados resistentes.

**Conclusiones.** Las bacterias presentan niveles de resistencia a Cu y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> muy superiores a los descritos para otras bacterias resistentes. En las cepas resistentes aisladas se determinó elevados niveles de actividad peroxidasa y niveles normales de incorporación de cu. los resultados obtenidos sugieren que la resistencia a cobre en las bacterias Antárticas aisladas se debe a una respuesta celular guiada por la presencia de peroxidadas con gran actividad y no por diferencias en la incorporación de cobre al interior de la célula.

### TLP-688. Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante de actinobactérias isoladas da região de Maués/AM

Joselma Ferreira Da Silva\*, Camila Beatriz Atanásio B.\*,  
Manuelita Manço de M.\*, Leonor Alves de Oliveira Da S.\*

\*Universidade Federal de Pernambuco Brasil.

**Introdução.** O crescente número de infecções causadas por bactérias resistentes a antibióticos leva à busca de novos compostos bioativos. As actinobactérias apresentam um grande potencial de produção de metabólitos secundários bioativos, principalmente antibióticos. O objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial antimicrobiano e antioxidante das actinobactérias isoladas da paullinia cupana da região de maués/am.

**Materiais e métodos.** No referido trabalho foi realizada uma seleção primária em meio sólido (bloco de gelose), utilizando os meios HT, ALA, ISP2, ISP3. Foram ensaiados 12 actinobactérias frente a 7 microrganismos teste obtidos na coleção de microrganismos do departamento de antibióticos UFPE (UFPEDA) (*Candida albicans* UFPEDA 1007, *Candida khruzi* UFPEDA 1002, *Mycobacterium smegmatis* ufpeda-71, *Bacillus subtilis* UFPEDA-86, *Staphylococcus aureus* UFPEDA-02, *Klebsiella pneumoniae* UFPEDA-396 *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA-416.

**Resultados.** O microrganismo 20 g que se destacou quanto a atividade antimicrobiana foi identificado a nível de gênero como *Streptomyces* sp. Após foi submetido a uma fermentação em meio líquido distintos (MPE,



M1, ISP2, ISP3) com a finalidade de selecionar o melhor meio, pH, temperatura, para produção dos metabólitos secundários. Na etapa seguinte foi realizada a extração dos metabólitos bioativos utilizando solventes orgânicos com diferentes polaridades e PHS. O meio de cultura mpe foi selecionado como o melhor para produção dos biocompostos em 96 h de processo fermentativo, com halos de inibição que variaram de 12 mm e 32 mm, detectando-se melhores atividades antimicrobiana nos extratos obtidos da biomassa. Nestes extratos foram realizados uma prospecção química, detectando a presença de alcalóides, monoterpenos e sesquiterpenos, compostos fenólicos, triterpenos, esteróides e açúcares. No referido trabalho também foram testados diferentes actinobactérias isolados da paullinia cupana da região de maués/am quanto a capacidade de produzir compostos antioxidantes, sequestradores de radical livre DPPH. **Conclusões.** Os isolados apresentaram alto poder antioxidante e o micro-organismo 20 g apresentou-se bastante promissor para a produção antimicrobiana e antifúngica.

### TLP-689. Isolation, molecular identification and phylogenetical relations of *Lactobacillus* spp. and *Pediococcus* spp. isolated from minas artisanal cheese - Brazil

Felipe Machado de S.\*, Leonardo Borges A.\*, Luige Biciati A.\*, Renata Dias de C.\*, Leticia Goulart O.\*, Alvaro Cantini N.\*, Andréia Marçal Da S.\*, Jacques Robert N.\*, Marce\*

\*Escola de Veterinária Da Universidade Federal de Minas Gerais Brasil.

**Introduction.** Minas gerais state is known for its famous artisanal cheese, made from raw milk and inoculated with endogenous starter culture named "pingo". Due to its artisanal production, that cheese is rich in lactic acid bacteria (LAB), that may occur in different sources, such as environment, milk, starter cultures and also water. The aim of this study was to molecularly identify *Lactobacillus* spp. and *Pediococcus* spp. Isolated from minas artisanal cheese (fresh and ripened), as well from water, silage, milk and endogenous starter culture from different farms and identify its origin by establishing phylogenetical relations between these samples.

**Materials and methods.** Lab were isolated and enumerated on M17 and MRS agars, submitted to screening tests such as Gram and catalase, followed by molecular identification by 16S-23S PCR, and later by (GTG)5-PCR fingerprinting and 16S rRNA gene sequencing.

**Results.** The 16S-23S PCR results showed that from a total of 87 lab, 34 were identified as *Lactobacillus* / *Pediococcus* / *Weisella*, 42 as *Enterococcus*, and 11 as *Streptococcus* / *Lactococcus*. Later, these 34 lab previously identified as *Lactobacillus* and *Pediococcus* were submitted to (GTG)5-PCR in order to evaluate the phylogenetical resemblances between them. A total of 25 lab were identified as *Lactobacillus plantarum*, three as *Lactobacillus brevis*, two as *Lactobacillus paracasei*, two as *Lactobacillus rhamnosus* and two as *Pediococcus acidilactici*.

**Conclusions.** These results show that lab occurs in different environments of cheese production, evidencing phylogenetical similarities even when isolated from different farms and sources such as water, silage, endogenous starter culture or ripened cheese.

### TLP-690. Analyzing the possible relationship between *Staphylococcus* spp. virulence factors isolated from bovine mastitis and antimicrobial therapy

Eveline Zuniga\*, Andre B. S. Saidenberg, Patricia Braconaro\*, Sandra R. S. Salaberry\*, Fernanda F. Gonsales\*, Marco A. Laes\*, Priscilla A. Melville\*, Nilson R. Benites\*

\*Universidade de São Paulo, Brasil.

**Introduction.** The presence of bacterial virulence factors such as adhesins and biofilm can play an important role against host immune defense and antimicrobial therapy. This is suspected to severity or persistence in bovine clinical and subclinical mastitis caused by *Staphylococcus* spp. The present study verify, by PCR, the presence of genes that encode microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules (mscramms), as collagen binding protein (CNA), laminin (ENO), elastin (EBP), fibrinogen (FIB), fibronectin binding protein a (FNBA) and b (FNBB), protein associated with biofilm formation (BAP); and associate the presence of these genes with antimicrobial susceptibility.

**Materials and methods.** One thousand and twelve teats (from 253 animals) were analyzed by california mastitis test (CMT) and strip cup test,

being 313 subclinical and 51 clinical mastitis. *Staphylococcus* spp. Was isolated in 106 subclinical and 29 clinical mastitis samples.

**Results.** PCR results showed the occurrence of 82.08% ENO, 71.7% FIB and 56.6% BAP for subclinical and 89.66% ENO, 62.07% FIB and 41.38% ebp for clinical mastitis. The eno gene frequency was the highest in both manifestation of mastitis ( $p < 0.05$ ). From these results, 18 antimicrobials were used to evaluate the resistance, and correlated with the presence or absence of surveyed genes from subclinical and clinical mastitis.

**Conclusions.** As a conclusion, the results show that the majority of antibiotics worked better in the absence of the genes (15 of 18), an evidence of their malign effects on the treatment of the inflammatory process. The highest sensitivity was shown by cephalexin, ceftiofur, enrofloxacin and norfloxacin (83-100%) for both clinical and subclinical mastitis.

### TLP-691. Atividade antimicrobiana de própolis do sul do Brasil frente a diferentes cepas de mollicutes

Camila Nascimento A.\*, Marco Aurélio Sivero M.\*, Aline Teixeira A.\*, Antonio Salatino\*, Maria Luiza Faria S.\*, Jorge Timenetsky\*, Guilherme Barreto C.\*

\*Universidade de Santo Amaro (UNISA)/  
Universidade de São Paulo (USP) Brasil.

**Introdução.** A própolis é uma substância resinosa produzida por abelhas usando de diferentes plantas. Ampla variedade de efeitos farmacológicos, como, anti-inflamatório, imuno-modulador e antimicrobiano foram descritos. A própolis parece ser ativa contra vários microrganismos, apresentando-se, assim, como fonte de novas drogas antibacterianas. O objetivo do estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana de frações do extrato de própolis contra cepas de mollicutes.

**Materiais e métodos.** Própolis foi obtida em itapara (PR, Brasil) de colônias de apis mellifera. Extratos foram obtidos em aparelho soxhlet, por 6 h, utilizando cinco solventes (n-hexano, n-hexano acetato, acetato, etanol e água). Cepas de referência (*Mycoplasma penetrans*, *M. hominis*, *M. genitalium* e *M. pneumoniae*, *M. bovis* e *M. gallisepticum*) foram utilizadas nos ensaios de concentração inibitória mínima (CIM) realizados em microdiluição (placa de 96 poços). Frações do extrato (10 µl) foram testadas em diferentes concentrações (1000 µg/mL – 3,9 µg/mL) com 5% de etanol. O inóculo bacteriano (190 µl) variou de 10e3 e 10e5 ccu/mL-1 e foi incubado até mudança de cor do controle positivo. Os ensaios foram realizados em triplicata. Controles incluíram inóculos (mollicutes e meio), controle positivo (enrofloxacin) e esterilidade (apenas meio). CIM foi definida como: diluição na qual não houve mudança de cor no meio.

**Resultados.** Das frações testadas, a fração acetato foi a mais ativa contra diferentes espécies (*M. pneumoniae*, *M. gallisepticum*, *M. penetrans* e *M. genitalium*) com CIM <3,9 µg/mL. Fração etanol apresentou CIM de 7,8 µg/mL contra *M. pneumoniae*, *M. penetrans* e *M. genitalium*, e de 31,3 µg/mL contra *M. gallisepticum*; a fração de água apresentou melhor ação contra *M. gallisepticum* (15,6 µg/mL). Frações n-hexano e n-hexano acetato foram mais ativas contra *M. pneumoniae* (< 3,9 µg/mL). **Conclusões.** Os resultados demonstram a atividade antimicrobiana da própolis contra cepas de mollicutes. Isolar compostos químicos e identificá-los são os próximos passos.

### TLP-692. Resistência antimicrobiana em *Salmonella* spp. isoladas em uma planta de abate

Stéfani Thais Alves D.\*, Erika Carolina Romão B.\*, Bruna Fernanda Rossi\*, Mirella Rossitto Z.\*, Ivana Giovannetti C.\*, Aline Machado K.\*, Vera Lúcia Mores R.\*

\*Departamento de Microbiologia E Imunologia, Instituto de Biotecnologia, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" Botucatu - SP, Brasil.

**Introdução.** A resistência a várias classes de agentes antimicrobianos foi detectada em muitas bactérias de importância médica e veterinária e bactérias zoonóticas, como *Salmonella* spp. Recebem atenção especial. Alguns antimicrobianos usados no tratamento de infecções em humanos são utilizados também como promotor do crescimento, tratamento e prevenção de doenças em aves e esse uso indiscriminado pode causar maior resistência em populações bacterianas que podem circular em animais e humanos. O presente estudo teve por finalidade avaliar a resistência a antimicrobianos em amostras de *Salmonella* spp., isoladas em uma planta de abate.

**Materiais e métodos.** Foram testadas 42 cepas de *Salmonella* previamente isoladas em uma planta de abate. As amostras foram submetidas a testes de sensibilidade de disco-difusão de acordo com Bauer *et al.* (1966) e interpretadas conforme recomendações do CLSI (2012). Foram utilizados discos impregnados com ampicilina (10 µg), cotrimoxazol (30 µg), tetraciclina (30 µg), clorafenicol (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), cefotaxima (30 µg). A cepa *Escherichia coli* ATCC 2592 foi utilizada como controle.

**Resultados.** Das 42 cepas testadas 30 (71,4%) delas foram sensíveis a todos antibióticos testados, 7 (16,7%) apresentaram resistência intermediária ao clorafenicol ou ao cotrimoxazol e 10 (23,8%) cepas foram resistentes a pelo menos um dos antibióticos em questão. Entre as cepas resistentes, 3 apresentaram perfil de multi-resistência a dois ou mais agentes antimicrobianos.

**Conclusões.** A partir do perfil de sensibilidade pode-se concluir que a maioria das cepas foram sensíveis aos agentes antimicrobianos, porém foram encontradas cepas resistentes, o que pode dificultar a escolha terapêutica e o controle da infecção.

### TLP-693. Resultados microbiológicos obtidos en las inspecciones a los puntos críticos en la producción de hemoderivados

Etelvina Crespo F.\*

\*Cenpalab Cuba.

**Introducción.** Los productos de procesos productivos de biológicos en el cenpalab son inspeccionados por el grupo de *Escherichia coli* de la calidad en la producción de biológicos perteneciente a la dirección de calidad para verificar que éstos cumplen con las buenas prácticas de producción. Semanalmente se revisarán los puntos críticos decretados por los responsables de los diferentes procesos productivos, atendiendo a los puntos de inspección declarados en cada registro maestro del producto y a la documentación del proceso el objetivo de este trabajo fue valorar los resultados microbiológicos obtenidos en las inspecciones realizadas a la planta de hemoderivados en la obtención de sangre total de ovino (AO), sangre desfibrinada de ovino (AOF) y sangre total canino (AP) durante el año 2013.

**Materiales y métodos.** Para esto se trabajó teniendo en cuenta los pot inspección a los productos biológicos, POT: liberación y certificación de productos biológicos y el pot. Tratamiento y control de productos no conformes con las especificaciones de calidad.

**Resultados:** en los resultados obtenidos a los hemoderivados se detectaron varias no conformidades, comportándose de forma ascendente desde la AO, AOF y AP con 1.41%, 4.49% y 5.51% respectivamente. Este incremento mayormente fueron dadas por contaminaciones para lo cual se recomendó la revisión del POT de toma de muestra, el de limpieza y desinfección y que se rotaran los desinfectantes, siendo el resultado estadístico obtenido no significativo ( $p < 0,05$  prueba T).

**Conclusiones.** Las inspecciones realizadas demuestran la factibilidad del plan de inspecciones de productos biológicos a materias primas y productos finales, controlando y ejecutando el tratamiento a las no conformidades detectadas en el sistema, siendo de gran importancia para el control de la calidad de los hemoderivados que se producen en el cenpalab garantizando de esta forma la calidad requerida y especificada, que contribuye a la satisfacción y confianza por parte de nuestros.

### TLP-694. Rol del operón CYSJIH de *Salmonella typhimurium* en la resistencia a antibióticos bactericidas

Ricardo Álvarez\*, Germán Neumann\*, Jorge Frávega\*,  
Fernando Díaz\*, Cristóbal Tejías\*, Claudia P. Saavedra\*,  
Iván L. Calderón\*, Fernando Gil\*

\*Universidad Andrés Bello, Chile.

**Introducción.** Nuestro conocimiento de las respuestas bacterianas que ocurren como consecuencia de la interacción con los antibióticos aún permanece incompleta. Es así como se ha descrito que los antibióticos bactericidas al interactuar con su blanco primario estimulan la oxidación de NADH a través de la cadena transportadora de electrones aumentando las especies reactivas de oxígeno. En presencia de estrés oxidativo las bacterias activan sistemas globales involucrados en la respuesta antioxidante, pero además, se ha propuesto un mecanismo secundario que relaciona la resistencia antibióticos bactericidas, con un aumento en la producción

de sulfuro de hidrógeno ( $H_2S$ ). Este gas ha sido considerado como un sub-producto del metabolismo del azufre, sin una función fisiológica conocida. Considerando el posible rol del  $H_2S$  en la resistencia a ros y/o antibióticos bactericidas, el objetivo de este trabajo fue determinar que genes participan en la resistencia a antibióticos mediada por la producción de  $H_2S$ .

**Resultados.** En primer lugar realizamos un análisis de expresión de una serie genes relacionados con el metabolismo del azufre. Dentro de este estudio, los genes que presentaron un mayor aumento en su expresión frente a antibióticos bactericidas fue el operón CYSJIH, relacionado con la producción de  $H_2S$  a partir de sulfato. Al comparar la cepa mutante (CYSJIH) con la silvestre, la mutante resultó ser más sensible a algunos antibióticos bactericidas. Por otro lado, se evaluó la producción de especies reactivas de oxígeno frente a antibióticos, observándose una mayor producción en la cepa mutante. Posteriormente, se determinó la producción de  $H_2S$  en ambas cepas, resultando en una producción disminuida en la cepa mutante frente al tratamiento con antibióticos.

**Conclusiones.** Los resultados obtenidos sugieren que el operón CYSJIH participa previniendo el daño oxidativo asociado a antibióticos, aumentando la producción de  $H_2S$ .

### TLP-695. Gene TPEL and toxin TPEL in *Clostridium perfringens* isolated from chicken with necrotic enteritis

Luis Llanco\*, Viviane Nakano\*, Claudia T.P. Moraes\*,  
Roxane M.F. Piazza\*, Mario Julio Avila-Campos\*

\*Universidade de São Paulo - Instituto de Ciências Biomédicas E Instituto Butantan Brasil.

**Introduction.** Necrotic enteritis is an important disease affecting the poultry industry and causing severe impaired production and economical losses worldwide. *Clostridium perfringens* is the causal agent of necrotic enteritis and is recognized that toxins, such as alpha toxin and netb toxin are important virulence factors involved in the development of intestinal lesions. Large clostridial cytotoxins, including the recently discovered TPEL, affect the cellular morphology and they are related to intestinal diseases and myonecrosis. The role of tpe1 in the pathogenesis of necrotic enteritis is yet unclear; however, recent studies have suggested that this toxin increase the lesion severity. In this study, we report the presence of tpe1 in *C. perfringens* isolated from chickens with necrotic enteritis and the cytotoxic effect of tpe1 on vero cells.

**Materials and methods.** TPEL detection by PCR and cytotoxic assay on vero cells were evaluated.

**Results.** Seven (31.8%) out of 22 *C. perfringens* type a harbored the gene TPEL. ADNA sequencing to confirm to presence of the tpe1 in all the isolates was performed. Also, the bacterial supernatant was used to verify the cytotoxic effect on vero cells in five time kinetics (3, 6, 24, 48 and 72 h) of incubation. All the strains tpe1+ produced similar effect, such as morphological change characterized by the cell enlargement after 6 h, and after 48 h rounded cells were observed. At 72 h cell aggregates and an eventual detached from the well surface were observed.

**Conclusions.** The presence of toxin tpe1 in *C. perfringens* isolated from chicken with necrotic enteritis appear to be the first report in Brazil. Additional studies are necessary to determine the role of the toxin tpe1 of *C. perfringens* from different sources to verify its expression and mechanisms involved in necrotic enteritis. Financial support: cnpq 158799/2012-7 e-mail: vivinkn@usp.br; mariojac@usp.br.

### TLP-696. Inactivation of fluoroquinolone efflux pumps decreases bacterial biofilm formation in *S. aureus*

Ana Paula Becker\*, Cicero Dias\*, Alexandre Jose Macedo\*

\*Universidade Federal do Rio Grande do Sul Brasil.

**Introduction.** Bacterial biofilms cause numerous problems in health care and industry; notably, biofilms are associated with a large number of infections. Biofilm-dwelling bacteria are particularly resistant to antibiotics, making it hard to eradicate biofilm-associated infections. Bacteria rely on efflux pumps to get rid of toxic substances. Resistance to fluoroquinolones can occur through the overexpression of efflux systems. We suggested that efflux pumps are highly active in *S. aureus* bacterial biofilms, which makes it at least hundred times more resistant to antimicrobial compared to planktonic bacteria.

**Materials and methods.** Eight clinical isolates of *Staphylococcus aureus* (3,0x10<sup>8</sup> per well) were allowed to form biofilms overnight at 37°C in

96-well flatbottom microplates, with and without ciprofloxacin the following concentrations: 1/2 MIC, MIC and 2xMIC. Biofilm formation was monitored by crystal violet staining. The effect of reserpine (efflux pump inhibitor) final concentration 20 µg/mL was also determined.

**Results.** Eight clinical isolates resistant to ciprofloxacin were tested for growth and biofilm formation, and three of them showed greater ability to form biofilm in subinhibitory or inhibitory concentrations of ciprofloxacin. These isolates were subjected to the same test with the addition of reserpine and there was significant decrease in biofilm formation.

**Conclusions.** It has been known for decades that biofilm associated bacteria can tolerate antibacterial agents like detergents, biocides, and antibiotics far better than planktonic cells. However, in only few cases are the underlying mechanisms known in detail. Our findings suggest that bacteria in a biofilm can be more resistant and one of the phenomena that contribute to this resistance is the activation of efflux pumps within this biofilm, whereas adding an inhibitor, biofilm formation decreases. More studies are necessary to understand in depth the role of efflux pumps in *S. aureus* during biofilm growth.

### TLP-697. Construção e caracterização fenotípica de um isolado clínico de *Klebsiella pneumoniae* mutante para o fator sigma E

Cristiane Da Silva Dos Santos\*, Tércia Leonor de Godói\*,  
Lúcio Fábio Caldas F.\*

\*Universidade São Francisco Brasil.

**Introdução.** *Klebsiella pneumoniae* é um patógeno oportunista Gram-negativo, cujos principais sítios de infecção são os tratos gastrintestinal, respiratório e geniturinário. Dentre os fatores de virulência de *K. pneumoniae* associados a infecções pulmonares destacam-se a produção de cápsula polissacarídica e os genes WECA e WZM (síntese de LPS), CLPX (resistência à fagocitose), YBTQ, IUTA, IROD e IRON (captação de sideróforos) e RPOE. O gene *rpoE* codifica o fator sigma e que regula a expressão de genes envolvidos com a integridade do envelope celular, na resposta a condições estressantes e na sobrevivência do patógeno em macrófagos. O objetivo deste trabalho foi caracterizar fenotipicamente uma linhagem de *Klebsiella pneumoniae* mutante para o gene RPOE.

**Materiais e métodos.** Isolados clínicos de *Klebsiella pneumoniae* provenientes de infecções pulmonares foram caracterizados fenotipicamente quanto à presença de um possível fenótipo de hipermucoviscosidade (HMV) e capacidade de formar biofilme e produzir cápsula. Os isolados tiveram ADNA genômico e plasmidial extraídos para a genotipagem molecular dos genes de virulência associados a infecções do trato respiratório. Um dos isolados clínicos teve o gene RPOE mutado por meio da inserção de um intron grupo II, e foi submetido a condições de estresse (temperatura e pH).

**Resultados.** Nenhum isolado clínico apresentou o sorotipo capsular K1 ou K2 e o fenótipo HMV. Com exceção dos genes *iroD* (origem plasmidial) e *iuta*, os demais genes de virulência foram identificados em todos os isolados. O knockout do gene *rpoE* foi confirmado utilizando combinações de primers específicos. A linhagem mutante *rpoE* teve o crescimento afetado nas condições estressantes, quando comparada à linhagem selvagem.

**Conclusões.** A identificação de genes de virulência associados às infecções pulmonares é de grande importância para melhor compreendermos a patogenicidade de *K. pneumoniae*. O fator sigma demonstrou ser um importante regulador da manutenção do envelope celular, sendo essencial para a tolerância ao estresse em *Klebsiella pneumoniae*.

### TLP-698. Avaliação da atividade antibacteriana de umbeliferona sobre bactérias do trato gastrointestinal

Jessica Tauany A.\*, Carla Daiane Ferreira S.\*, Jaqueline Maria Siqueira F.\*, Marcelo Gonzaga de Freitas A.\*

\*Universidade Federal de São João Del-Rei Brasil.

**Introdução.** As cumarinas constituem uma classe de metabólitos secundários amplamente distribuídos no reino vegetal. Um importante derivado cumarínico é a umbeliferona (7-hidroxycumarina), uma benzopirona que está presente na natureza em frutos como maçã e laranja e que possui propriedades antimicrobianas. Frente à resistência que bactérias

tem apresentado aos antibacterianos usualmente utilizados, torna-se necessário a busca de compostos que sejam ativos e que tenham mecanismos de ação diferentes daqueles já disponíveis. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antibacteriano da umbeliferona utilizando amostras padrões Gram negativas *Escherichia coli* ATCC 25922, *Shigella sonnei* ATCC 11060 e *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 e Gram-positivas *Bacillus cereus* ATCC 11778 e *Enterococcus faecalis* ATCC 19433.

**Materiais e métodos.** Para os testes antibacterianos, a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi feita pela técnica de microdiluição em caldo e a avaliação da concentração bactericida mínima (CBM) pela técnica de microdiluição em ágar. A umbeliferona foi testada em concentrações que variaram 1000 µg/mL a 1,9 µg/mL. Foi utilizado como controle positivo penicilina + estreptomicina e como controle negativo dimetilsulfóxido. Os ensaios foram realizados em triplicata.

**Resultados.** Umbeliferona apresentou CIM de 62,5 µg/mL frente a *B. cereus*, CIM de 500 µg/mL frente a *S. typhimurium*, bem como CIM de 1000 µg/mL frente a *E. coli*, *S. sonnei* e *E. faecalis*. Além disso, o composto apresentou CBM de 62,5 µg/mL e 1000 µg/mL frente a *B. cereus* e *E. faecalis*, respectivamente.

**Conclusões.** Os resultados obtidos indicam que a umbeliferona possui atividade bacteriostática frente a três amostras Gram-negativas e duas Gram-positivas, bem como atividade bactericida frente a duas destas amostras Gram-positivas e Gram-negativas. Assim, os dados mostram a umbeliferona apresenta-se como um composto com potencial atividade sobre bactérias do trato gastrointestinal. A verificação da ação da umbeliferona frente a bactérias enteropatogênicas é importante tendo em vista que ela se encontra amplamente distribuída no reino vegetal, fazendo parte da alimentação do ser humano.

### TLP-699. Absence of selective pressure on environment reduces antimicrobial resistance determinants in multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*

Carolinie BN. Da Cruz Carolinie Nobre\*, Mary Joyce Targino Lopes M.\*,  
Paula Takita S.\*, Antonio Balieiro\*, Fabio Alessandro Pieri\*

\*Instituto Leônidas E Maria Deane - ILMD- Fiocruz Brasil.

**Introduction.** *Pseudomonas aeruginosa* causes severe invasive disease in critically ill and immunocompromised patients and its therapeutic is a challenge due to emerging multi-drug resistant *P. aeruginosa*. To worsen *P. aeruginosa* is widely distributed on environment for long periods being a major pathogens recovered in inefficient wastewater hospital treatment plant.

**Materials and methods.** The current study compared *Pseudomonas* spp.'s communities in surface water of a stream indicating presence of multi-drug *P. aeruginosa* in hospital effluents (treated and raw) in Manaus city in Brazilian Amazon. The molecular typing revealed multi-drug resistant *P. aeruginosa* clonally related to strains from stream.

**Results.** Despite distinct set of plasmids, our data showed a plasmid correlated to antimicrobial resistances of hospital effluent isolates that might be lost by clonally related isolates on environment.

**Conclusions.** Our study makes inferences on loss of antimicrobial resistance determinants of *P. aeruginosa* in the absence of selective pressure.

### TLP-700. A ausência do gene YCGR altera a adesão da amostra de *Escherichia coli* enteropatogênica atípica do sorotipo O55:H7 em células epiteliais *in vitro*

Juliana Suyama Higa\*, Hebert Fabricio Culler\*,  
Samuel Campanelli Freitas Couto\*, Min Jun Yang\*,  
Renato de Mello R.\*, Vanessa Bueris\*, Marcelo Palma S.\*

\*Laboratório de Genética - Instituto Butantan São Paulo, Brasil.

**Introdução.** *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC) apresenta a capacidade de causar uma lesão histopatológica denominada "attaching and effacing" (a/e) no epitélio intestinal. Os genes responsáveis pela produção da lesão a/e estão localizados na ILHA de patogêncidade *lee* (locus of enterocyte effacement). A bis-(3'-5')-monofosfato de guanosina cíclico (C-DI-GMP) é sinalizador envolvido na regulação de uma grande variedade de processos celulares. A proteína YCGR possui um sítio de ligação de C-DI-GMP e está envolvida diretamente na regulação do movimento flagelar através da ligação do complexo YCGR-C-DI-GMP à proteínas do aparato flagelar. O objeto do trabalho é avaliar uma possí-

vel influência do gene YCGR na regulação da adesão de uma amostra de AEPEC em célula epitelial *in vitro* na regulação da lesão A/E.

**Materiais e métodos.** Uma amostra do sorotipo O55:H7 foi escolhida para este trabalho. A deleção do gene YCGR foi realizada através de recombinação homóloga proposta por datsenko e wanner (2000). A complementação da amostra mutante O55:H7 foi feita através da clonagem do gene YCGR em plasmídeo PBAD/MYC-HISA. Para analisar a transcrição dos genes presentes na região *lee* foram realizados PCR quantitativos em tempo real (QRT-PCR) dos genes EAE, LER e ESPA os ensaios fenotípicos de adesão em células epiteliais *in vitro* e teste de fas (fluorescent actin staining) foram realizados utilizando a linhagem celular hep-2.

**Resultados.** Os resultados de QRT-PCR demonstraram a redução na transcrição dos três genes analisados na amostra mutante O55:H7-YCGR, corroborando os resultados obtidos nos testes de adesão e fas onde foi possível observar uma redução tanto da adesão quanto da formação da lesão a/e na amostra com o gene YCGR deletado.

**Conclusões.** Nossos resultados sugerem que o gene YCGR parece estar envolvido na regulação da ILHA de patogenicidade LEE, alterando o padrão de adesão em células epiteliais, indicando que C-DI-GMP pode estar relacionado com a virulência de amostras de AEPEC.

### TLP-701. Estudio bacteriológico de la secreción mucosa del caracol gigante africano *Achatina fulica*, recolectados en el área metropolitana de Bucaramanga

Nelson Uribe D.\*, Arley Rey P.\*, Andrés Pereira P.\*,  
Paola López R.\*, Jennifer Castro O.\*

\*Grupo Giem, Universidad Industrial de Santander, Colombia.

**Introduction.** *Achatina fulica* es un molusco invasor de importancia para la salud pública por ser vector y hospedador de patógenos. Se sabe que este caracol es hospedador intermediario de dos especies diferentes de parásitos en humanos: *Angiostrongylus cantonensis* y *Angiostrongylus costaricensis*. Además, se ha aislado de *A. fulica* la bacteria Gram negativa *Aeromonas hydrophila* la cual produce enfermedad intestinal y extraintestinal en personas inmunocomprometidas. Objetivo general. Realizar el estudio bacteriológico de la secreción mucosa de *A. fulica*.

**Materials and methods.** Se recolectó un pool de secreción mucosa mediante estimulación directa de los caracoles con corriente eléctrica de 9V; conservando un protocolo de asepsia para evitar la contaminación de la muestra. Se realizaron cultivos en medios sólidos (agares sangre, MacConkey y nutritivo) de la muestra entera y de sus fracciones soluble y mucoproteica. los aislamientos se identificaron mediante pruebas bioquímicas y características fenotípicas.

**Results.** Se aisló un bacilo Gram negativo, beta hemolítico, fermentador, mótil cuyas pruebas bioquímicas preliminares son compatibles con la bacteria *Aeromonas hydrophila*.

**Conclusions.** Este hallazgo podría concordar con los reportados en otras investigaciones, y alertaría sobre la presencia de esta bacteria en los caracoles que invaden el área metropolitana de Bucaramanga.

### TLP-702. Efeito de inibidores de serina peptidase na biologia celular e aspectos da virulência de *Candida parapsilosis*

Rafael Messias G.\*, Lys Adriana Braga-Silva\*,  
Diego de Souza G.\*, André Luis Souza Dos S.\*

\*Universidade Federal Do Rio de Janeiro Brasil.

**Introdução** *Candida parapsilosis* é segundo agente etiológico mais isolado das fungemias na América Latina, acometendo principalmente indivíduos imunossuprimidos. As peptidases parecem exercer um importante papel na patogênese da candidíase e frente ao reduzido arsenal de drogas existentes, além do crescente número de casos de resistência aos tratamentos disponíveis, os inibidores proteolíticos podem ser um importante novo alvo terapêutico. O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de inibidores de serina peptidases em diferentes aspectos da biologia celular e fatores de virulência de *C. parapsilosis*.

**Materiais e métodos.** Utilizando-se a cepa de *C. parapsilosis* (ATCC 22019), diferentes inibidores de serina peptidases foram analisados quanto a capacidade de inibir a proliferação fúngica através de UFC. O inibidor com maior taxa de inibição foi selecionado e avaliaram-se seus efeitos

em diferentes aspectos de *C. parapsilosis* como tamanho e complexidade celular, expressão de moléculas de superfície, formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e produção de lipídeos neutros por citometria de fluxo, alterações de ultraestrutura através de microscopia eletrônica de varredura, formação e viabilidade de biofilme, adesão a substratos abióticos (poliestireno e vidro) e produção de esterol por HPTLC.

**Resultados.** O inibidor de serina peptidase TPCK apresentou maior capacidade de bloquear a proliferação de forma dependente da concentração e número de células fúngicas. TPCK foi capaz de interferir no tamanho, granulidade e ultraestrutura, e interferir na capacidade de adesão dos fungos a substratos abióticos. A viabilidade do biofilme e a expressão de moléculas de superfície como glicoconjugados e proteínas foram inibidas por TPCK. Contrariamente, TPCK induziu um aumento da expressão de lipídeos neutros (ergosterol) e um acúmulo intracelular de ros.

**Conclusões.** O inibidor de serina peptidase TPCK foi capaz de interferir com diversos aspectos da biologia celular e virulência de *C. parapsilosis*.

### TLP-703. Incidência de *Aspergillus* seção flavi e aflatoxinas em grãos de milho de diferentes cultivares e condições de adubação nitrogenada

Helena Paula Viaro\*, Josué José Silva\*, André Luiz Martinez O.\*,  
Larissa de Souza F.\*, Elisabete Yurie Sataque O.\*,  
Fernanda Pelisson M.\*, Maria Helena Pelegrinelli F.\*

\*Universidade Estadual de Londrina Brasil.

**Introdução.** O milho pode ter sua qualidade comprometida em função da presença de aflatoxinas (AF) que ocasionam agravos à saúde humana e animal, essas, estão associadas aos *Aspergillus* seção flavi. A taxonomia dessa seção é complexa e relevantes mudanças ocorreram após a introdução de métodos de identificação molecular. Nos últimos seis anos, oito novas espécies produtoras de afb e afg, foram descritas. O objetivo deste trabalho foi identificar através de métodos moleculares espécies da seção flavi em quatro genótipos de milho cultivados em diferentes condições de adubação nitrogenada.

**Materiais e métodos.** O experimento foi conduzido no paraná, Brasil, e delineado de maneira multifatorial 4x4. Foram avaliados um híbrido comercial, duas variedades sintéticas, e uma variedade crioula. Os cultivares foram avaliados em quatro condições de tratamento nitrogenado: adubação nitrogenada de cobertura; inoculação com diferentes estirpes de *Azospirillum*: UEL01 e ABV5; sem adubação de cobertura, sem inoculação. A análise dos níveis de aflatoxinas foi feita por HPLC. Os fungos foram isolados em meio DG18. A análise molecular foi feita por meio de AFLP e sequências de nucleotídeos do gene *benA*.

**Resultados.** A quantidade de aflatoxinas nos grãos variou desde não detectado até 930 µg/kg. A condição nitrogenada não foi determinante para inibir a presença de aflatoxinas. Dentre os *Aspergillus* da seção flavi, foram identificados molecularmente: *A. flavus* (88%), *A. toxicarius* (7%), *A. pseudocaelatus* (3%) e *A. arachidicola* (1%). As duas últimas espécies, produtoras de AFB+ABG, foram detectadas pela primeira vez em milho. A ocorrência de afg esteve associada à presença de espécies produtoras de AFB+AFG. A presença da afb variou nos diferentes tratamentos, mas não esteve associada à incidência de *A. flavus* que segundo a literatura contempla isolados produtores e não produtores de AFB.

**Conclusões.** apesar do predomínio de *A. flavus* em grãos de milho outras espécies da seção flavi tem contribuído consideravelmente na contaminação por aflatoxinas.

### TLP-704. *Saccharomyces cerevisiae* UFMG A-905 reduz os danos causados pela mucosite induzida por irinotecano em camundongos

Rafael Wesley B.\*, Silvia Helena Sousa Pietra P.\*,  
Matheus Aires R.\*, Christiane Teixeira C.\*, Simone de  
Vasconcelos G.\*, Jamil Silvano de O.\*, Luciana Mara Costa M.\*,  
Angélica Thomaz V.\*, Valbert Nascimento C.\*, Rosa Maria  
steves A.\*, Jacques Robert Nicolli\*, Flaviano Dos Santos M.\*

\*Universidade Federal de Minas Gerais Brasil.

**Introdução.** Mucosite gastrointestinal é um dos principais e mais graves problemas ocasionados pela terapia contra o câncer, podendo ser

danosa o suficiente para causar a interrupção do tratamento ou até mesmo levar o paciente a óbito. Até o momento, não há terapia efetiva contra a mucosite, embora alguns estudos indiquem que probióticos poderiam melhorar esse quadro clínico. O objetivo deste trabalho foi avaliar se a administração de um potencial probiótico, *Saccharomyces cerevisiae* linhagem UFMG A-905 (SC-905), protegeria camundongos contra mucosite induzida por irinotecano (CPT-11).

**Materiais e métodos.** Foi investigado se o tratamento com a levedura, inativada pelo calor e viável, administrada de forma preventiva (15 dias) e/ou curativa (5 dias) por gavagem, seria capaz de impedir a perda de peso, anorexia e manter a integridade da barreira da mucosa em camundongos swiss doentes. O tratamento com SC-905 viável (SC-905 VI) administrada de forma curativa mostrou ser capaz de proteger os camundongos contra os danos causados pela quimioterapia, ao passo que os outros tratamentos não. Dessa forma, foram avaliados, em seguida, se o efeito protetor poderia estar associado: a modulação da microbiota indígena, alteração da concentração de SN-38 (forma ativa do CPT-11) no fluido intestinal, estimulação da produção de defesa antioxidante (glutaciona reduzida) e consequente diminuição da geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), prevenção da destruição das células calciformes e indução da recuperação da mucosa intestinal.

**Resultados.** Os resultados constataram que a terapia com SC-905 vi causa aumento na produção de glutaciona reduzida, impede a ampliação dos danos causados pelos radicais livres, estimula a replicação celular nas criptas intestinais, e previne a redução das células calciformes, o que explica, em partes, a melhora clínica e no âmbito histológico dos animais tratados.

**Conclusões.** Conclui-se que SC-905 protege animais contra mucosite induzida por irinotecano, dependendo do regime de administração utilizado, mostrando-se, assim, um potencial probiótico para testes clínicos.

### TLP-705. Potencial antimicrobiano de la lectina de *Pleurotus ostreatus* frente a fitopatógenos

Micaela Gadola\*, Laura Franco F.\*, Silvana Alborés\*

\*Depto. de Biociencias, Facultad de Química, Univ. de La República Uruguay.

**Introducción.** Las pérdidas de productos agrícolas causadas por plagas son una de las principales causas de inestabilidad en la empresa agrícola y del déficit alimentario mundial. Por ello es importante la búsqueda de nuevos compuestos activos y nuevas estrategias de control efectivas y seguras para el medio ambiente y los consumidores. Ciertas proteínas presentan la capacidad de inhibir el crecimiento microbiano, y participar de mecanismos de defensa de la planta frente a fitopatógenos. En particular, algunas lectinas (proteínas de reconocimiento específico y reversible a carbohidratos) son potenciales agentes antimicrobianos. Su caracterización permite avanzar en el desarrollo de nuevas drogas de aplicación en el área agrícola. Previamente trabajamos en la bioprospección de lectinas fúngicas. El objetivo en este trabajo fue producir y purificar una lectina del hongo *Pleurotus ostreatus* y evaluar su actividad antimicrobiana frente a fitopatógenos.

**Materiales y métodos.** Luego de 14 días de cultivo (28°C, en medio extracto de malta) el micelio de *P. ostreatus* se filtró, pulverizó y resuspendió en buffer PBS. Se centrifugó y el sobrenadante fue utilizado para la purificación de la lectina. Los extractos con actividad lectina (hemaglutinante) fueron aplicados a columna de intercambio iónico. La lectina purificada fue utilizada en ensayos de actividad antimicrobiana *in vitro* (difusión en agar y determinación de concentración inhibitoria mínima) frente a nueve especies de fitopatógenos.

**Resultados.** La lectina fue purificada obteniéndose 86% de rendimiento. En ensayos de difusión en agar se observó inhibición frente a *X. vesicatoria*, *A. niger*, *F. oxysporum* y *A. alternata*. los valores de CIM fueron 610 µg/mL para *X. vesicatoria*, 156 µg/mL para *A. niger*, mayor a 2500 µg/mL para *F. oxysporum* y 156 µg/mL para *A. alternata*.

**Conclusiones.** Se obtuvo una lectina de *Pleurotus ostreatus* con alto grado de pureza y se detectó actividad antimicrobiana de dicha lectina frente a fitopatógenos.

### TLP-706. *Aspergillus section nigri* isolated from grapes: identification and detection of genes involved in the biosynthesis of ochratoxin and fumonisin

Larissa Souza F.\*, Daniele Sartori\*, Rafael Elias Silva Penha\*, Fernanda Pelisson Massi\*, Beatriz Thie Iamanaka\*, Marta Hiromi Taniwaki\*, Maria Helena Pelegrinelli Fungaro\*

\*Universidade Estadual de Londrina Brasil.

**Introduction.** About 50% of Brazilian grape production is destined for processing (wine, juice and derivatives). In 2012, 830 million tons of Brazilian grapes were processed. Several surveys conducted especially in European countries, have demonstrated the presence of toxigenic fungi in grapes. The *Aspergillus* belonging to section nigri have drawn attention due to the possible production of fumonisin and ochratoxin. The objectives were isolate and identify *Aspergillus section nigri* of grapes for juices collected in the state of Paraná (Brazil) and detect genes involved in the biosynthesis of ochratoxin and fumonisin.

**Materials and methods.** Samples of five varieties of grapes were plated on drbc medium (100 berries). *Aspergillus section nigri* were isolated in Czapek yeast extract and identified by analyzing the nucleotide sequence of the cam (calmodulin) gene. The presence of mycotoxins encoding genes was investigated by multiplex PCR.

**Results.** The incidence of *Aspergillus section nigri* in grapes ranged from 0 to 38%. From a total of 118 isolates identified, 47% belonged to the species *A. japonicus*, 23% to *A. uvarum*, 21% to *A. niger*, 3% to *A. tubingensis*, 3% to *A. aculeatus* and 3% to *A. welwitschiae*. Of 28 isolates identified as *A. niger* or *A. welwitschiae* fum8 presence of the gene (essential for the biosynthesis of fumonisins) was detected in 78% of the isolates. The presence of fad and pks genes (essential for the biosynthesis of ochratoxin) was detected in only 14% of the strains analyzed.

**Conclusions.** Grapes for the manufacture of juices produced in Paraná showed that the incidence of the fungi with fumonisin gene presence was higher than the fungi with the ochratoxin gene.

### TLP-707. Incidence of *Aspergillus niger* in onion bulbs and a survey of genes involved in ochratoxin and fumonisin biosynthesis

Fernanda Pelisson M.\*, Karla Murata V.\*, Beatriz Iamanaka\*, Marta Hiromi T.\*, Maria Lúcia Carneiro V.\*, Claudia Martinez\*, Maria Helena Pelegrinelli F.\*

\*Universidade Estadual de Londrina Brasil.

**Introduction.** *Aspergillus section nigri* are often found in foods. Currently, 28 species are recognized in this section but differences between them are often subtle requiring molecular and morphological methods for their identification. Some species are known as toxin producers, including ochratoxins and fumonisins. In Brazil, *Aspergillus section nigri* has been found in onions, but its contribution for increasing the consumption of ochratoxins and fumonisins is unknown. We aim to examine the incidence of *Aspergillus niger sensu stricto* and *A. welwitschiae* in onion bulbs (allium cepa) commercialized in Brazil, and determine the occurrence of strains harboring ochratoxin and fumonisin genes.

**Materials and methods.** Pieces of tissue from the outer and inner side of the bulb scale as pieces of roots from 23 onion samples, collected monthly, were treated with 0.4% NaOCl for 2 min, plated in dg18 medium and incubated (25°C, 7 days). All fungal isolates were analyzed by means of a tetraplex-PCR to simultaneously detect: *A. niger/A. welwitschiae* species, the presence of the r-oxoamine synthase (AN01G06870) gene, essential for fumonisin biosynthesis, fad-binding oxidoreductase (AN15G07880) and polyketide synthase (AN15G07920), both essential for ochratoxin biosynthesis.

**Results.** The incidences of *Aspergillus section nigri* species in skins from the outer and inner side of the bulb scale was 37.9% and 54.1%, respectively; in roots the occurrence was 39.1%. Approximately 92% of the isolates belong to *A. welwitschiae* and 8% to *A. niger* and isolates varied relative to the presence of genes involved in mycotoxin biosynthesis. The gene encoding r-oxoamine synthase was found in 40% of the isolates, but only 10% were found to have fad-binding oxidoreductase and polyketide synthase encoding genes.

**Conclusions.** *A. welwitschiae* is frequent in onions; about half of the isolates have key genes for toxin biosynthesis. The investigation on the A.

*welwitschiae* ability to produce fumonisins and ochratoxin in onions is a predominant need.

### TLP-708. Inhibitory effects of hydroethanolic extract of *astronium urundeuva*-loaded nanostructured system on growth of *Candida albicans* hyphae

Bruna Vidal B.\*, Matheus Aparecido Dos Santos R.\*, Patrícia Bento Da S.\*, Kamila Maria Silveira N.\*, Carlos Eduardo Brantis de C.\*, Leonardo Perez de S.\*, Wagner Vilegas\*, Marlus Chorilli\*, Tais Maria Bauab\*

\*Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP Brasil.

**Introduction.** The incidence of fungal infections has increased over the past few years, especially those caused by *Candida* species. Considered an opportunistic dimorphic fungus, *C. albicans* can grow in a saprobic yeast stage or as filamentous forms of either pseudohyphae or true hyphae associated with several infectious processes. In addition, antifungal drug resistance and side effects have encouraged researchers to search for natural sources, especially when their properties are enhanced by nanotechnological advances. *A. urundeuva* (allemão) engl. (anacardiaceae) comprises several medicinal properties including antimicrobial activities. This work aims to evaluate the fungal growth inhibition of hydroethanolic extract of leaves from *A. urundeuva* loaded or not loaded into a nanostructured system (10% oil phase, 10% surfactant and 80% aqueous phase) prepared by sonication.

**Materials and methods.** *C. albicans* (ATCC 10231) previously incubated for 48 h were transferred to 96-well microplate containing rpmi 1640 medium supplemented with 10% fetal bovine serum to obtain a final concentration of  $2.5 \times 10^3$  cells/mL. The plant extract (1000-7.81 µg/mL) and amphotericin b (16 µg/mL - positive control) were added to the growth medium and the microplates were incubated at 37°C for 12 and 24 h. *C. Albicans* hyphal formation was observed under an inverted light microscope.

**Results.** *A. urundeuva* leaves that were loaded into the nanosystem significantly reduced the hyphae growth rate more than the unloaded extract. Microscopic observations revealed that when fungal cells were treated with free extract, the absence of filamentous cells were observed only for 1000 µg/mL after 12 and 24 h, whereas the extract loaded into the nanosystem ensured a better activity from 1000 to 15.6 µg/mL (after 12 h) and from 1000 to 125 µg/mL (after 24 h).

**Conclusions.** The present study revealed nanostructured systems could significantly be used as an alternative to load plant extracts in order to provide a better antifungal activity.

### TLP-709. Evaluation of acid tartaric derivatives peptidomimetics inhibitors on the patogenicity of *Candida albicans*

Lys Adriana Dri\*, André Dos Santos\*

\*Instituto de Microbiologia Professor Paulo de Góes, UFRJ Brasil.

**Introduction.** Infections caused by *Candida* are an emergent problem. A key virulence factor produced by *C. albicans* is the secreted aspartyl proteinases (SAP) which may assist the fungus to colonize and invade host tissues. In the present study were tested eight compounds derivatives of tartaric acid in the cell patogenicity of *Candida albicans*. These compounds were synthesized for inhibiting aspartic proteases because their role in the propagation of several pathologies, such as acquired immunodeficiency syndrome (HIV-1 protease), hypertension (renin), malaria (plasmepsin) and candidiasis.

**Materials and methods.** Early, by means of molecular modeling was calculated the complexation energy of these compounds with sap2. Later, the effects of these compounds in the cell growth of *Candida albicans* were analyzed by ufc and the biofilm formed when the inhibitors were added before and together to yeasts placed into of 96-well polystyrene microtiter plate was evaluated by crystal violet staining. Beyond, the expression of sterols of membrane were detected by tlc and alterations in the cell ultrastructure were observed by scanning electron microscopy.

**Results.** Our results showed that the P6 derivate presented the best suited complexation energy with sap2, in a similar way to the standard inhibitor (a70450) bound within the crystal structure of sap2/a70450 complex. P6 and p4oh played the more expressive antiCandida activity among inhibitors tested and for this reason they were selected for the experiments later. P6 and p4oh blocked the transformation of yeast cells to germ-tube and also reduced significantly the formation biofilm. In

correlation to these results P<sub>6</sub>OH and p6 caused drastic alterations in the cell ultrastructure and significantly inhibited the expression of sterols of membrane.

**Conclusions.** Cooperatively, these results presented herein suggest that these compounds interfere with essential processes of *C. albicans* of great relevance in the pathogenicity of *Candida albicans*. Financial support: CNPQ, FUJB and FAPERJ.

### TLP-710. APDEF1, a defensin of *adenanthera pavoni* seeds, induces hydrogen peroxide, membrane permeabilization and shows strong antimicrobial activity against the yeast model *Saccharomyces cerevisiae*

Júlia Ribeiro S.\*, Julia Miranda F.\*, Géssika Silva S.\*, Mariana Regente\*, Laura de La Canal\*, Valdirene Moreira G.\*, André de Oliveira C.\*

\*Universidade Estadual Do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF Brasil.

**Introduction.** Different types of antimicrobial peptides (AMPS) have been identified in seeds of different plant species, and they have a broad spectrum of inhibitory activity which includes Gram-negative and -positive bacteria, fungi and other parasites. The objective this study was evaluate the antimicrobial activity of the defensin APDEF1 against the yeast model *Saccharomyces cerevisiae*.

**Materials and methods.** Peptides were extracted from the seeds and submitted to ammonium sulfate fractionation, dialyse against distilled water and then submitted to chromatographic methods. A peptide of 7 kda was sequenced and tests were performed to evaluate its antimicrobial activity by determining the minimum inhibitory concentration (MIC), the capacity of permeated membranes analyzed through the uptake of dye sytox green and induction of the production of hydrogen peroxide by the cells after treatment with the defensin by marking with diaminobenzidine (DAB).

**Results.** The primary structure of this peptide showed homology with defensins of plants and we named this peptide APDEF1. This defensin was able to inhibit the growth of *S. cerevisiae*, presenting mic of 40 µg/mL and an antimicrobial activity fungicide, require a maximum of 18 h to cause the unfeasibility of cells. The test of permeabilization of membranes revealed that the APDEF1 was able to modify the plasma membrane of yeast. The treatment with the 2.5 µg/mL of the defensin induced the production of hydrogen peroxide after 18 h of assay.

**Conclusions.** These results show that the defensin APDEF1 presents a strong antimicrobial activity against cells of yeast killing them in 18 h. The cells after treatment present the membrane permeabilized and with an increase in the production of hydrogen peroxide. These results show that there is a great potential to use it as a new drug for the treatment of fungal diseases, further studies are necessary for the understanding of its complete mechanism of action.

### TLP-711. Efeito de inibidores de metalopeptidases sobre aspectos múltiplos da bioquímica e biologia celular do fungo *Pseudallescheria boydii*

Bianca Alcantara Da S.\*, Malachy Mccann\*, Andre Luis Souza Dos Santos\*

\*Universidade Federal Do Rio de Janeiro (UFRJ) Brasil.

**Introdução.** *Pseudallescheria boydii* (anamorfo scedosporium apiospermum) é um fungo amplamente distribuído na natureza. As patologias ocasionadas por esse microrganismo podem ser desde lesões subcutâneas até infecções disseminadas. O tratamento da pseudallescheriose é difícil, uma vez que esse fungo possui resistência intrínseca a maioria dos antifúngicos utilizados na clínica. Além disso, pouco se sabe sobre os fatores de virulência expressos por esse patógeno. No presente trabalho, testamos o efeito de diferentes inibidores de metalopeptidases 1,10-fenanolina, fendio, Cu<sup>2+</sup>-fendio e Ag<sup>2+</sup>-fendio sobre aspectos múltiplos da biologia celular e bioquímica de *P. boydii*.

**Materiais e métodos.** Os compostos foram testados sobre (I) atividade proteolítica através de sds-page, (II) crescimento celular, adesão a superfícies abióticas e formação de biofilme em placa de poliestireno, (III) expressão de moléculas de superfície através de citometria de fluxo e (IV) alterações na ultraestrutura celular por microscopia eletrônica de varredura.

**Resultados.** Os compostos utilizados nesse estudo foram capazes de inibir as peptidases secretadas pelo fungo além de inibir a viabilidade celular de conídios e micélio de *P. boydii*. Os inibidores também foram capazes de inibir o processo de diferenciação celular *in vitro* de forma dose dependente e inibiram o processo de interação celular do fungo com células hospedeiras. Através de citometria de fluxo, observou-se que o composto derivado de cobre foi capaz de inibir a expressão de proteínas manosiladas na superfície dos conídios, bem como a expressão de peptidomannana. Através de microscopia eletrônica de varredura observamos que os inibidores causam grandes alterações na ultraestrutura da célula fúngica.

**Conclusões.** Coletivamente, nossos resultados demonstraram que os inibidores de metalopeptidases foram capazes de bloquear processos biológicos essenciais em *P. boydii*, tais como: crescimento, diferenciação e interação com células do hospedeiro.

### TLP-712. Optimización del crecimiento micelial de los hongos ectomicorrízicos *Lactarius quieticolor* y *Rhizopogon roseolus* utilizando metodología de superficie de respuesta

Daniel Chávez\*, Ángela Machuca\*, Carolina Aguirre\*, Götz Palfner\*

\*Universidad de Concepción, Chile.

**Introducción.** La simbiosis micorrízica mejora la salud de las plantas aumentando la protección contra factores biótico, abióticos y mejorando la estructura del suelo. Se ha estudiado además que los hongos ectomicorrízicos *Lactarius quieticolor* y *Rhizopogon roseolus* favorecen el crecimiento de plantas en vivero y ayudan al establecimiento de plantaciones en campo. Actualmente se han desarrollado diferentes tipos de inóculo para la aplicación de estas especies en vivero siendo con la aplicación del inóculo micelial líquido donde se obtienen los mayores porcentajes de micorrización, sin embargo, los rendimientos de los micelios obtenidos son bajos por cultivo sumergido tradicional. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de las variables operacionales pH, temperatura y concentración de glucosa/manitol (g l<sup>-1</sup>) para maximizar el crecimiento de los hongos ectomicorrízicos bajo cultivo líquido, para su futuro escalamiento en biorreactor.

**Materiales y métodos.** Se utilizó el diseño Box-Behnken (BB) y la metodología de superficie de respuesta (RSM), estableciéndose las condiciones óptimas dentro de la región experimental ensayada.

**Resultados.** Se consiguió un aumento de la producción de biomasa de 1.2 g l<sup>-1</sup> a 3.25 g l<sup>-1</sup> (pH 5.5, temperatura 24°C y 20 g l<sup>-1</sup> de glucosa) para *L. quieticolor* y de 3.02 a 8.6 g l<sup>-1</sup> (pH 5.5, temperatura 28°C y 30 g l<sup>-1</sup> de manitol) para *R. roseolus*, considerando como control una condición de cultivo de pH 5.5, temperatura 24°C y 10 g l<sup>-1</sup> de glucosa para ambos hongos ectomicorrízicos.

**Conclusiones.** Estos resultados permitirán ser aplicadas en ensayos de producción de biomasa fúngica en biorreactor y posteriores inoculaciones de plantas de *P. radiata* en vivero.

### TLP-713. Efeito de inibidores de aspártico peptidase do HIV sobre a biologia celular do fungo oportunista *Trichosporon asahii*

Roberta Dos Santos V.\*, Vanessa de Jesus Reis\*, Lys Adriana Braga Da S.\*, Diego de Souza G.\*, Marcos Dornelas R.\*, Marta Helena Branquinho\*, André Luis Souza Dos S.\*

\*Universidade Federal Do Rio de Janeiro (UFRJ) Brasil.

**Introdução.** A tricosporonose sistêmica e invasiva, causada por *Trichosporon asahii* é a doença mais grave associada ao gênero, com altas taxas de morbidade e mortalidade. Acredita-se que *T. asahii* penetra no hospedeiro pelas vias respiratórias e/ou gastrointestinal, lesões na pele, alterações na microbiota intestinal ou através de dispositivos médicos inseridos no paciente. No presente trabalho, os efeitos dos inibidores de peptidases utilizados na quimioterapia anti-HIV (IPS-HIV) foram testados na atividade de aspártico peptidase secretada e em diversos aspectos da biologia celular de *T. asahii*.

**Materiais e métodos.** Os IPS-HIV (atazanavir, ritonavir, lopinavir, amprenavir, indinavir, nelfinavir e saquinavir) foram testados sobre (i) atividade de proteolítica através de SDS-page e dosagens fluorogênicas, (ii) crescimento celular, adesão a superfícies abióticas e formação de biofilme

em placa de poliestireno, (iii) expressão de moléculas de superfície e formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) através de citometria de fluxo e (iv) alterações na ultraestrutura celular por microscopia eletrônica de varredura.

**Resultados.** Nossos resultados demonstram que *T. asahii* foi capaz de secretar uma peptidase de 30 kda para o ambiente extracelular capaz de clivar a albumina presente no meio de cultura, usada como a única fonte de carbono. Essa peptidase foi detectada em condições ácidas (pH 4,0) a 37°C e inibida de forma dose-dependente por pepstatina e IPS-HIV. Nossos resultados também demonstraram que o saquinavir foi capaz de interferir no crescimento celular, na adesão a superfícies abióticas (vidro e plástico), na formação de biofilme, na expressão de moléculas de superfície (glicoconjugados ricos em manose e ácido siálico, quitina e lipídeos neutros), na ultraestrutura celular e na formação de ROS.

**Conclusões.** O saquinavir foi capaz de interferir de forma significativa em diversos processos vitais de *T. asahii*, sugerindo que inibidores de aspártico peptidases podem ser importantes aliados na terapêutica da tricosporonose.

### TLP-714. Diversidade genética de *Fusarium* spp. e contaminação por fumonisinas em cultivares de milho

Josué José Silva\*, Helena Paula Viaro\*, Jaqueline Gozzi Bordini\*, Kátia Real Rocha\*, Larissa Souza Ferranti\*, Daniele Sartori\*, Josué Maldonado F.\*, Fernanda Pelisson M.\*, Maria Helena Pelegrine\*

\*Universidade Estadual de Londrina Brasil.

**Introdução.** O milho é uma cultura propensa à infecção por fungos toxigênicos, especialmente do gênero *Fusarium*. Dentre as toxinas de maior relevância, destacam-se as fumonisinas B1 (FB1) e B2 (FB2), causadoras de diversos agravos à saúde humana e animal. O objetivo deste trabalho foi investigar a presença de FB1 e FB2 em quatro cultivares de milho e analisar a diversidade genética de *Fusarium* spp.

**Materiais e métodos.** Um híbrido comercial, duas populações sintéticas (ST509 e ST1309), e uma variedade crioula (caiano) foram avaliados em dois locais (Paraná, Brasil). A quantificação de FB1 e FB2 foi feita por hplc. Os grãos (3840) foram plaqueados em meio DG18. Um total de 160 isolados foi analisado por meio de AFLP. Vinte isolados de cada cultivar, incluindo os mais dissimilares, foram sequenciados (gene EF-1A) com vistas à identificação de espécies.

**Resultados.** Em ambos os locais o híbrido comercial apresentou maiores níveis de fumonisinas (3,5 a 9,1 ppm), maior percentual de grãos infectados por fungos (80 a 90%) e maior número de colônias de *Fusarium* spp. (24 a 32, em 30 grãos) em relação às variedades sintéticas e crioula. O dendrograma gerado com dados de AFLP (494 locos) revelou quatro grupos ao nível de 30% de similaridade genética. As sequências de uma porção do gene EF-1A permitiu identificar quatro espécies: *F. verticillioides*, *F. subglutinans*, *F. proliferatum* e *F. graminearum*. Dentre estas, *F. verticillioides* foi a espécie mais frequente (98%). A amostra obtida com os dados de aflp mostrou que há diferenciação na estrutura genética das populações fúngicas associada ao local de plantio e genótipo do cultivar.

**Conclusões.** As variedades sintéticas e crioula apresentaram-se menos contaminadas por *Fusarium* spp. e fumonisinas do que o híbrido comercial. Dessa forma, o uso dos recursos genéticos nativos se mostra útil na tentativa de reduzir a contaminação por fungos toxigênicos na cultura do milho.

### TLP-715. Draft genome sequencing and comparative analysis of *Puccinia psidii*

Maria C. Quecine\*, Sarina Tsui\*, Jaqueline R. Almeida\*, Andressa P. Bini\*, Livia M. Franschischini\*, David H. Moon\*, Gabriel Margarido\*, Carlos A. Labate\*

\*Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"-University Of São Paulo, USP, Piracicaba, SP Brasil.

**Introduction.** Globally, *Puccinia psidii* is potentially one of the most dangerous biotrophic fungal pathogens which primarily attacks member of the myrtaceae, including eucalypts. This pathogen has spread to 4 of the five continents and is currently threatening Australia the largest source of eucalypt germplasm. However, little is known about the biology and genetics of the *P. psidii*. Thus, the present study obtained the draft genome of genome of *P. psidii* as well as a comparative analysis of its genome with other draft genome from *Puccinia* genera.

**Materials and methods.** We sequenced *P. psidii* genomic DNA through 454 platform and the fungal draft genome was obtained by newbler de novo assemble. The contigs annotated by BLAST2GO. The fungal transposable elements were classified according to *giri*. In parallel, the data mining of partial mitochondrial genome sequences of *P. psidii* was performed and compared with mitochondrial genomes of *P. graminis*, *P. triticina* and *P. striiformis*.

**Results.** Almost 50% of the fungal sequences were associated with transposable elements that were classified mainly as retrotransposons, being the gypsy and copy most frequent families. Many genes were associated with the fungal catabolism, includes a large proportion of glycoside hydrolases from different families, some of which are related to pathogenic. Other sequences were associated with reproduction, cell cycle and differentiation, signal transduction, responses to stress and other classes that will help to improve our knowledge of fungal biology. Comparative analysis suggest a higher similarity of *P. psidii* genome and *p. Striiformis*. Similar result was obtained comparing the mitochondrial genomes of *Puccinia* genera.

**Conclusions.** To our knowledge that is the first set of useful genomic sequence information from *P. psidii*. Although the sequence assembly is only of a draft, it is a valuable resource for generating working hypothesis about the fungal pathogenicity and comparative analysis aiming at the better understanding of this pathogen.

### TLP-716. Avaliação da atividade antiinflamatória e antimicrobiana do *Agaricus sylvaticus* (schaefer)

Erna E. Bach\*, Nilsa S.Y. Wadt\*

\*Depto. Saúde, Uninove. São Paulo, SP, Brasil.

**Introdução.** O *Agaricus sylvaticus* schaeffer vem sendo cultivado em diferentes regiões do Brasil com nomes similares como agaricus blazei murril, *A. brasiliensis* mas todos são cogumelo do sol. Essa espécie de cogumelo vem despertando grande interesse por parte da comunidade médica e científica, devido à presença do polissacarídeo beta-glucana que é uma substância comprovadamente anti-mutagênica e fortalecedora do sistema imunológica. Trata-se de um produto natural vendido sob a forma desidratada, sendo consumido nas formas de chá e cápsulas. Este cogumelo é registrado na vigilância sanitária Brasileira como um complemento alimentar e não como fitoterápico. O objetivo do presente projeto foi realizar uma pesquisa sobre a atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico de *agaricus sylvaticus* e antiinflamatória do mesmo extrato e gel.

**Materiais e métodos.** Para a atividade antiinflamatória foi induzida a formação de tecidos granulomatosos em ratos wistar. Foi utilizado extrato hidroalcoólico de *Agaricus sylvaticus*, por percolação fracionada, via oral, e por via tópica com o extrato (10%) incorporado em gel sendo que, após seis dias, os animais foram sacrificados e retirados os granulomas. Foi calculada a diferença entre peso seco inicial e final.

**Resultados.** O extrato hidroalcoólico de cogumelo do sol, v.o., apresentou atividade antiinflamatória muito significativa, já topicamente o gel com 10% de extrato não apresentou atividade antiinflamatória. A dexametasona foi o controle positivo apresentando resultado extremamente significativo em ambos os ensaios. Com a relação à atividade antimicrobiana foi utilizada a metodologia de inoculação em profundidade em ágar contra bactérias *S. aureus*, *E. coli* e levedura *C. albicans*. O extrato inibiu em 31% o *S. aureus*, 4% a *E. coli* e 20% a *C. albicans*.

**Conclusões.** O extrato de cogumelo de sol apresentou grande potencial como fitoterápico. Suporte financeiro: CNPQ proc. 474681/2013-0.

### TLP-717. Activity in vitro of extract of *Syngonanthus nitens* incorporated or not incorporated in nanostructured system against biofilm of *Candida non-albicans*

Matheus Aparecido Dos Santos R.\*, Luciani Gaspar De Toledo\*, Giovana Maria Fioramonte C.\*, Larissa Sposito\*, Bruna Vidal Bonifácio\*, Kamila Maria Silveira N.\*, Patricia Bento Da S.\*, Lourdes Campaner Dos S.\*, Margarete Teresa Gottardo De A.\*, Marlus Chorilli\*, Tais Maria Bauab\*

\*School Of Pharmaceutical Sciences, São Paulo State University. Araraquara, São Paulo, Brasil.

**Introduction.** The fungal biofilms caused by *non-albicans* species have high rate of resistance to conventional drugs, which justifies the search

for new drug trials, growing the use of natural products in therapy. The plant *Syngonanthus nitens* bong. Ruhlland (*Eriocaulaceae*) shown to be active against fungi, which bring this studies with the objective of expanding yours pharmacological parameters. The use of nanotechnology bases have objective to eliminate toxic effects and enlarge the bioavailability, which highlight the precursors of mucoadhesive liquid crystal systems (PMLCS). This study aimed to the antifungal potential of the methanol extract scapes of *S. nitens* incorporated or not incorporated in PMLCS to the biofilms of *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, and *C. parapsilosis*.

**Materials and methods.** Clinical strains (12) and ATCC (4) were used. For the development of biofilm, the fungal suspensions (1x10<sup>8</sup> cells/mL) were added to 96-well plates which were incubated under rotation at 37°C for 2 h to pre adhesion. After incubation, the supernatant was discarded and ADDED rpmi-1640, after 24 h (2x). After 48 h the extract was added in concentrations from 20 to 0.6 µg/mL not incorporated form and incorporated [oleic acid, peg-5-ceteth-20 procetyl and a dispersion carbophol™ + policarbophyl 974p™]. The microplates were incubated for more 24 h. Amphotericin b (1.6 to 0.006 µg/mL) was used as control. After the last 24 h incubation, the reading was made using 2,3-bis (2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl) -5 - [carbonyl (phenylamino)] -2h-tetrazolium hydroxide (XTT).

**Results.** The extract incorporated in PMLCS was able to inhibit biofilm in all *Candida* species and in all analyzed concentrations and the extract not incorporated prove to be inactive.

**Conclusions.** The selectivity of the extract incorporated in PMLCS can be attributed to the mucoadhesive property of the system, which promoted direct contact with the biofilm, allowing release of the active principle longer.

### TLP-718. HIV aspartic protease inhibitors impair growth and extracellular proteolytic activity of *Phialophora verrucosa*

Marcela Granato\*, Celuta Alviano\*, André Santos\*, Lucimar Kneipp\*

\*Laboratório de Taxonomia, Bioquímica E Bioprospecção de Fungos, IOC, Fiocruz, RJ, Brazil. Departamento de Microbiologia Geral, Instituto de Microbiologia, CCS, UFRJ, Brasil.

**Introduction.** Chromoblastomycosis (CBM) is a chronic subcutaneous infection caused by dematiaceous fungi, such as *phialophora verrucosa*. Current therapies against cbm is poorly effective, producing relapses during treatment and problems with lack of tolerance to antifungal drugs. Several studies have shown that secreted peptidases are associated with important biological processes and fungal virulence. In this context, our group has focused on the identification, biochemical characterization and investigation of biological function of secreted proteases in black fungi. Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of HIV aspartic protease inhibitors (HIV PIS) on protease activity and cellular growth of *P. verrucosa*.

**Materials and methods.** *P. verrucosa* conidia were grown in yeast nitrogen base medium (YNB) and the supernatant concentrated (SC) culture obtained after 7 days. For enzymatic assays, the sc was incubated for 30 min at 37°C with cathepsin d fluorogenic substrate in absence or presence of HIV-PIS (100 µm) such as amprenavir, atazanavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir, saquinavir and tipranavir. Moreover, conidia were treated for 20 h with HIV PIS (100, 200 and 400 µm) and the growth rate was determined by counting the number of colony-forming units (CFUS).

**Results.** Our results showed that all HIV pis tested restrained the conidial aspartic protease activity. However, ritonavir and lopinavir were the most effective, inhibiting this activity at about 80%. We also showed that among the HIV pis, ritonavir and lopinavir were able to inhibit the fungal growth in a dose-dependent manner. At high inhibitors concentration, ritonavir and lopinavir inhibited 56% and 32% of fungal proliferation, respectively.

**Conclusions.** Taken together, our data contribute to the study of the effect of HIV pis on CBM fungi and add new insights into the possibility of exploiting aspartic peptidases as promising targets in order to generate novel therapies to CBM.



### TLP-719. Avaliação da atividade antifúngica de compostos sintéticos inéditos derivados da lausona no tratamento de candidíase vulvovaginal

Jessica Tauany A.\*, João Francisco Allochio F.\*, Rodolfo Goetze F.\*, Sandro José Greco\*, Carla Daiane Ferreira S.\*, Marcelo Gonzaga de Freitas A.\*, Jaqueline Maria Siqueira F.\*

\*Universidade Federal de São João DEL-REI, Brasil.

**Introdução.** A candidíase vulvovaginal é uma patologia de alta incidência. Seu tratamento com os antifúngicos usuais vem se mostrando ineficiente. As naftoquinonas exibem atividade antifúngica, por possuírem alta capacidade de geração de espécies reativas de oxigênio. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antifúngico e o mecanismo de ação de ligação ao ergosterol exógeno de 13 compostos sintéticos derivados da lausona (2-hidroxi-1,4 naftoquinona) contra oito Candidas.

**Materiais e métodos.** Foram utilizadas amostras padrão de *Candida albicans* (ATCC 10231), *C. krusei* (ATCC 34135) e *C. glabrata* (ATCC 2001), bem como cinco amostras clínicas de *C. albicans*. A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi feita pela técnica de microdiluição em caldo e a avaliação da concentração fungicida mínima (CFM) foi feita por microdiluição em ágar. Os compostos foram testados em concentrações que variaram 1500 µg/mL a 2,7 µg/mL. Cetoconazol e dimetilsulfóxido foram os controles positivo e negativo, respectivamente. A análise da ligação do composto sintético aos esteróis da membrana fúngica de *C. albicans* foi feita e o CIM deste composto foi determinado na presença e ausência de ergosterol (200 µg/mL).

**Resultados.** Os compostos m56 e m63 apresentaram CIM de 20 µg/mL e 85 µg/mL, respectivamente, frente à amostra padrão de *C. albicans*, bem como CFM de 80 µg/mL e 85 µg/mL, respectivamente. O composto m56 apresentou CIM de 170 µg/mL frente a amostra padrão de *C. glabrata*. O CIM do composto m56 frente a *C. albicans*, foi maior (80 µg/mL) na presença de ergosterol exógeno o que sugere que este composto pode agir ligando-se a membrana do ergosterol.

**Conclusões.** Os compostos m56 e m63 apresentaram atividade fungistática e fungicida frente a amostra padrão de *C. albicans*. O composto m56 mostrou atividade contra cepas clínicas e padrão de *C. albicans*. Esse composto mostrou a capacidade de se ligar ao ergosterol exógeno, sob condições experimentais. O composto sintético m56 pode ser considerado um promissor antifúngico.

### TLP-720. Growth inhibition of the leafcutter ant fungus *Leucoagaricus gongylophorus* by filamentous fungi

Isabela Calegari Moia\*, André Rodrigues\*

\*Universidade Estadual Paulista Brasil.

**Introduction.** Leaf-cutting ants (atta and acromyrmex) maintain a mutualistic interaction with the fungus, *Leucoagaricus gongylophorus*. Several filamentous fungi are also found in the fungus gardens of these insects, but little is known about their role in the ant-fungal interaction. Objective. To evaluate the effects of culture filtrates from filamentous fungi isolated from fungus gardens (and additional sources) on the growth of the ant mutualistic fungus.

**Materials and methods.** A total of 15 filamentous fungi were grown in 2% liquid malt extract for eight days at 25°C, under 120 rpm. The culture medium was filtered and centrifuged. Five mL of the recovered supernatant were transferred to petri plates (seven replicates per fungi) containing 5 mL of medium a. Control assays consisted of 5 mL of 2% liquid malt extract. Mycelia (8 mm in diameter) of the mutualistic fungus of *atta sexdens rubropilosa*, previously grown in medium a supplemented with oatmeal flakes (20 days at 25°C), were inoculated in the center of each plate. All plates were digitalized after 14 days of incubation and the diameter (cm) of the *L. gongylophorus* colony was measured.

**Results.** A total of 13 filtrates significantly inhibited the growth of the ant fungus compared to the control (anova 1-way,  $f = 1.3494$ ,  $p < 0.05$ ). Culture filtrates of *Syncephalastrum racemosum*, *Sarocladium kiliense* and *Trichoderma harzianum* significantly inhibited the ant cultivar in comparison to other microfungi. More interesting, we noticed that the inhibition activities are not restricted to filamentous fungi found in the fungus gardens of these insects, but also to fungi commonly found in soil and cocoa plants.

**Conclusions.** As an alternative for the use of chemical insecticides in controlling leaf-cutting ants, the filamentous fungi examined in this study may be potential Candidates for the biological control of these insects.

### TLP-721. Estudo dos parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos do fluconazol para avaliação da resistência de *Cryptococcus gattii* na Criptococose experimental

Julliana Ribeiro Alves Dos S.\*, Marliete Carvalho Da C.\*, Noelly Queiroz R.\*, Lais Hott R.\*, Rodrigo Assunção de H.\*, Gustavo José Cota de F.\*, Gerson Antônio P.\*, Isabela Costa C.\*

\*Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Brasil.

**Introdução.** O fluconazol apresenta características favoráveis ao tratamento da criptococose, no entanto, a sua recomendação tem sido limitada devido à emergência de isolados de *cryptococcus* resistentes aos azóis. Neste trabalho, a modelagem farmacocinética/ farmacodinâmica do fluconazol foi correlacionada com a resistência antifúngica em modelo murino de criptococose.

**Materiais e métodos.** Fluconazol (75 mg/kg) foi administrado em camundongos C57BL/6 para quantificação do fármaco em soro, pulmão e cérebro por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (LC-MS/MS). Para avaliar a influência da resistência adquirida na resposta ao fluconazol, foram testados dois isolados de *Cryptococcus gattii*: L27/01 e L27/01F (isolado l27/01 menos susceptível ao fluconazol) em modelo murino. O tratamento com fluconazol (10 ou 75 mg/kg) foi realizado para avaliação de sobrevida e de carga fúngica.

**Resultados.** Após o tratamento, os animais infectados com o isolado L27/01 apresentaram redução significativa da carga fúngica no pulmão, independente da dose testada. Estes resultados foram correlacionados com a modelagem farmacocinética/ farmacodinâmica do azólico, já que apenas as concentrações de fluconazol alcançadas no soro e no pulmão (68,1 e 20,3 µg/mL, respectivamente) foram superiores à CIM (16 µg/mL). Por outro lado, não houve redução de leveduras no cérebro, uma vez que a máxima concentração do azólico neste órgão (15,4 µg/mL) foi inferior à cim. Quando os animais foram inoculados com o fenótipo resistente, não houve resposta *in vivo*, confirmando que altos valores de CIM estão relacionados à falha terapêutica.

**Conclusões.** A modelagem farmacocinética/ farmacodinâmica é uma ferramenta importante no processo de avaliação da terapia antifúngica porque permite a predição da eficácia de um tratamento e possibilita uma melhor elucidação dos processos envolvidos na resistência dos microorganismos.

### TLP-722. Chemical, toxicological, anti-inflammatory and antimicrobial evaluation of *Ganoderma lucidum* extracts

Nilsa Sumie Yamashita W.\*, Marise Kiyoko Hasegawa O.\*, Edgar M. Bach H.\*, Erna Elizabeth Bach\*

\*Depto. Health, UNINOVE. Academic Nucleum In Experimental Biochemistry (Nabex), Unilus Santos, São Paulo. Brasil.

**Introduction.** *Ganoderma lucidum* (FR) Krast, a basidiomycete belonging to the *Ganodermataceae* family is one of the most famous traditional chinese medicinal herbs, used as a healthy food and in medicine. In Brazil the *Ganoderma* is produced as in China and is indicated as nutraceutical product.

**Materials and methods.** The objectives were to analyze different types of *Ganoderma* evaluating their chemical components, their anti-inflammatory and microbial effects, beyond acute toxicity. The  $\beta$ -glucan was dosaged with laminarin and analyzed by TLC. The anti-inflammatory assay was done by pellets cotton implantation, antimicrobial test was done by pour plate technique with agar, and acute toxicity test realized in only dosage, oral via (p.o), for 14 days.

**Results.** The results obtained demonstrated that extracts with hot water and water-ethanolic presented higher concentration of beta-glucan and proteins. Extract ethanolic presented higher concentration of free sugar and increased concentration of phenols when compared with others extracts, but doesn't have proteins. When make a mixture of water extract

with alcohol, there is a higher concentration of beta-glucan with protein and phenol. When compared samples from three states, the one from Brasília presented more beta-glucan, phenols, proteins and free sugar in all extractions. The hidroethanolic extract showed tannins, flavonoids, terpens, steroid nucleus when tested with specific reaction for each group. It showed an anti-inflammatory activity in rats and antimicrobial activity in pour plate assay for *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. It did not exhibit acute toxicology in mouse.

**Conclusions.** The *Ganoderma lucidum* showed  $\beta$ -glucan, proteins, sugars, tannins, flavonoids, terpens, steroid nucleus, anti-inflammatory, antimicrobial effect and no toxicity.

### TLP-723. Complexo *Candida haemulonii*: identificação de espécies e perfil de susceptibilidade aos antifúngicos de isolados clínicos do Brasil

Lívia Ramos\*, Maria Helena Figueiredo C.\*, Leonardo Barbedo\*, Mariangela Ziccardi\*, Alessandra Chaves\*, Rosely Zancopé O.\*, Marcia Pinto\*, Diana Sgarbi\*, Marcos Ribeiro\*, Marta Branquinho\*, André Santos\*

\*Universidade Federal Do Rio de Janeiro Brasil.

**Introdução.** Os patógenos fúngicos emergentes pertencentes ao complexo *Candida haemulonii* (*Candida haemulonii*, *Candida haemulonii* var. *Vulnera* and *Candida duobushaemulonii*) se destacam por apresentar um perfil de resistência aos antifúngicos utilizados na prática clínica. Doze isolados clínicos com fenótipo semelhante ao de *C. haemulonii* foram obtidos de pacientes em hospitais Brasileiros. O presente trabalho teve como objetivo identificar estes isolados através de técnicas moleculares, alocando-os dentro da atual classificação deste complexo, além de avaliar seu perfil de susceptibilidade aos antifúngicos.

**Materiais e métodos.** Os isolados foram reidentificados por métodos bioquímicos para confirmar a identificação prévia e, posteriormente, foram caracterizados por meio de sequenciamento do gene ITS1-5.8S-ITS2. Os testes de susceptibilidade foram realizados utilizando-se o método de microdiluição em placa publicado pelo CLSI (documentos M27-A3 e M27-S3).

**Resultados.** Todos os isolados foram identificados como *C. haemulonii* de acordo com os testes bioquímicos. Com o sequenciamento do gene ITS, cinco (41,7%) isolados foram classificados como *C. haemulonii*, quatro (33,3%) como *C. duobushaemulonii* e três (25,0%) como *C. haemulonii* var. *Vulnera*. Todos os isolados foram resistentes à anfotericina B (MICs entre 2 e >16 mg/L) e ao fluconazol (MICs >64 mg/L). Um isolado de *C. haemulonii* var. *Vulnera* e dois de *C. duobushaemulonii* foram susceptíveis dose-dependente ao itraconazol, enquanto os demais isolados (75%) foram resistentes a este antifúngico. Oito dos doze isolados (66,7%) apresentaram resistência ao voriconazol (MICs  $\geq$ 16 mg/L). Todos os isolados foram sensíveis à caspofungina (MICs  $\leq$ 0,5 mg/L).

**Conclusões.** Nossos resultados reforçam a importância da identificação molecular para diferenciar as espécies pertencentes ao complexo *C. haemulonii*. Além disso, o perfil de multirresistência dos isolados clínicos pertencentes ao complexo *C. haemulonii* aos antifúngicos representa um desafio ao tratamento das infecções causadas por estas espécies fúngicas emergentes.

### TLP-724. Ultrastructural changes induced by chitosan in *Aspergillus flavus*

Ilsa Cunha B.\*, Lucia Raquel Ramos B.\*, Marcos Antonio Barbosa de L.\*, Newton Pereira S.\*, Tania Lucia Montenegro S.\*, Thayza Christina Montenegro S.\*

\*Federal Institute Of Education Science And Technology Of Pernambuco. University Federal Of Paraiba. University Federal Rural Of Pernambuco. University Federal Of Pernambuco Brasil.

**Introduction.** Currently there has been a public concern with the presence of pesticide residues in food and the environment due to the use of synthetic fungicides in agriculture. Chitosan has been reported as a safer alternative to control phytopathogenic fungi during both pre- and postharvest processes. This study aimed to investigate ultrastructural effects of intermediate molecular weight chitosan at different stages of development of the phytopathogenic fungi *Aspergillus flavus*.

**Materials and methods.** Thus, an experiment was designed using two chitosan (sigma) concentrations which were added in the culture me-

dium at the beginning and after 24 h of incubation and grown for 3 days at 28°C, in orbital agitation at 150 rpm. The fungal biomass of *A. flavus* obtained after 3 days of cultivation in chitosan containing medium at 2.5 mg/mL and 5.0 mg/mL concentrations were washed in phosphate buffer and fixed in 2.5% glutaraldehyde, post-fixed in 1% osmium tetroxide, dehydrated in ethanol, dried in hexamethyldisilazane (hmde), mounted on aluminum support and sputter-coated with gold/palladium. The samples were then examined and photographed in the scanning electronic microscope - sem, jeol lv 5600, operating at 22 kv.

**Results.** Results showed that when chitosan was added at the beginning of cultivation the hyphae became distorted, with irregular cell surface and several swellings as well as was observed breakage and fragmentation of hyphae. The addition of chitosan after 24 h of incubation induced several ultrastructural changes such as spores and hyphae were deformed, flattened and wrinkled.

**Conclusions.** The data showed that chitosan is able to cause serious injury in spores and hyphae of *A. flavus*, demonstrating its potential as a natural replacement for synthetic fungicides in agriculture.

### TLP-725. Utilidad del chromagar *Candida*, pruebas bioquímicas, espectrometría de masas (MALDI-TOF) y PCR en la identificación de especies crípticas del complejo *Candida glabrata*

Soraya Eugenia Morales L.\*, Constanza Taverna\*, Maria Eugenia Bosco B.\*, Ivana Maldonado\*, Guillermo Manuel García E.\*, Susana Córdoba\*

\*Depto. de Micología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, INEL. Carlos G. Malbrán. Laboratorio DOMECCQ y LAFAGE. Laboratorio de Micología y Diagnóstico Molecular. Univ. Argentina. Buenos Aires, Argentina.

**Introducción.** *Candida nivariensis* y *C. bracarensis* son especies crípticas de *C. glabrata*, no identificables por la mayoría de los métodos fenotípicos. Objetivo: evaluar la utilidad del chromagar *Candida*, pruebas bioquímicas, maldi-tof y PCR para la identificación de estas especies crípticas

**Materiales y métodos.** Se incluyeron 117 cepas identificadas fenotípicamente como *C. glabrata*, ingresadas durante 1984 a 2013 al departamento micología del inel "C. malbrán". La identificación fenotípica se realizó mediante crecimiento en chromagar y pruebas bioquímicas. La identificación por espectrometría de masas se realizó por extracción en placa con ácido fórmico al 70%, (maldi-tof bruker microflex It, biotyper 3.1). Una puntuación mayor a 1,7 se consideró confiable a nivel de especie. Por PCR se amplificó el gen RPL31, que permite discriminar entre *C. glabrata* sensu stricto, *C. bracarensis* y *C. nivariensis* según tamaño del amplicón (1061pb, 902pb y 665pb respectivamente). Cepas control: *C. glabrata* ATCC 2001, *C. glabrata* DMIC 982882, *C. nivariensis* DMIC 134286.

**Resultados.** Tres cepas presentaron colonias blancas en chromagar, y 114 colonias lila. Todas las cepas fueron identificadas como *C. glabrata* por el método bioquímico por PCR y maldi-tof, se identificaron 114 cepas como *C. glabrata*, tres como *C. nivariensis*, ninguna como *C. bracarensis*. Para confirmar la identificación de *C. nivariensis*, se secuenciaron las regiones ITS y dominios D1/D2 del 28S con primers ITS1/ITS4 y NL1/NL4, respectivamente.

**Conclusiones.** PCR y espectrometría de masas permitieron identificar *C. nivariensis* mientras que no fue posible con las pruebas bioquímicas convencionales. Las cepas blancas en chromagar identificadas como *C. glabrata* coincidieron con las identificadas como *C. nivariensis* por los otros métodos, demostrando que el chromagar puede ser utilizado para tamizaje. Estos resultados demuestran la circulación de *C. nivariensis* en Argentina. Dos cepas de 1996 (distintos pacientes) son, al momento, los primeros aislamientos de esta especie en el país.

### TLP-726. Antimicrobial photodynamic inhibition using a natural photosensitizer against *Malassezia furfur*

Diogo Coelho de Pádua O.\*, Rosana de Carvalho C.\*, Noelly de Queiroz R.\*, Marcos Pinotti B.\*, Betânia Maria Soares\*, Patricia Silva C.\*

\*Universidade Federal de Minas Gerais Brasil.

**Introduction.** *Malassezia furfur* is a lipodependent and lipophilic fungi that lives on the skin of humans. However, it can become pathogenic.

There are a variety of diseases associated to *M. furfur* such as seborrheic dermatitis and pityriasis versicolor. Conventional treatment can be topic by use of shampoos and soaps supplemented with antimicrobics and/ or systemic. Despite the healing without complications occurs in most of patients, relapses are common and have been shown more frequent. Antimicrobial photodynamic therapy is a technique used in the treatment of some infectious diseases. It is based on applying a photosensitizer (PS) agent non-toxic that, when excited by a resonant light, generates photons and reactive oxygen species that promote the death of the microorganisms. Some natural dyes has emerged as photosensitizer. Hypericin is a product of hypericum perforatum and has been applied as photosensitizer for infectious diseases associated to virus, bacteria and fungus. The present work studied the *in vitro* susceptibility of 20 strains of *M. furfur* to antimicrobial photodynamic inhibition (APDI).

**Materials and methods.** Initially, a standardization was made testing different concentrations natural photosensitizer (substance c) and the different densities of energy of light irradiates by light emitting diode (LED) emitting at 430 nm. The best conditions were used for 20 strains of *M. furfur*. The results demonstrate that the best experimental conditions were 100 mm of substance c, incubation time of fungal cells with ps of 5 minutes and energy density of 24j/cm<sup>2</sup>.

**Results.** For this standardization was observed a significant reduction of 1.7 log 10 CFU/mL the average of 20 samples of *M. furfur* when compare to control groups (growth control, activities of light and PS).

**Conclusions.** We concluded that aifd is a promising alternative to reduce *in vitro* the viability of *M. furfur*. However, further studies are necessary to maximize the efficiency of apdi against this yeast.

### TLP-727. Selección de una cepa comercial de *Trichoderma* spp. con potencial aplicación en la degradación de tamo de arroz *in vitro*

\*Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Colombia.

Carlos Alberto Cruz R.\*, Ana Carolina Mesa\*, Daniel Uribe V.\*

**Introducción.** La práctica mas empleada para el manejo del tamo de arroz en campo es su quema, lo que ha alterado el ecosistema suelo en todos sus componentes. La aplicación de *Trichoderma* spp. En la degradación del tamo denota gran potencial por su perfil hidrolítico y bio-controlador, manteniendo la sanidad del cultivo y favoreciendo la descomposición y reincorporación del residuo al suelo. Por ello, se evaluó la actividad hidrolítica y oxidativa de cepas comerciales de *Trichoderma* spp. En medios sólidos diferenciales y cultivo sumergido empleando tamo de arroz como sustrato.

**Materiales y métodos.** Se evaluó la actividad proteolítica, celulolítica, xilanolítica y ligninolítica de cinco *Trichoderma* spp. Comerciales y un aislamiento nativo, en medios diferenciales. Se determinó la cinética enzimática de todos los hongos en fermentación sumergida usando tamo de arroz como sustrato durante 20 días. Se estableció el porcentaje de reducción en peso seco del tamo al termino del ensayo, así como la compatibilidad entre los dos mejores hongos y 10 aislamientos de bacterias aerobias formadoras de endoesporas (bafes) seleccionadas previamente, para el establecimiento de consorcios microbianos.

**Resultados.** Todos los hongos presentaron actividad celulolítica y xilanolítica sobre medios diferenciales. Las actividades proteolítica y ligninolítica fueron nulas, a excepción de la cepa e (*Trichoderma* spp.) Que presentó halo de oxidación. Las cepas B (*T. lignorum*) y e presentaron la mayor liberación de *Escherichia coli* reductores en fermentación sumergida, así como los mayores porcentajes de reducción de peso seco del tamo (18%). En contraste, todas las cepas de hongos evaluadas presentaron una secreción basal de proteasas. Finalmente, la cepa e presentó el mayor grado de compatibilidad con las bafes evaluadas.

**Conclusiones.** Este tipo de aproximaciones permite el establecimiento de un consorcio microbiano con actividades enzimáticas complementarias que optimice la degradación del tamo de arroz con fines de biofertilización, aportando a la competitividad del cultivo.

### TLP-728. Efecto de iones de plata dosificados por zeolita contra hongos contaminantes de alimentos

Carolina Chiericatti\*, Melina Kock Pomerantz\*, Juan Carlos Basílico\*, María de La Luz Basílico Z.\*, Juan Manuel Zamaro\*

\*Cátedra de Microbiología - Depto. Ingeniería En Alimentos. Laboratorio Central de Análisis Analíticos. Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional Del Litoral, Santa Fe, Argentina.

**Introducción.** Es reconocida la capacidad antibacteriana de nanopartículas de plata, pero se conoce mucho menos sobre su acción antifúngica. los hongos son microorganismos que causan alteración en alimentos, por lo cual se requiere de investigación en nuevas metodologías para su control. Investigar la capacidad antifúngica de iones ag+ intercambiados en mordenita (ag-mordenita), contra hongos aislados de alimentos contaminados de industrias alimenticias en condiciones de baja tensión de oxígeno. Se analizan las cualidades fisicoquímicas del material y su modo de acción.

**Materiales y métodos.** Los ensayos se realizaron suspendiendo distintas proporciones de ag-mordenita (conteniendo 5,6 % p/p de ag) en medios de cultivo caldo extracto de malta (CEM), que fueron inoculados con suspensiones de propágulos fúngicos de distintas especies de mohos y levaduras aislados de alimentos. Luego, se efectuaron recuentos de las UFC/mL a distintos tiempos de incubación (0-48 h). Por otra parte, se efectuaron caracterizaciones fisicoquímicas del sólido mediante técnicas instrumentales (SEM, EPMA, XRD, XPS, TPR, AAS) para analizar sus características y modo de acción.

**Resultados.** Se determinó que ag-mordenita ejerce una eficaz acción antifúngica debido a una liberación de ag+ de la matriz de zeolita, que actúa directamente sobre las paredes de los microorganismos. Esta acción, a su vez, fue más eficaz que iones ag+ libres en solución. Las levaduras fueron más sensibles que los hongos filamentosos, siendo *Saccharomyces cerevisiae* la especie más susceptible y *Geotrichum candidum* la más resistente.

**Conclusiones.** Ag-mordenita es un agente biocida eficaz, que permite dosificar iones ag+ activos contra hongos de importancia en la industria alimentaria.

### TLP-729. *Acaulospora excavata*, a mycorrhizal arbuscular fungal species frequent for acid soils and oil palm crops of central region-Colombia

Beatriz Elena Guerra S.\*

\*Universidad de Santander, Colombia.

**Introduction.** Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are present in  $\pm$  90% of vascular plants, regarded as a fundamental resource for plant sustainability. In Colombia density and frequency studies in agricultural soils and oil palm are poor. Objective: evaluate density and frequency amf species in 4 oil palm soils of central region of Colombia, at two depths and two periods of the year: dry and rainy.

**Materials and methods.** Physical-chemical analysis of soils was evaluated by standard methods. Spore density was evaluated by the technique of wet sieving and sucrose gradient centrifugation (brundrett *et al.* 1996). Mycorrhizal species was identified by morphological descriptions from light microscopy and scanning microscopy, extraction of ADNA from spores and subsequent amplification with PCR using specific primers. Dominance or relative abundance of species was assessed by the simpson diversity index.

**Results.** The soils were classified as sandy loam, acidic pH ( $\pm$  4.5), spore density was in the range of 21.4 -87.4 / 100 in the rainy season and 91-130.8 spores/100 g soil by dry period. The spore density was affected by the rainy season, and decreased to 49% at 20 cm soil compared with samples taken at 10 cm. 12 mycorrhizal species and 4 morphospecies were identified in four families acaulosporaceae, gigasporaceae, glomeraceae, scutellosporaceae. The mycorrhizal species most frequent (33%) in all soils studied was *A. excavata*, independent of depth and time of sampling.

**Conclusions.** The density and frequency of mycorrhizal species is influenced by the depth and time of sampling. *A. excavata* a generalist mycorrhizal species considered in the soils studied, is reported for the first time in Colombia in acid soils of monoculture oil palm plantations keywords: *acaulospora excavata*, acid soils, arbuscular mycorrhiza, oil palm, spore density \*Laboratorio de Biotecnología Agroambiental-Facultad de Ciencias Exactas. Universidad de Santander.

### TLP-730. Influência do extrato bruto de eugenia uniflora na capacidade de formação de biofilme de isolados clínicos de *Candida* spp. Oriundos da cavidade bucal de pacientes transplantados renais

Luanda Bárbara Ferreira Canário de S.\*, Magda Rhayanny Assunção F.\*, Diana Luzia Zuza A.\*, Luiz Alberto Lira S.\*, Terezinha Inez Estivalet S.\*, Eveline Pipolo M.\*, Guilherme Maranhão C.\*

\*Universidade Federal Do Rio Grande Do Norte, Brasil.

**Introdução.** A candidíase é uma das principais manifestações orais em pacientes transplantados renais. *Candida* spp. Apresentam fatores de virulência essenciais no processo de infecção, incluindo a capacidade de formar biofilme. Biofilmes são estruturas de micro-organismos aderidos a superfícies bióticas ou abióticas, embebidas em uma matriz polimérica extracelular com difícil eliminação. O extrato bruto (eb) das folhas de eugenia uniflora, conhecida como pitanga, tem demonstrado ação antifúngica frente à *Candida* spp. Este trabalho objetivou avaliar a influência do referido vegetal na capacidade de formação de biofilme de cepas de *Candida* spp. Isoladas da cavidade oral de pacientes transplantados renais.

**Materiais e métodos.** Para a formação do biofilme, células de leveduras foram incubadas em microplacas de poliestireno, na presença e ausência do extrato bruto (1000 µg/mL) a 37°C, 75 rpm por 66 h. O biofilme foi quantificado através de coloração pelo cristal violeta em 570 nm.

**Resultados.** Todas as espécies de *Candida* analisadas foram capazes de produzir biofilme na ausência do eb. Entretanto, quando as mesmas entraram em contato com o extrato, verificou-se que 50% das cepas apresentaram uma redução na capacidade de formação de biofilme. O maior percentual de redução ocorreu entre os isolados de *C. tropicalis* e *C. dubliniensis* (100%), seguido de *C. albicans* (46%), *C. parapsilosis* (33%) e *C. glabrata* (25%). Destaca-se ainda, a redução em dois isolados de *C. tropicalis* considerados altamente produtores de biofilme (média ausência eb 1,82 ± 0,21, presença do eb 0,810 ± 0,10 e 0,470 ± 0,02).

**Conclusões.** A tendência de redução da capacidade de formação de biofilme dos isolados, sugere um possível papel do mecanismo de ação da atividade antifúngica do extrato bruto vegetal na expressão dos fatores de virulência de *Candida* spp.

### TLP-731. Efecto de altos niveles de humedad del suelo y tratamiento con Micorrizagro® sobre la salud de *Phaseolus vulgaris*

Albert Emilio Rodríguez O.\*

\*Universidad Industrial de Santander, Colombia.

**Introducción.** La humedad y la pudrición de raíz disminuyen la productividad de los cultivos de frijol. El uso de micorrizas con el objeto de favorecer la nutrición de las plantas se presenta como una alternativa amigable para el ambiente. Objetivo evaluar el efecto de la micorrización sobre la salud de *Phaseolus vulgaris* L., en condiciones de alta humedad y presencia del fitopatógeno bajo condiciones de invernadero.

**Materiales y métodos.** Se realizaron dos experimentos, el primero con y sin Micorrizagro®, expuestos a lluvias constantes; el segundo con cuatro grupos, uno control, uno con Micorrizagro®, otro con Micorrizagro® y *R. solani*, y el último expuesto solo al fitopatógeno. Las variables de respuesta fueron: porcentaje de germinación, peso fresco y seco, crecimiento de raíz y tallo, presencia de micorrizas y recuperación del fitopatógeno.

**Resultados.** En el primer experimento se observó germinación del 71,4%, con emergencia al noveno día de siembra. En el segundo, la germinación fue de 71,5%; el grupo denominado micorrizas+rhizoctonia solani obtuvo menor porcentaje de germinación en relación con los demás grupos. Para el segundo experimento se observó que el tamaño de los tallos y las raíces del grupo control fue 3,14 cm y 11,7 ± 3,9 cm; el de micorrizas 3,67 cm y 16,5 ± 2,3 cm; *R. solani* 0,25 cm y 3,29 ± 2,99 cm y el de micorrizas + *R. solani* 0 cm y 6,10 ± 5,9 cm. Se comprobó la presencia de micorrizas por microscopía de campo claro y se aisló el fitopatógeno.

**Conclusiones.** Las plantas sometidas a niveles altos de humedad emergieron tardíamente y su crecimiento fue menor a los de las mantenidas en suelos de humedad media, la micorrización no detuvo la infección por *R. solani* pero aumentó el número de hojas trifoliadas y disminuyó el grado de pudrición radicular.

### TLP-732. Extract of *Syngonanthus nitens* incorporated or not incorporated in precursor system of liquid crystal: action against non albicans species azoles resistant

Matheus Aparecido Dos Santos R.\*, Luciani Gaspar De Toledo\*, Giovana Maria Fioramonte C.\*, Larissa Sposito\*, Bruna Vidal Bonifácio\*, Kamila Maria Silveira N.\*, Patricia Bento Da S.\*, Lourdes Campaner Dos S.\*, Margarete Teresa Gottardo De A.\*, Marlus Chorilli\*, Taís Maria Bauab\*

\*School Of Pharmaceutical Sciences, São Paulo State University. Araraquara, São Paulo, Brazil.

**Introduction.** The precursor system of liquid crystal (PSLC) are classified as a nanotechnology-based of drug release very important in microbiology area, seeking at the improvement of parameters such as bioavailability and bioequivalence of synthetic or natural active principle. The plant *Syngonanthus nitens* bong. Ruhlland (*Eriocaulaceae*) has shown a good antifungal activity, which is very interesting killing infections caused from species of *Candida* spp. In this sense, the objective of this study was evaluate the antifungal activity of metabolic extract scapes of *S. nitens* incorporated and not incorporated in liquid crystal, with the species of *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*.

**Materials and methods.** Strains of clinical isolates of vaginal origin (12), and ATCC strains (4) were studied. The microplate dilution technique was used, with the plant extract at concentrations of 1000 to 7.81 µg/mL not incorporated and incorporated with SPCL (50% oleic acid, 40% and 10% procetyl dispersion carbophol™ + policarbophyl™, oil phase, surfactant and water respectively) and as control 512 µg/mL fluconazole and amphotericin b 16 µg/mL. After incubation at 37°C for 48 h reading was made using 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC).

**Results.** We emphasize the results obtained with *Candida parapsilosis* which had mic 500 to 250 µg/mL without incorporated extract and 7.8 to 62.5 µg/mL with incorporated extract.

**Conclusions.** The results showed significant potentiation of antifungal activity for all *Candida* species tested when the plant extract was incorporated into the nanostructured system. This may be related to the probable increase cell permeability by promoting better interaction of the extract with site of action in yeast.

### TLP-733. Atividade antifúngica de aldiminas contra espécies de *Paracoccidioides*

Thais Furtado Ferreira M.\*, Cleiton Moreira Da S.\*, Danielle Letícia Da S.\*, Sabine Quintanilha de A.\*, Gustavo José Cota de F.\*, Rafaela Ranielle Da Silveira, Noelly Queiroz Ribeiro, Cleide Viviane Buzanello M.

\*Universidade Estadual Do Oeste Do Paraná (Unioeste) Brasil.

**Introdução.** Micoses endêmicas causadas por fungos dimórficos continuam a ser um grande problema para a saúde pública em vários países. A paracoccidioidomicose é uma doença sistêmica causada pelo fungo dimórfico *Paracoccidioides brasiliensis* e *Paracoccidioides lutzii* que envolve principalmente os pulmões e depois dissemina para outros órgãos e sistemas. Esta infecção é endêmica em regiões sub-tropicais da América Latina e tem uma alta prevalência no Brasil. Existem medicamentos atualmente disponíveis para o tratamento de paracoccidioidomicose, no entanto, estes devem ser utilizados com cautela devido à toxicidade de alguns agentes antifúngicos. Por isso, a descoberta de novos compostos antifúngicos que podem ser utilizados no tratamento desta doença é crucial. Aldiminas tem uma vasta gama de atividades biológicas. Em estudos anteriores, as aril aldiminas 2-(benzilidenoamino) fenol e 4-(benzilidenoamino) fenol apresentaram bons resultados contra *C. neoformans*. Avaliar a atividade antifúngica de sete aldiminas (a1, a2, a3, a4, a5, a6 e a7) contra isolados de *P. brasiliensis* e *P. lutzii*.

**Materiais e métodos.** Os compostos foram avaliados quanto à concentração inibitória mínima (MIC), seguindo o protocolo NCCLS M27-A3. As drogas antifúngicas fluconazol e anfotericina b foram utilizados como controle positivo.

**Resultados.** Todas os isolados foram sensíveis aos compostos testados. A aldimina a2 foi a mais ativa contra todas os isolados testadas com MIC variando de 4-64 µg/mL. O composto a5 também apresentou bons valores de MIC (16-24 µg/mL).

**Conclusões.** Estes resultados demonstram a atividade antifúngica das aldiminas contra espécies de *Paracoccidioides* e direciona para que mais estudos sejam realizados por nosso grupo de pesquisa.

### TLP-734. Identificação de ácidos graxos antifúngicos produzidos por fungos endofíticos associados à *Echinacea purpurea* (L.) Moench (asteraceae)

Camila R. de Carvalho\*, Charles L. Cantrel\*, Alice F.S. Hughes\*, Rita Moraes\*, Victor L. Maddox\*, David E. Wedge\*, Luiz H. Rosa\*

\*Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.

**Introdução** Fungos endofíticos são aqueles que, pelo menos durante parte do seu ciclo de vida, habitam tecidos vegetais vivos sem causar sintomas aparentes de doença ou efeitos negativos a seus hospedeiros, podendo proteger a planta do ataque de insetos e doenças, sendo também capazes de produzir substâncias de interesse biotecnológico. *Echinacea purpurea* é uma planta medicinal amplamente utilizada devido à habilidade de estimular o sistema imune. Este trabalho visou avaliar a capacidade dos fungos endofíticos associados a *E. purpurea* quanto à produção de metabólitos com atividade antifúngica.

**Materiais e métodos.** Fragmentos de folhas e hastes florais saudáveis de 41 plantas de *E. purpurea* foram sujeitos a desinfestação superficial e inoculados em ágar batata dextrose. de todos os isolados obtidos foram produzidos extratos brutos diclorometânicos, os quais foram submetidos a testes de susceptibilidade contra espécies fitopatogênicas de colletotrichum. Com base nos resultados obtidos os extratos selecionados foram inicialmente analisados por espectroscopia de rnm, e posteriormente os ácidos graxos identificados com o auxílio de um cromatógrafo a gás acoplado, equipado com uma coluna capilar DB-23 e detector de ionização de chama (GC-FID).

**Resultados.** Um total de 245 isolados de fungos endofíticos foram recuperados de 410 fragmentos de tecidos vegetais. Dos extratos brutos testados, cento e três (41.9%) demonstraram moderada atividade antifúngica contra pelo menos uma espécie alvo, enquanto 8 (3.2%) apresentaram zonas claras de inibição contra todos os fitopatógenos. Análises dos espectros indicaram a presença majoritária de ácidos graxos em seis extratos avaliados, sendo identificada uma mistura de dezesseis ácidos graxos, incluindo ácidos palmítico, elaidico, linoléico, tridecanóico, oléico, gamma-linolênico, araquídico, capríco, caprílico, cáprico, láurico, miristoleico, esteárico, undecanóico, mirístico e palmitoleico.

**Conclusões.** Nossos resultados demonstraram a presença da comunidade de fungos endofíticos associada à planta medicinal *E. purpurea* e que estes podem ser capazes de produzir ácidos graxos com atividade antifúngica. Apoio financeiro: FAPEMIG, CAPES, CNPQ, USDA.

### TLP-735. Tratamientos de desinfección química frente a cepas de *Aspergillus niger*

Laura Noemí Frisón\*, María Silvina Sobrero\*,  
María de La Luz Zapata de Basílico\*

\*Cátedra de Microbiología. Departamento Ingeniería En Alimentos.  
Facultad de Ingeniería Química. Facultad de Bioquímica Y  
Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Del Litoral. Argentina.

**Introducción.** Los esporos de *A. niger* tienen una distribución ubicua y son muy resistentes a la desinfección. Se propuso evaluar la respuesta de 5 cepas de *A. niger* frente a soluciones de ácido peracético (APA) e hipoclorito de sodio (HS).

**Materiales y métodos.** Se realizó el test de suspensión – neutralización uno-en-1275. Se utilizaron soluciones de concentraciones de 750, 1500, 2250, 3000 y 6000 ppm de apa sin ajuste de pH y 100, 700, 1000 y 1300 ppm de HS ajustado a pH 6 y 9. El tiempo de contacto fue de 1, 5, 15 y 30 minutos a 20°C. los resultados se ajustaron con el modelo bifásico del programa Ginfat.

**Resultados.** Las soluciones de 100 ppm de concentración de HS (pH 6 y pH 9) y 750, 1500, 2250, 3000 de APA no fueron efectivas. El tiempo de reducción decimal de 4 órdenes logarítmicos (4D) para HS para las concentraciones 700, 1000 y 1300 ppm (pH 6 y 9) variaron entre 1,05 a 28,8 minutos. Para apa se alcanzó el 4d con concentraciones de 6000 ppm con tiempos que variaron entre 6,15 a 14,25 minutos.

**Conclusiones.** Se necesitan altas concentraciones de HS o PAA y elevados tiempos de contacto para erradicar los esporos de *A. niger*. Cada industria tendrá que ajustar los procedimientos de sanitización de ma-

nera de minimizar la contaminación fúngica ya que estos sanitizantes en elevadas dosis podrían ocasionar daños en los equipos, o introducir olores o sabores desagradables en los alimentos.

### TLP-736. Produção de fator hemolítico e expressão de um gene que codifica uma heme-oxigenase em *Candida tropicalis* são influenciados por privação de ferro, presença de hemoglobina e eritrócitos

Emanuele Julio Galvão de França\*,  
Luciana Furlaneto-Maia\*, Marcia Cristina Furlaneto\*

\*Universidade Estadual Do Norte Do Paraná Brasil.

**Introdução.** *Candida tropicalis* é uma das principais espécies do gênero associada à candidemia em países da América Latina. Dentre os atributos relacionados à patogenia de *C. tropicalis* tem-se a capacidade de produzir e secretar fator hemolítico. Este estudo teve por objetivo avaliar a influência de privação de ferro, presença de hemoglobina ou de eritrócitos em duas possíveis etapas da aquisição de ferro do grupo heme por *C. tropicalis* - a produção de fator hemolítico e a expressão do gene CTHMX1, relacionado a codificação de uma heme-oxigenase.

**Materiais e métodos.** Isolados clínicos de *C. tropicalis* foram cultivados em meio rpmi sem suplementações (controle) ou suplementado com o quelante férrico ácido bathophenanthroline disulfonado (BPS), hemoglobina ou eritrócitos. Os sobrenadantes desses cultivos foram concentrados e avaliados quanto ao potencial hemolítico em suspensão de eritrócitos. A expressão de CTHMX1 por isolados de *C. tropicalis* cultivados em presença de hemoglobina, eritrócitos ou privação de ferro foi avaliada por PCR em tempo real.

**Resultados.** Os cultivos em privação de ferro foram associados aos menores valores de atividade hemolítica. No entanto não houve diferença significativa entre a atividade hemolítica da maioria dos isolados nessa condição e nos cultivos controle, condição na qual a concentração férrica também é baixa. Em presença de hemoglobina todos os isolados apresentaram aumento significativo ( $p < 0,05$ ) na produção de fator hemolítico em comparação ao controle, sendo o mesmo constatado para a maioria dos isolados cultivados em presença de eritrócitos. Análises por PCR em tempo real evidenciaram indução de CTHMX1 em cultivos de *C. tropicalis* em privação de ferro ou em presença de hemoglobina. Todavia, a presença de eritrócitos humanos nos cultivos de *C. tropicalis* resultou em repressão de CTHMX1.

**Conclusões.** Nossos dados indicam que a produção do fator hemolítico e a expressão de CTHMX1 por *C. tropicalis* sejam reguladas de maneira independente.

### TLP-737. Caracterización de un aislamiento de *Beauveria* sp. con potencial para el control del barrenador de la caña de azúcar (*Diatraea* sp.)

Paula Viviana Sotelo\*, Adriana Marcela Santos D. \*,  
Laura Fernanda Villamizar R. \*

\*Corporación Colombiana de Investigación  
Agropecuaria Corpoica Colombia.

**Introducción.** Los barrenadores del género *Diatraea* se consideran la principal plaga del cultivo de caña de azúcar. Una alternativa para su manejo son los métodos biológicos como los hongos entomopatógenos. Dentro de éstos, se destaca el género *Beauveria* que se caracteriza por su alta virulencia y amplio rango de hospederos. En este sentido, un aislamiento nativo de *Beauveria* sp. Obtenido a partir de una larva de *Diatraea* sp. Constituye una herramienta para el desarrollo de un bioplaguicida para el control de esta plaga. Objetivo general: caracterizar ecológica y biológicamente un aislamiento Colombiano de *Beauveria* sp. Con potencial para el control de *Diatraea* sp.

**Materiales y métodos.** Se colectaron larvas del insecto en cinco departamentos productores de caña. A partir de una larva esporulada se obtuvo un aislamiento de *Beauveria* sp. Que se identificó por características macroscópicas y microscópicas. Posteriormente, se caracterizó determinando parámetros ecofisiológicos, como susceptibilidad a la radiación UV-B, tolerancia al pH y a la temperatura. Finalmente, se evaluó la actividad biocontroladora sobre larvas de *Diatraea saccharalis* y *Diatraea indigenella* mediante un bioensayo.

**Resultados.** El aislamiento de *Beauveria* sp. Presentó el mejor comportamiento a 15°C y 25°C, mientras que a 5°C y 35°C se afectó negativamente el crecimiento del microorganismo. Entre pH de 7 y 9, el aislamiento presentó una viabilidad superior al 75%. Frente a la radiación UV-B, se presentó una reducción de la viabilidad del 12% al 74%. Se obtuvieron mortalidades del 73% y del 59% en larvas de *Diatraea saccharalis* y *Diatraea indigenella* respectivamente.

**Conclusiones.** El crecimiento del hongo fue afectado negativamente cuando los niveles de los parámetros ecofisiológicos fueron extremos. El aislamiento de *Beauveria* sp. Mostró actividad insecticida sobre las dos especies del barrenador, convirtiéndose en un herramienta con potencial para el desarrollo de un bioplaguicida.

### TLP-738. Síntese e efeito antifúngico in vitro de triazóis frente isolados clínicos de *Candida*

Gabrielli Oliveira G.\*, Jailton Lobo J.\*, Priscila Mendonça P.\*, Ana Emilia Roberto\*, Sandra Regina de Sá\*, Ana Maria Carvalho\*, Reginaldo Neto Reginaldo\*, Rejane\*

\*Universidade de Pernambuco Brasil.

**Introdução.** Infecções fúngicas profundas aumentaram significativamente ao longo da última década. O controle de doenças de etiologia fúngica torna-se difícil devido a vários fatores de risco, principalmente em pacientes imunocomprometidos internados em unidades de terapia intensiva. Dessa forma, existe uma clara necessidade para o desenvolvimento de agentes terapêuticos antimicóticos mais eficazes para o tratamento de infecções causadas por fungos. Derivados triazólicos têm sido extensivamente estudados como compostos com importantes atividades biológicas. Neste trabalho, descrevemos a síntese e avaliamos o potencial antifúngico de dez derivados 2-[1-ARIL-1h-(1,2,3)triazol-4-IL]-propano-2-OL.

**Materiais e métodos.** Os dez compostos foram sintetizados através de cicloadição catalisada pelo cobre ((CU(OAC)2 ou “click chemistry”). Vinte cepas clínicas de *Candida albicans*, cinco de *Candida krusei*, onze de *Candida parapsilosis* e cinco de *Candida tropicalis* foram fornecidos pela coleção urm cultura do departamento de micologia, centro de ciências biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil. As cepas foram armazenadas em óleo mineral a 18°C. Testes de viabilidade e posterior confirmação taxonômica das suas características bioquímicas, fisiológicas e morfológicas foram realizadas. Os derivados triazólicos tiveram sua atividade antifúngica *in vitro* avaliada pelo método de microdiluição em caldo (M27-A3, CLSI) frente os 42 isolados.

**Resultados.** Dentre os compostos testados, o derivado triazólico halógeno substituído por átomo de cloro, 2-[1-(4-clorofenil)-1h-(1,2,3) triazol-4-il]-propano-2-ol, apresentou o melhor perfil antimicótico, o qual pode ser usado no futuro para a terapia de infecções fúngicas.

**Conclusões.** Os dados dos ensaios antifúngicos mostram que o derivado de triazólico substituído com cloro exibiu, em particular, uma boa inibição do crescimento de fungos, mostrando que as novas modificações na posição 2-(1-aril-1h-(1,2,3)-triazol-4-il) série podem ser feitas, de modo a obter protótipos mais potentes.

### TLP-739. Avaliação da capacidade de aderência, produção de biofilme e halotolerância de isolados de *C. tropicalis* oriundos da areia da praia de Ponta Negra, NATAL/RN - Brasil

Diana Luzia Zuza A.\*, Sayama Samara T.\*, Walicyranison Plinio Da Silva R.\*, Maria Christina Barbosa de A.\*, Guilherme Maranhão C.\*

\*Universidade Federal Do Rio Grande Do Norte Brasil.

**Introdução.** Estudos têm sido desenvolvidos sobre os riscos sanitários oferecidos por praias poluídas. Levedura da microbiota humana, *Candida tropicalis* é importante patógeno de infecções superficiais e sistêmicas. Esse trabalho objetivou caracterizar isolados desta levedura oriundos da areia da praia de ponta negra, natal/RN - Brasil, quanto à capacidade de aderência às células epiteliais bucais humanas (CEBH), produção de biofilme e halotolerância.

**Materiais e métodos.** Realizou-se coletas de areia em 6 pontos da praia, sendo as amostras ressuspensas em solução salina e semeadas em placas de ágar sabouraud dextrose com cloranfenicol, incubadas a 37±2°C por até 7 dias. A identificação foi realizada em chromagartm *Candida*,

seguida da metodologia clássica. Sessenta e quatro isolados foram submetidos à avaliação da capacidade de aderência à CEBH, co-incubadas com células das leveduras por 1 h, 37°C, 200 rpm., sendo posteriormente determinado o número de células de *C. tropicalis* aderidas em 150 cebh. O biofilme foi formado em microplacas de poliestireno por 66 h de incubação. A quantificação foi realizada através de coloração pelo cristal violeta, medindo-se a d.o. 570 nm. Para avaliação da halotolerância utilizou-se placas de poliestireno com 96 poços, adicionando-se alíquotas dos inóculos padronizados em caldo sabouraud dextrose acrescido de concentrações crescentes de NaCl. Procedeu-se incubação a 35°C, 48 h, sendo a leitura observada por crescimento celular.

**Resultados.** Todas as cepas apresentaram capacidade de aderência a cebh superior a *C. tropicalis* ATCC13803 (96 células aderidas/150 CEBH); os resultados foram consideravelmente variáveis. Todos os isolados produziram biofilme, com o maior valor de d.o.570 de 3,446±0,03, enquanto que o menor foi de 0,263±0,05. A halotolerância foi testada em 56 isolados, sendo que 75% foram resistentes até a 15% de NaCl e os demais 25% suportaram apenas 7,5%.

**Conclusões.** A capacidade de expressão de fatores de virulência, e a capacidade de sobreviver na água do mar podem oferecer risco aos banhistas.

### TLP-740. Imobilização de fungos produtores de lignina peroxidase em uma matriz composta de vermiculita e nanotubos de carbono

Luz Alba Ballen S.\*, Sabrina Feliciano O.\*, Maria Catarina Kasuya\*, Ary Correa J.\*, Rochel Montero L.\*, Ana Luiza Maseo\*

\*Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

**Introdução.** Com o avanço da nanotecnologia, diversos novos materiais têm sido desenvolvidos para inúmeras aplicações. Vermiculita conjugada com nanotubos de carbono foi utilizada no presente trabalho como suporte para o crescimento de fungos de interesse biotecnológico. Este material é hidrofílico, poroso, e magnético. Tais propriedades permitem o estabelecimento de diferentes protocolos de crescimento de fungo. Este trabalho é parte integrante de um projeto que tem como objetivo determinar a produção de enzimas ligninolíticas por parte de espécies de fungos de podridão branca, aderidos a uma matriz composta de vermiculita com nanotubos de carbono em um biorreator. A primeira etapa deste projeto, consiste em determinar a viabilidade da utilização da vermiculita com nanotubos de carbono como suporte para o crescimento de basidiomicetos, e, produção de enzimas.

**Materiais e métodos.** Utilizou-se inicialmente de duas linhagens de *Pleurotus ostreatus* e uma de *Ganoderma* spp. Foram determinados: (i) crescimento em meio líquido natural BD com 5% de torta de pinhão manso junto a diferentes vermiculitas com e sem nanotubos de carbono (ii) atividade do extrato para lignina peroxidase (método de tien and kirk) (iii) concentração de proteína (técnica de Bradford).

**Resultados.** Os resultados mostram um aumento da massa fúngica nas condições aqui propostas, sem inibição por elementos químicos presentes nos diferentes suportes, também evidencio-se atividade enzimática para lignina peroxidase no extrato com uma crescente concentração protéica.

**Conclusões.** O presente trabalho demonstro a viabilidade do uso da vermiculita nanoestruturada como suporte de crescimento dos fungos basidiomicetos com uma considerável produção da enzima lignina peroxidase.

### TLP-741. Nergistic antimicrobial activities of essential oils with chitosan against *Candida*

Horacina Maria Medeiros C.\*, Eliana Freire Dos S.\*, Thays Maria Veiga Da Silva Â.\*, Thatiana Montenegro Stamford-Arnaud\*, Ester Ribeiro Gouveia\*, Thayza Christina Montenegro S.\*

\*Faculty Of Mauricio De Nassau- João Pessoa, University Federal Of Pernambuco Brasil.

**Introduction.** *Candida* is important yeast that can cause diseases. Fungi growth is commonly controlled using synthetic antimicrobials, however, natural antimicrobials have also demonstrated important antifungal properties. The present study evaluated the antimicrobial activity of chitosan and essential oils (EO), separate and associates, against *Candida* species.

**Materials and methods.** Inoculum of *C. albicans*, *C. guilliermondii*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* and *C. krussi* adjusted to  $5 \times 10^8$  colony forming unity/mL, were used as test microorganisms. Chitosan with low molecular weight (sigma), was solubilized in 1% acetic acid (20 mg/mL). Eo from ferquima: cymbopogon martini (CM), syzygium aromaticum (SA), cinnamomum cassia (CC), melaleuca alternifolia (MA) and mentha piperita (MP), was soluble (100 µl/mL) in sabouraud broth containing agar as a stabilizing agent. The phs of solutions were adjusted for 6.5. The antimicrobial assays were carried out by microdilution method in sabouraud broth, and subsequent incubation in sabouraud agar without substance test, for determine the minimum inhibitory concentration (MIC), and the minimum fungicidal concentration (MFC). Candida were incubated at 35°C/48 h. The concentration of substance test varied: chi (6000- 50 µl/mL), eo (60-0.5 µl/mL).

**Results.** Chitosan solution demonstrated mic and MFC, respectively of 1000 µl/mL and 1500 µl/mL; and eo showed MIC and MFC, respectively: CM and MP 25.0 µl/mL and 30.0 µl/mL; SA and MA 7.5 µl/mL and 10.0 µl/mL and CC 2.5 µl/mL and 5.0 µl/mL for all test Candida. The association of chi and eo exhibited a synergetic effect by enhancing the antimicrobial activities, MIC and MFC, respectively: cm and mp 15.0 µl/mL and 20.0 µl/mL; SA and MA 5.0 µl/mL and 7.5 µl/mL and CC 1.5 µl/mL and 3.0 µl/mL; and chitosan 750 µl/mL and 1000 µl/mL for all test *Candida*.

**Conclusions.** This study demonstrates the antimicrobial activity of chitosan and eo and the synergistic effect. This potential should be further evaluated for application in biomedical and food industry.

#### TLP-742. Differentiation of *Cryptococcus gattii* and *Cryptococcus neoformans* by real-time PCR using the intergenic spacer region (IGS) 1 of ribosomal ADNA

Eliandro R. Tavares\*, Caroline S. Azevedo\*, Virgínia P. Santos\*, Regina M. B. Quesada\*, Luciando A. Panagio\*, Emerson J. Venancio\*, Sueli F. Yamada-Ogatta\*, Lucy M. Yamauche\*

\*Universidade Estadual de Londrina Brasil.

**Introduction.** *Cryptococcosis* is a fungal disease caused by *Cryptococcus gattii* and *Cryptococcus neoformans* that affect mainly immunocompromised individual. The diagnosis is focused on direct examination of pathogen or antigen detection using enzyme immunoassay. The reduced time and high sensitivity pointed the real-time PCR as a great technique, allowing pathogen detection and species' differentiation. To determine if IGS region lets the distinction between *C. gattii* and *C. neoformans*, we designed specific primers by alignment and analysis of IGS1 sequences from genbank to assay *Cryptococcus* samples based on real-time PCR.

**Materials and methods.** We tested 40 samples: *C. gattii* ATCC 56990 and *C. neoformans* ATCC 66031 as standard samples, 11 clinical and 18 environmental *Cryptococcus*' isolates, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Histoplasma capsulatum*, *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. dubliniensis*, *C. famata*, *Sporotrix schenckii*, *Trypophyton rubrum* and human. ADNA was obtained using mechanical disruption in lyses buffer, followed by phenol/chloroform extraction. Each reaction contained specific primers (0.5 pmoles), ADNA (100 ng) and platinum SYBR green qPCR supermix-UDG.

**Results.** Real-time PCR sensitivity was determined using as template serial dilutions of plasmids containing the amplified IGS1 from *C. gattii* and *C. neoformans*, both reactions showed the limit of 100 copies. Dissociation curves were generated from both runs and they showed two different melting peaks: 82.8 and 84.2°C for *C. gattii* and *C. neoformans*, respectively. The specificity was performed with eight fungal and human ADNA, showing only a specific amplification of their own species; no amplification was observed with other samples. When clinical and environmental *Cryptococcus*' isolates were assayed, the molecular identification matched the phenotype characterization.

**Conclusions.** Overall, our results showed that the delineated IGS1 primers generated specific and sensitive reactions suggesting their use in *C. gattii* and *C. neoformans* differentiation.

#### TLP-743. Aspectos da interação de células epiteliais alveolares (A549) com conídios de fungos pertencentes aos gêneros *Pseudallescheria* e *Scedosporium*

Thaís Mello\*, Ana Carolina Aor\*, Cátia Sodré\*, Marta Branquinho\*, André Santos\*

\*Universidade Federal Do Rio de Janeiro Brasil.

**Introdução.** *Pseudallescheria boydii*, *Pseudallescheria minutispora*, *Scedosporium aurantiacum* e *Scedosporium prolificans* são espécies capazes de causar diferentes tipos de infecções, que podem acometer tanto pacientes imunocomprometidos quanto imunocompetentes. Diversos aspectos possibilitam o estabelecimento da infecção, como a adesão celular e a morfogênese. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivos avaliar: a capacidade de adesão desses microrganismos a células epiteliais pulmonares (a549), os possíveis danos a células a549 durante a interação, e a morfogênese dos conídios na presença e ausência das células epiteliais.

**Materiais e métodos.** Os índices de associação foram obtidos através da contagem das lâminas de interação coradas com giemsa e os danos na membrana plasmática das células a549 foram evidenciados através da incorporação de iodeto de propídio (PI).

**Resultados.** Os conídios foram capazes de interagir com células a549 de forma tempo-dependente e, após 4 h, os índices de associação foram de 15,5 para *P. boydii*, 118,2 para *P. minutispora*, 123,4 para *S. aurantiacum* e 6,4 para *S. prolificans*. Danos na membrana plasmática foram evidenciados após 1 h de interação com *S. aurantiacum* e 4 h com *P. boydii*, *P. minutispora* e *S. prolificans*. A diferenciação celular foi observada em 98,4% das células de *P. boydii*, 76,7% de *P. minutispora*, 96,4% de *S. aurantiacum* e 86,6% de *S. prolificans* na presença de dmem, enquanto que apenas, 4,8% de *P. boydii*, 19,8% de *S. aurantiacum*, 50,0% de *S. prolificans* encontravam-se diferenciadas durante a interação com as células a549. Não foi observada diferenciação após 4 h de interação com *P. minutispora*.

**Conclusões.** Os resultados demonstraram que essas espécies apresentam habilidades distintas em aderir e causar danos à célula hospedeira, além de revelar que a germinação dos conídios foi inibida ou reduzida na presença da célula animal.

#### TLP-744. Metabólitos bioativos produzidos por *Biscogniauxia* sp., um fungo endofítico associado a *Echinacea purpurea* (L.) Moench

Camila R. de Carvalho\*, Charles L. Cantrell\*, Alice F.S. Hughes\*, Rita Moraes\*, Victor L. Maddox\*, Zhiqiang Pan\*, David E. Wedge\*, Luiz H. Rosa\*

\*Universidade Federal de Minas Gerais Brasil.

**Introdução.** Fungos endofíticos são micro-organismos que ocupam o interior de tecidos de plantas sem causar sintomas aparentes de doença ou efeitos negativos. Estes micro-organismos podem ser encontrados em diferentes tipos vegetais e representam fontes promissoras de metabólitos bioativos de interesse farmacológico. *Echinacea purpurea* (asteraceae) se destaca como o segundo suplemento botânico mais vendido no mercado dos estados unidos por apresentar propriedade moduladora do sistema imunológico. Este trabalho teve como objetivo avaliar a produção de metabólitos bioativos pelo fungo endofítico *Biscogniauxia* sp. (EPU 38C-A) associado a *E. purpurea*.

**Materiais e métodos.** O fracionamento químico biomonitorado do extrato diclorometânico da cultura fúngica foi conduzido em sistema automatizado Biotage® Isolera™ one. A estrutura dos compostos foi estabelecida por análise de ressonância magnética nuclear (1 h rmn e 13c rmn) e LC-MS, e os ácidos graxos identificados com o auxílio de um cromatógrafo a gás acoplado, equipado com uma coluna capilar DB-23 e detector de ionização de chama (GC-FID). Após a identificação os compostos foram submetidos ao ensaio de microdiluição em placa contra os fungos fitopatogênicos: *Colletotrichum acutatum*, *C. gloeosporioides*, *C. fragariae*, *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea*, *P. obscurans* e *P. viticola*.

**Resultados.** A purificação do extrato diclorometânico permitiu identificar as substâncias (-)-5-metilmeleína [1] e (-)-(3r)-8-hidroxi-6-metoxi-3,5-dimetil-3,4-dihidroisocumarina [2], assim como uma mistura

de 33 ácidos graxos. O composto 1 apresentou atividade frente ao crescimento de *P. obscurans* e *P. viticola*, porém estimulou o crescimento das três espécies de colletotrichum avaliadas. Já o composto 2, com exceção de *C. gloeosporioides*, exibiu atividade frente a todos os demais micro-organismos alvos, em pelo menos uma concentração e intervalo de tempo avaliados.

**Conclusões.** Os resultados obtidos neste trabalho mostraram que as plantas medicinais podem representar um rico reservatório de fungos endofíticos produtores de metabólitos bioativos com atividade antifúngica. Apoio financeiro: fapemig, capes, CNPQ e USDA.

#### TLP-745. Primeiro relato de *Phomopsis* sp. em folhas de mogno (*swietenia macrophylla* king) no Brasil

Marcelo Tavares de C.\*, Sandro Coelho Linhares M.\*, Bárbara Eckstein\*, Rose Monnerat\*

\*Universidade de Brasília, Brasil.

**Introdução.** Sintomas de manchas foram observados em mogno (*swietenia macrophylla* king) em Brasília, Brasil. Com o objetivo de relatar, identificar o fungo causador de manchas em folhas de mogno e testar sua patogenicidade em mudas, amostras de ramos e folhas de mogno foram coletadas.

**Materiais e métodos.** O material foi analisado preliminarmente com o auxílio de microscópio estereoscópio e microscópio ótico. Para o isolamento do patógeno, regiões das folhas contendo sintomas e sinais foram cortadas com lâmina esterilizada e colocadas em hipoclorito de sódio 1% por dois minutos, seguido de álcool 70% por 1 minuto, lavadas com água destilada autoclavada e colocadas em meio bda para crescimento e esporulação. Uma cultura pura foi feita a partir da diluição da massa conidial em água destilada e uma colônia do fungo crescido foi transferida para outra placa com meio bda para crescimento e esporulação. Quanto à avaliação da patogenicidade em mudas, foram utilizadas 80 mudas de mogno, onde 40 foram inoculadas com o fungo e 40 serviram como testemunha, sem inoculação. Suspensões de conídios obtidas de cultura pura do fungo serviram como fonte de inóculo. A suspensão foi misturada com água destilada, depois pulverizada nas folhas de mogno e o material foi mantido em câmara úmida por 72 h. A avaliação começou três dias após a inoculação e perdurou até 30 dias.

**Resultados.** Como resultado, o fungo encontrado foi identificado como *phomopsis*, apresentando conídios enegrecidos e conídios do tipo alfa e beta, característicos do gênero. Quanto ao teste de patogenicidade em mudas, 28 (70%) reaperentaram os sintomas e o patógeno foi reisolado, comprovando que as manchas observadas em folhas de mogno foram causadas pelo fungo em questão.

**Conclusões.** Portanto, este é o primeiro relato de *phomopsis* sp causando manchas foliares em mogno, o que pode vir a se tornar um problema na produção de mudas da espécie.

#### TLP-746. Produção das enzimas fenoloxidasas por fungos filamentosos irradiados com raio gama

Nelânia Baptista\*, Flávia Virgínia Ferreira de A.\*, Erik Jonne Vieira de M.\*, Pérsio Alexandre Silva\*, José Robson Cavalcanti\*, Evelyne Solidônio\*, Rita de Cássia Mendonça de M.\*, Norma Buarque de G.\*

\*Universidade Federal de Pernambuco Brasil.

**Introdução.** Os micro-organismos são uma das principais fontes produtoras de enzimas. Uma série de pesquisas foi desenvolvida nos diferentes campos da microbiologia sobre as transformações ocasionadas nas moléculas pela radiação ionizante. Os raios gama foram utilizados para o aumento da produção de ácidos orgânicos em líquens e pouco se tem descrito para fungos. Desta forma o objetivo deste trabalho foi de avaliar o efeito da radiação gama na produção enzimática de fungos filamentosos isolados da água.

**Materiais e métodos.** Inicialmente foram isolados fungos filamentosos da água do mar e estuário do rio ipojuca e posterior identificação. Os micro-organismos isolados foram selecionados quanto a produção de lignina peroxidase, manganês peroxidase e lacase sem e com radiação gama em 3 doses (500, 1000, 1500 gy) em 4 técnicas de inoculação: liofilização, raspagem dos esporos, pérolas de vidro, bloco de gelose. Os micro-organismos foram crescidos em caldo sabouraud durante 72 h e a medição das enzimas foram realizadas em espectrofotômetro utilizando protocolos específicos para cada enzima.

**Resultados.** A melhor produção da atividade enzimática foi observada para a lignina peroxidase, 676 u/l na dose de 500 gy para o *Aspergillus awamori*. A enzima manganês peroxidase, obteve a produção enzimática para as 3 espécies de fungos, sendo no *Penicillium* sp., a maior produção de 1720 u/l na dose de 500 gy. Para a enzima lacase o fungo que melhor produziu foi *Aspergillus terreus* com 980 u/l também na dose de 500 gy.

**Conclusões.** A irradiação 500 gy estimula *Aspergillus awamori*, *Aspergillus terreus* e *Penicillium* sp. A produzirem as enzimas fenoloxidasas.

#### TLP-747. Ultrastructural changes induced by *Origanum vulgare* essential oil in *Aspergillus flavus*

Teresa Cristina Castro Cahete M.\*, Horacina Maria de Medeiros C.\*, Marcos Antônio Barbosa de L.\*, Newton Pereira S.\*, Tania Lúcia Montenegro S.\*, Thayza Christina Montenegro S.\*

\*Faculty Of Mauricio de Nassau- João Pessoa Brasil.

**Introduction.** Currently there has been a public concern with the presence of pesticide residues in food and the environment due to the use of synthetic fungicides in agriculture. Essential oils have been reported as a safer alternative to control phytopathogenic fungi during pre and postharvest processes. This study aimed to investigate ultrastructural effects by *origanum vulgare* essential oil (OVEO) at different stages of development of the phytopathogenic fungi *Aspergillus flavus*.

**Materials and methods.** The experiment was designed using oveo from ferquima, soluble (10 µl/mL) in sabouraud broth containing bacteriological agar as a stabilizing agent. Oveo was added in the culture medium at the beginning and after 24 h of incubation and grown for 3 days at 28°C, in orbital agitation at 150 rpm. The fungal biomass of *A. flavus* obtained after 3 days of cultivation in oveo containing medium at 0.03 µg/mL (CIM/2), 0.06 µg/mL (CIM) and 0.12 µg/mL (CFM) concentrations were washed in phosphate buffer and fixed in 2.5% glutaraldehyde, post-fixed in 1% osmium tetroxide, dehydrated in ethanol, dried in hexamethyldisilazane. The samples were then examined and photographed in the scanning electronic microscope - sem, jeol lv 5600, operating at 22 kv.

**Results.** Showed that when oveo was added at the beginning of cultivation the hyphae became short, broad and deformed, with irregular cell surface and fragmentation of hyphae, as well the formation of chlamydo spores. The addition of oveo after 24 h of incubation induced several ultrastructural changes such as spores and hyphae were deformed, flattened and wrinkled, and inhibition of the germination process.

**Conclusions.** The data showed that oveo is able to cause serious injury in spores and hyphae of *A. flavus*, demonstrating its potential as a natural replacement for synthetic fungicides in agriculture.

#### TLP-748. Efecto de los sobrenadantes libres de células de kefir sobre la inhibición de *Fusarium graminearum* y la producción de zearalenona

Raúl Ricardo Gamba V.\*, Angla María León P.\*, Graciela Liliana de Antoni\*

\*Universidad Nacional de la Plata Argentina.

**Introducción.** El kefir es una leche fermentada milenaria, con capacidad antimicrobiana sobre enteropatógenos, actividad antitumoral, etc. El permeado de suero es un efluente industrial que puede ser fermentado con gránulos de kefir y tiene potencial para ser aplicado como biopreservante. *Fusarium graminearum*, causa grandes pérdidas en la producción de granos y producen micotoxinas como zearalenona, que constituyen un riesgo para la salud animal y humana. Objetivo general. El objetivo fue determinar la actividad antifúngica de los sobrenadantes libres de células (SLC) de kefir obtenidos de una fermentación en permeado de suero con gránulos de kefir cidca agk1 sobre distintas cepas de *F. graminearum* FG36, FG44 y FG48, como base para desarrollar un bioconservante con base en permeado.

**Materiales y métodos.** Los ensayos de inhibición se hicieron en placas de petri conteniendo diferentes concentraciones de SLC, las cuales fueron inoculadas en el centro con una suspensión de 105 conidios/mL. Las placas se incubaron a 30°C y se midió el crecimiento diametral diariamente. Se realizó una curva de crecimiento y una regresión lineal, calculando los parámetros de crecimiento: fase de latencia y velocidad de crecimiento. La determinación de zearalenona se realizó a través de un inmunoensayo Veratox®.



**Resultados.** A medida que desciende el porcentaje de slc en el medio disminuye la capacidad inhibitoria de los SLC y se obtuvo efecto fungicida en el medio con 70% v/v SLC sobre las cepas desafiadas. En los SLC a pH 3.5 se determinó mediante HPLC, una concentración de 169,35 mm de ácido láctico y 50,22 mm de ácido acético. La producción de zearaleona fue de carácter cepa-dependiente.

**Conclusiones.** Se atribuye el efecto antifúngico a los ácidos láctico y acético y se realizarán futuros estudios sobre matrices alimenticias ahondando en su posible uso con bioconservante.

### TLP-749. Avaliação da atividade antifúngica de curcumina frente a leveduras do gênero *Candida*

Jessica Tauany A.\*, Sarah Elisa Morais\*, Anderson Junior F.\*,  
Carla Daiane Ferreira S.\*, Jaqueline Maria Siqueira F.\*,  
Marcelo Gonzaga de Freitas A.\*

\*Universidade Federal de São João Del-Rei Brasil.

**Introdução.** A candidíase vulvovaginal é causada por leveduras do gênero *Candida*. O tratamento com os antifúngicos usuais vem se mostrando ineficiente. Assim, o estudo de novos compostos com atividade antifúngica, torna-se importante. A curcumina é um composto polifenólico, isolado da espécie vegetal curcuma longa, que apresenta uma gama de atividades como atividade antimicrobiana. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antifúngico e o mecanismo de ação de ligação ao ergosterol exógeno da curcumina frente a oito amostras de *Candida*.

**Materiais e métodos.** Foram utilizadas duas amostras padrões de *Candida albicans* (ATCC 10231 e ATCC 14053), cinco amostras clínicas de *C. albicans*, uma amostra padrão de *C. krusei* (ATCC 34135) e uma de *C. glabrata* (ATCC 2001). A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada pela técnica de microdiluição em caldo e a avaliação da concentração fungicida mínima (CFM) por microdiluição em ágar. A curcumina foi testada em concentrações que variaram de 4000 µg/mL a 7,8 µg/mL. Cetoconazol e dimetilsulfóxido foram os controles positivo e negativo, respectivamente. A análise da ligação da curcumina aos esteróis da membrana fúngica de *C. albicans* foi realizada acrescentando ergosterol ao meio de cultura (200 µg/mL) e a CIM foi determinada na presença e ausência de ergosterol.

**Resultados.** Curcumina apresentou CIM de 125 µg/mL, 500 µg/mL e 500 µg/mL frente às amostras padrões de *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. albicans* (ATCC 10231), respectivamente, bem como CIM de 1000 µg/mL para três isolados clínicos de *C. albicans*. A cim da curcumina frente *C. albicans* ATCC 10231 foi maior (1000 µg/mL) na presença de ergosterol exógeno o que sugere que este composto pode agir ligando-se ao ergosterol da membrana.

**Conclusões.** A curcumina apresentou atividade na maioria das amostras clínicas e padrões e mostrou capacidade de se ligar ao ergosterol exógeno, sob condições experimentais. Dessa forma, a curcumina pode ser considerada um promissor agente antifúngico.

### TLP-750. Prevalência e patogenicidade nas candidemias do nordeste do Brasil: a importância de *Candida parapsilosis*

Gabrielli Oliveira G.\*, Jailton Lobo J.\*, Priscila Mendonça P.\*,  
Ana Emília Roberto\*, Danielle Macêdo\*, Carolina Da Silva\*,  
Reginaldo Neto\*, Rejane Neve\*

\*Universidade de Pernambuco Brasil.

**Introdução.** O gênero *Candida* apresenta-se como principal grupo de fungos associadas às infecções hospitalares. É o terceiro agente etiológico mais isolado nesse sítio nosocomial e apresenta taxa de mortalidade em torno de 40%. Realizar diagnóstico micológico em amostras sanguíneas de pacientes em uti com suspeita de candidemia, além de avaliar o grau de patogenicidade dos isolados.

**Materiais e métodos.** Foram realizadas 54 hemoculturas provenientes de pacientes internados em uti de hospitais terciários de recife-pe, Brasil, entre agosto de 2012 a janeiro de 2013. A identificação foi realizada através de fenotipagem clássica e sistema automatizado Vitek 2. Capacidade de adesão foi avaliada como alta ou baixa aderência, após incubação das suspensões de levedura (106 ufc/mL) e células epiteliais da cavidade oral (104 céls/mL). Formação de biofilme foi obtida em placas de titulação, após 24 h de incubação e coloração com safranina, e graduado como forte, moderada, fraca ou ausente.

**Resultados.** Foram isoladas 19 leveduras a partir das hemoculturas. Foram identificadas cinco *C. albicans* (26,3%), uma *C. famata* (5,3%), uma *C. glabrata* (5,3%), uma *C. guillemontii* (5,3%), nove *C. parapsilosis* (47,4%) e duas *C. tropicalis* (10,6%). Dez isolados (52,6%) se aderiram fracamente às células epiteliais e nove (43,4%) obtiveram uma forte aderência. Três (15,79%) isolados não formaram biofilme, oito (42,1%) mostraram formação fraca, três (15,79%) foram moderadas e cinco (26,32%) apresentaram forte formação de biofilme. *C. parapsilosis* foi à espécie que mais formou biofilme (50,0% fraco; 40,0% forte; p<0,05) e que mais aderiu às células epiteliais (60,0% fraco; 33,3% forte; p<0,05).

**Conclusões.** Evidenciamos a mudança no perfil epidemiológico das candidemias que vem sendo alterada para espécies não-albicans, principalmente por *C. parapsilosis*. Conhecer a prevalência das espécies e seus aspectos patogênicos é fundamental para adoção de estratégias de prevenção e controle espécie-específica.

### TLP-751. Efecto antifúngico del aceite esencial de romero para almacenamiento de tomate en atmósfera modificada

Giselle Pesantez\*, Angela María León P.\*, Gabriela Diosma\*,  
María L. Lemoine\*, Analía Concellón\*

\*Universidad Nacional de La Plata Argentina.

**Introducción.** La demanda actual por alimentos naturales y seguros ha estimulado la investigación sobre preservantes naturales. Se han estudiado los aceites esenciales de especias como fuentes de conservantes naturales. Objetivos. Evaluar el efecto antifúngico del aceite esencial de romero frente a levaduras y un hongo filamentoso aislados de tomates frescos cortados y refrigerados.

**Materiales y métodos.** El hongo filamentoso se identificó morfológicamente mediante claves taxonómicas y las levaduras se identificaron mediante kit API® 20c aux. Se estableció la concentración de microorganismos de mayor sensibilidad al romero para fijar la concentración de trabajo para las siguientes pruebas. Los microorganismos se cultivaron en agar papa dextrosa y se prepararon suspensiones con diferentes concentraciones que fueron inoculadas en cajas de agar malta ubicadas en bandejas almacenadas en bolsas de polietileno con una concentración fija de aceite esencial. Las concentraciones empleadas fluctuaron entre 10e+6 y 10e+1 conidios/mL de *A. fumigatus* y entre 10e+6 y 10e+1 ufc/mL de *C. guillemontii* y *Kloeckera* spp. Se evaluó la actividad inhibitoria de diferentes concentraciones de aceite esencial de romero (15, 30, 50, 100 µl, por cada bandeja) sobre las concentraciones fijadas de cada microorganismo previamente.

**Resultados.** La concentración mas sensible de *A. fumigatus* fue de 10e+3 conidios/mL y de 10e+4 ufc/mL de *C. guillemontii* y de *Kloeckera* spp. El aceite esencial al 15% redujo el crecimiento de *A. fumigatus* y *Kloeckera* spp. Significativamente, con respecto al control. Mientras que para *C. guillemontii* se necesitó 50% de aceite esencial para producir una reducción significativa.

**Conclusiones.** El aceite esencial de romero ejerce un efecto inhibitor a diferentes concentraciones, tanto sobre *A. fumigatus* como sobre *Candida guillemontii* y *Kloeckera* spp., por lo que puede ser estudiado y aplicado en el incremento de la vida útil del tomate en rodajas.

### TLP-752. Micoteca URM: importância para a micologia na América Latina

Bruno Severo G.\*, Eliane Barbosa Da Silva N.\*, André Santiago\*,  
Débora Maria Massa L.\*, Maria José Santos F.\*, Ana Cristina Regis  
de Barros C.\*, Luan Amim de Oliveira P.\*, Susana Carvalho D.\*

\*Universidade Federal de Pernambuco Brasil.

**Introdução.** A micoteca URM (University Recife Micologia) do Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco está registrada no WDCM da WFCC sob o número 604. A urm preserva uma importante parcela da micobiodiversidade Brasileira, de interesse nas áreas de saúde, ambiental, agrônômica e industrial nos setores alimentício, farmacêutico, têxtil, meio ambiente dentre outros. O objetivo é descrever a relevância da urm como fonte de recursos biológicos para a América Latina.

**Materiais e métodos.** A coleção é composta por aproximadamente 8.000 registros com cerca de 24.000 culturas de fungos e 700 espécies de fungos filamentosos (75%) e leveduras (25%), pertencentes aos chytridiomycota, mucoromycotina (anteriormente zygomycota), ascomycota

ta, basidiomycota e respectivas fases assexuadas, assim como organismos classificados no reino stramenopila. Os métodos de preservação são: óleo mineral, liofilização, água destilada e/ou ultracongelamento a -80°C. Todas as culturas estão preservadas pelo menos em dois métodos. Em 2014, a coleção fundada em 1954 por Augusto Chaves Batista, completa 60 anos de atividades.

**Resultados.** Os serviços oferecidos são depósito, fornecimento e identificação de culturas de fungos, além de formação recursos humanos. Em 2009, estes serviços foram oficializados pela instituição e em 2012, a prestação aumentou em seis vezes mais do que no primeiro ano. Desde 2010, a URM é fiel depositária de amostras de componente do patrimônio genético pelo conselho de gestão do patrimônio genético do Brasil. Culturas estão sendo autenticadas pelas características morfofisiológicas e por biologia molecular, assim como por análise proteômica. Em janeiro de 2014 o sistema de gestão da qualidade da URM foi certificado, segundo a ABNT NBR ISO 9001:2008 com a finalidade de garantir que os usuários sejam sempre atendidos conforme sua solicitação, buscando a excelência no atendimento.

**Conclusões.** As atuais iniciativas são a institucionalização da URM; melhor adequação das instalações da coleção; implantação de sistemas de gestão para centros de recursos biológicos.

### TLP-753. Potencial biocontrolador de hongos rizosféricos de *Espeletia* sp. contra un aislado fitopatogéno de frailejon *Fusarium* sp.

Diana Lorena Gómez V.\*, Pilar Ximena Lizarazo M.\*

\*Universidad de Antioquia Colombia.

**Introducción.** Las especies de *Espeletia* son las más predominantes en los ecosistemas paramunos y desempeñan una función esencial en el proceso de captación del agua. En la actualidad estas especies están siendo amenazadas por factores antrópicos, ambientales y fitosanitarios, como los daños producidos por *Fusarium* spp. Una de las alternativas para la protección de los frailejones frente a este fitopatogéno, es el uso de microorganismos o sus metabolitos con actividad antifúngica. Este estudio tuvo como objetivo determinar la actividad antagonista de hongos rizosféricos de *Espeletia* sp. frente a *Fusarium* sp.

**Materiales y métodos.** Se aislaron hongos a partir de la rizósfera de *Espeletia* sp. En los páramos de Santa Inés y de Frontino-Urrao (Antioquia, Colombia). Se estableció el potencial biocontrolador de estos mediante enfrentamiento contra una cepa de *Fusarium* sp. Aislada de frailejones enfermos del páramo de Chingaza (Cundinamarca) y se realizó una preselección de los hongos en los que se observó una zona de inhibición. Los morfotipos seleccionados fueron evaluados por enfrentamiento, por triplicado, midiendo el crecimiento diario cuando estaba enfrentado y creciendo individualmente. **Resultados.** Se obtuvieron 58 aislados fúngicos de Santa Inés y 46 de Frontino-Urrao, clasificados en 36 y 27 grupos morfológicamente diferentes, respectivamente. Se probaron 63 aislados (uno por morfotipo) y 7 presentaron una zona de inhibición al ser enfrentados con *Fusarium* sp. En total se seleccionaron 13 aislados (siete pre-evaluados y seis aislados pertenecientes a un grupo de morfotipos). de los hongos evaluados el 15,4% disminuyó significativamente ( $p < 0,05$ ) la tasa de crecimiento de *Fusarium* sp. El porcentaje de inhibición micelial fue mayor entre los 2 y 5 días de crecimiento. De acuerdo con los resultados posiblemente el efecto antagonista sea producido por la secreción de sustancias antibióticas.

**Conclusiones.** Hongos de la rizósfera de *Espeletia* sp. presentaron potencial antagonista disminuyendo la tasa de crecimiento de *Fusarium* sp.

### TLP-754. Species-specific primers for *in vitro* identification of *Aspergillus nomius* as well as in floral visitors of Brazil nuts, *Xylocopa frontalis*

Maria Helena Pelegrinelli F.\*, Fernanda Pelisson M.\*, Rafael Elias Penha\*, Marcelo Casimiro\*, Helena Viaro\*, Josué José Silva\*, Larissa Ferranti\*, Silvia Helena Sofia\*

\*Universidade Estadual de Londrina Brasil.

**Introduction.** The soil has been systematically recognized as the dominant source of aflatoxigenic fungi that contaminate Brazil nuts. However, their occurrence in nuts collected from the tree (*Bertholetia excelsa*) was recently reported. Among the aflatoxigenic fungi, *Aspergillus nomius* has been described as the main culprit for the presence of aflatoxins in Brazil nuts. *A. nomius* identification on the basis of morpholo-

gical features is very difficult. In the present study, the  $\beta$ -tubulin gene sequences were used to design a PCR primer pair to amplify *A. nomius* ADNA only. In addition we investigated the occurrence of *A. nomius* in the most important floral visitor of *B. excelsa* tree, *Xylocopa frontalis*.

**Materials and methods.** The  $\beta$ -tubulin gene sequences from *Aspergillus* section flavi were downloaded from GenBank database and aligned. A primer-pair was designed searching for conserved regions of the  $\beta$ -tubulin gene in all *A. nomius* strains, but differing in one or more nucleotides in all other species of the section flavi. The primers denoted btubnmf/ btubnmr were used to verify their specificity for *A. nomius* detection. The capture of floral visitors was carried out, using entomological nets, in the largest Brazil nut plantation of the world. The primer pair developed in the present study was used for specific detection of *Aspergillus nomius* in *Xylocopa frontalis*. All nested-PCR products were to confirm the *A. nomius* identity.

**Results.** *In vitro* assays confirmed the btubnmf/btubnmr specificity supporting its utility for detecting and identifying *A. nomius*. By means of PCR, *A. nomius* was detected in the most important floral visitor of *B. excelsa* tree, *Xylocopa frontalis*. Sequencing of nested-PCR products revealed that all PCR products were in fact from *A. nomius*.

**Conclusions.** The presence of *A. nomius* in *Xylocopa frontalis* opens new avenues for increasing the knowledge about the contamination process of Brazil nuts by aflatoxin producing fungi.

### TLP-755. Estudio de la capacidad antifúngica de los sobrenadantes de kefir sobre *Aspergillus parasiticus* CMUNLP7 y la producción de aflatoxina AFB1

Raúl Ricardo Gamba V.\*, Carolina Ni Coló\*, Teresa Alconada Magliano\*, Andrea Astoreca\*, Angela María León P.\*, Graciela Liliana de Antoni\*

\*Universidad Nacional de La Plata Argentina.

**Introducción.** El kefir es una leche fermentada natural que posee capacidad antimicrobiana sobre patógenos intestinales, actividad antitumoral, entre otras. El permeado de suero es un efluente industrial que se puede fermentar con gránulos de kefir y tiene un potencial para ser aplicado como biopreservante. *Aspergillus* causa grandes pérdidas en la industria cerealera; además, pueden producir aflatoxinas, que constituyen un riesgo para la salud humana y animal, siendo la aflatoxina B1, clasificada en el grupo 1a según la International Agency for Research on Cancer. Objetivo general. Determinar la actividad antifúngica de los sobrenadantes libres de células (SLC) de kefir fermentados en permeado de suero con gránulos de kefir CIDCA AGK1 sobre *Aspergillus parasiticus* CMUNLP7, y evaluar su efecto sobre la producción de aflatoxinas.

**Materiales y métodos.** Se estudió la capacidad antifúngica contra *A. parasiticus* CMUNLP7, empleando SLC de permeado de suero fermentado con gránulos CIDCA AGK1 inoculado al 10% y a pH final de 3,5. Se analizó el efecto de agregar diferentes concentraciones de dichos SLC *in vitro* sobre los parámetros fúngicos (kd (mm/h) y lag (h)). Estos se determinaron mediante la medición diaria del diámetro fúngico en la placa de petri. **Resultados.** A una concentración  $\geq 65\%$  de sobrenadante en el medio no ocurrió crecimiento fúngico, teniendo el sobrenadante actividad fungicida. Mientras que si hubo crecimiento a concentraciones menores de sobrenadante. El permeado de suero adicionado al medio causó un incremento en la producción de micotoxina desde 31,08 ppb (medio sin permeado) a 97,49 ppb. Además, el 50% SLC PSFG en el medio produjo la mayor concentración de aflatoxina 138,71 ppb.

**Conclusiones.** El PSFG tiene el potencial de inhibir el crecimiento de *A. parasiticus* y la producción de aflatoxinas si se aplica a una concentración  $\geq 65\%$ .

### TLP-756. Evaluación de la incidencia de diferentes condiciones de cultivo del hongo *Laetiporus sulphureus* en la producción de metabolitos con actividad antimicrobiana

Gabriela Jorcín\*, Stephanie Barneche\*, Álvaro Vázquez\*, María Pía Cerdeiras\*, Silvana Alborés\*

\*Cátedra de Microbiología Y Cátedra de Farmacognosia, Facultad de Química, Universidad de La República Uruguay.

**Introducción.** Las enfermedades infecciosas constituyen hoy una de las principales causas de muerte en el mundo, debido, entre otros motivos,

a la falta de una terapéutica adecuada, ya sea por la falta de fármacos efectivos o por la rápida aparición de resistencia que vuelve inefectivas las drogas existentes. A nivel agrícola, las pérdidas de productos relacionadas con el ataque de plagas y enfermedades son también considerables, constituyendo una de las principales causas de inestabilidad en la empresa agrícola y del déficit alimentario mundial. Como consecuencia es de gran interés la búsqueda de nuevos compuestos activos y nuevas estrategias de control que sean efectivos y seguros para el medio ambiente y los consumidores. Los hongos basidiomicetes constituyen un grupo con gran potencial en la producción de metabolitos biológicamente activos. Estudios previos realizados por nuestro grupo demostraron que extractos del hongo *L. sulphureus* inhibían el crecimiento de algunos patógenos. El objetivo de este trabajo fue estudiar la influencia de las condiciones de cultivo de *L. sulphureus* en la producción de metabolitos con actividad antimicrobiana frente a *X. vesicatoria* y *S. aureus*.

**Materiales y métodos.** Utilizando el diseño de plackett burman y factorial fraccionado se realizaron cultivos del hongo a distintas condiciones (temperatura, pH, agitación, composición del medio). Se realizaron extracciones de caldo de cultivo y micelio. Se determinó la concentración inhibitoria mínima de los extractos por la técnica de microdilución.

**Resultados.** En todas las condiciones evaluadas los extractos inhibieron el crecimiento microbiano. Luego de realizar el análisis de los diseños se observa que no existen diferencias significativas en la respuesta con ninguno de los factores evaluados.

**Conclusiones.** En base a los resultados obtenidos en este trabajo se seleccionó una de las condiciones evaluadas para la realización de fermentaciones a mayor escala que permitan realizar estudios de elucidación estructural de los compuestos bioactivos.

### TLP-757. Avaliação do efeito de diferentes açúcares na produção de fator hemolítico por *Candida tropicalis*

Emanuele Julio Galvão de F.\*, Luciana Furlaneto-Maia\*, Marcia Cristina Furlaneto\*

\*Universidade Estadual Do Norte Do Paraná, Brasil.

**Introdução.** A capacidade hemolítica é reconhecida como um possível determinante de virulência de *C. tropicalis*, no entanto, os fatores relacionados a regulação da produção de fator hemolítico por esta espécie são pouco compreendidos. Este estudo teve por objetivos avaliar o efeito de diferentes açúcares (glicose, sacarose e manose) na produção de fator hemolítico por isolados clínicos de *C. tropicalis*, bem como, avaliar a expressão de HLPT, um possível gene que codifica o fator hemolítico dessa espécie.

**Materiais e métodos.** Foi avaliada a atividade hemolítica de isolados de *C. tropicalis* cultivados em meio RPMI acrescido de 7% de sangue e suplementado com 2, 4 ou 6% de glicose, sacarose ou manose. Cultivos em meio rpmi acrescido de sangue e sem suplementações de açúcares foram utilizados como controle a expressão de HLPT por isolados de *C. tropicalis* cultivados em presença de 6% de manose, sacarose ou glicose foi avaliada por PCR em tempo real.

**Resultados.** As diferentes concentrações de glicose e sacarose testadas determinaram aumento significativo da atividade hemolítica de todos os isolados avaliados ( $p < 0,05$ ). O mesmo foi verificado para cultivos acrescidos de manose nas concentrações 4 e 6%; em cultivos acrescidos de 2% desse açúcar a maioria (60%) dos isolados também apresentou potencial hemolítico mais elevado em comparação aos cultivos controle ( $p < 0,05$ ). Os resultados demonstraram que o efeito da fonte de carbono na capacidade hemolítica é concentração-dependente. Os maiores valores de hemólise foram promovidos por cultivos em 6% de manose, sendo que nessa condição a maioria (80%) dos isolados apresentou potencial hemolítico superior ao verificado em 6% de glicose. Não foi verificada correlação entre a atividade hemolítica de *C. tropicalis* e a expressão de HLPT em presença de 6% de glicose, sacarose ou manose.

**Conclusões.** Diferentes açúcares podem influenciar o potencial hemolítico de *C. tropicalis*.

### TLP-758. Analysis of the proteomic profile of two isolates of *Moniliophthora perniciosa* in response to apoplastic fluid cocoa

Luciana R. Camillo\*, André da Silva Santiago†, Cristiano Villela Dias‡, Analu Campos Reis\*, Karina Pérez Gramacho§, Carlos Priminho Pirovani\*

\*Universidade Estadual de Santa Cruz UESC - Center for Biotechnology and Genetic, Brazil. †UNICAMP, Center for Molecular Biology and Genetic Engineering, Campinas, SP, Brazil. ‡Mars Center for Cocoa Science, Fazenda Almirante, Itajuípe, BA-Brasil. §Cocoa Research Center, CEPLAC/CEPEC, BA, Brazil.

**Introduction.** The basidiomycete fungus *moniliophthora perniciosa* (mp), is the causal agent of the witches' broom disease in theobroma cacao l. (TB), which currently is one of the biggest phytopathological problems of cocoa growing regions, such as Brazil and Caribbean Islands. In spite of the efforts to control the disease, important aspects of the complex interaction that leads to the development of this disease are not yet sufficiently understood. The work analyzes if the apoplastic fluids from two cacao varieties, susceptible (Catongo) and resistant (TSH1188), are able to modulate the expression of proteins related to pathogenicity and oxidative stress of two mp isolates.

**Materials and methods.** The total protein extract of the two mp isolated (LESS – MP553 and more aggressive – MP565) which were grown up in the presence of apoplastic fluids from resistant and susceptible varieties of cocoa witches' broom disease, were analyzed by bidimensional gels (2-DE) and identified using mass spectrometry by LC-MS/MS.

**Results.** The MP553 shows a bigger quantity of protein spots – 755-, while the MP565 showed 517 spots. In this analyze 64 differential spots were detected in MP553 and 122 spots in the MP565. A total of 216 proteins were identified in MP553 and 311 from MP565. The main protein group is involved in metabolism and energy production (35%), followed by redox process (16%) and protein synthesis and folding (16%).

**Conclusions.** The study suggests that modulators in the apoplastic fluid induce protein synthesis reprogramming in mp, producing several proteins related to pathogenicity such as aldo-keto reductases, cysteine-peroxiredoxin and aegerolisines. This work leads to the first proteomic map of mp and also demonstrates the relevance of the identification of key-molecules involved in the pathogenicity, so this can guide to new strategies to disease control.

### TLP-759. Capacidad antifúngica del kefir de leche y su efecto en la vida útil y las propiedades sensoriales de la arepa antioqueña

Angela María León P.\*, Raúl Ricardo Gamba V.\*, Carlos Andrés Caro V.\*, Olga Lucía Martínez\*, Ana F. Moretti†, Leda Giannuzzi\*, Graciela Liliana de Antoni\*

\*Universidad Nacional de La Plata Argentina. †Adscripta A La Cátedra de Microbiología de La Facultad de Ciencias Exactas. UNLP.

**Introducción.** El kefir es una leche fermentada artesanal preparada con gránulos provenientes del este de Europa, que presenta propiedades probióticas. La contaminación con hongos filamentosos causa pérdidas en la producción de alimentos cereales como la arepa de maíz, producto cotidiano de la alimentación Colombiana. Objetivo: determinar la capacidad inhibitoria del kefir obtenido con gránulos CIDCA AGK1 y AGK2 sobre *A. flavus* AFUNL5 *in vitro* y adicionado en arepa de maíz.

**Materiales y métodos.** Los SLC fueron adicionados al medio de cultivo sólido, determinando su efecto sobre la tasa de crecimiento (KD) y la fase de latencia del hongo (LAG). Se comparó la inhibición obtenida con los SLC con la generada con sobrenadantes de leche acidificada artificialmente con ácidos láctico, acético y HCL. El kefir se adicionó a la arepa mezclada en la fórmula o rociado después del horneo y se estudio la resistencia del producto a la contaminación así como su perfil sensorial.

**Resultados.** La mayor inhibición se obtuvo con SLC obtenidos con gránulos CIDCA AGK1 a 30°C a pH 3,3 y el parámetro más afectado fue la fase LAG. La leche acidificada artificialmente con ácidos orgánicos inhibió en menor proporción que los SLC, mientras que no lo logró cuando fue acidificada con HCL. La adición del kefir en la fórmula confirió a la arepa resistencia significativamente superior ( $p < 0,05$ ) al control frente a la contaminación natural y artificial. El perfil sensorial producto presentó características de la arepa clásica y algunos sabores propios de la fermentación.

**Conclusiones.** El kefir de leche puede inhibir el crecimiento de *A. flavus* tanto *in vitro* como en arepa de maíz, conservando y adicionando sabores de la arepa tradicional. Es el primer estudio sobre inhibición fúngica por kefir hasta su aplicación en la arepa de maíz estableciendo su posible aplicación como preservante de alimentos.

### TLP-760. Avaliação da produção de proteases e hemolisinas por isolados de *Candida tropicalis* oriundos da areia da Praia de Ponta Negra, Natal/ RN – Brasil

Diana Luzia Zuza A.\*, Sayama Samara T.\*, Walicyranison Plinio Da Silva R.\*, Maria Christina Barbosa de A.\*, Guilherme Maranhão C.\*

\*Universidade Federal Do Rio Grande Do Norte Brasil.

**Introdução.** *C. tropicalis* é uma levedura presente na microbiota humana, sendo relatada como contaminante de ambientes costeiros, apresentando potencial patogênico. O objetivo desse estudo foi avaliar a produção de proteases e hemolisinas de isolados de *C. tropicalis* oriundos da areia da Praia de Ponta Negra.

**Materiais e métodos.** As coletas foram realizadas em março e julho de 2012 e em março de 2013, em 6 pontos distintos da praia, as amostras foram semeadas em placas de petri contendo ágar sabouraud dextrose (ASD) com cloranfenicol, e incubadas a  $37 \pm 2^\circ\text{C}$  por até 7 dias. Colônias sugestivas de leveduras foram purificadas em meio chromagartm Candida, submetidas à técnica de micro-cultivo em ágar fubá com tween 80. Foi realizada a identificação através de metodologia clássica. Sessenta e quatro isolados de *C. tropicalis* identificados foram submetidos à avaliação da produção de proteinase, tendo sido inoculados em meio YCB+BSA a  $30^\circ\text{C}$ , 96 h, 200 rpm. A atividade enzimática foi determinada pela quantificação dos produtos solúveis em bsa, após adição de TCA, por espectrofotometria a 280 nm. Para avaliação da produção de hemolisina, os isolados foram cultivados em triplicata em asd suplementado com 7% de sangue de carneiro e 3% de glicose, a  $37^\circ\text{C}$  por 48 h, 5% de  $\text{CO}_2$ . O índice de hemólise (IH) foi determinado pela medição da zona de hemólise em função do diâmetro da colônia.

**Resultados.** Todas as cepas de *C. tropicalis* apresentaram atividade proteolítica, entre 0,020 e 0,097+ 0,01. Todos os isolados exibiram atividade hemolítica positiva, sendo que 40% apresentaram forte produção de hemolisina ( $\text{IH} > 0,55$ ), e 60% apresentaram produção de hemolisina moderada ( $0,56 \leq \text{IH} \leq 0,85$ ).

**Conclusões.** A elevada produção de proteases e hemolisinas pelos isolados de *C. tropicalis* testados sugere que os mesmos podem constituir fonte de infecção com potencial patogênico para os usuários da praia de ponta negra, natal-RN.

### TLP-761. Seleção de fungos anamórficos isolados de solo da Caatinga- PE, Brasil com potencial na produção de lipídeos

Marcos Antônio Cavalcanti L.\*, Amanda de Araujo A.\*, Deborah de Souza Pereira Silva\*, Ladiel Luiz Pedroza T.\*, Grayce Kelli Barbosa Da S.\*, Jaceline Maria de Negreiros L.\*, Adriana Ferreira de S.\*

\*Universidade Federal Rural de Pernambuco, Universidade Federal de Pernambuco, Universidade Católica de Pernambuco Brasil.

**Introdução.** O uso de micro-organismos como fonte de lipídeos tem sido bastante estudada para aplicação biotecnológica em aditivos alimentares, farmacêuticos e combustíveis. Os micro-organismos oleaginosos vêm sendo apresentados como uma fonte de óleos e gorduras de baixo custo devido ao rápido crescimento e adaptação em diversos tipos de substratos. Objetivo: selecionar isolados de fungos anamorfos oriundos de solo da Caatinga, Pernambuco, Brasil com potencial oleaginoso.

**Materiais e métodos.** Foram utilizados 20 isolados, sete espécies de *Aspergillus niger*, quatro espécies de *Aspergillus flavus*, quatro espécies de *Aspergillus parasiticus*, dois *Penicillium glabrum*, um *Penicillium conidiophora*, um *Penicillium rubrum* e um *Fusarium oxysporium*. Os fungos foram cultivados meio CZAPEC por 72 h de cultivo a 150 rpm e  $28^\circ\text{C}$ . As biomassas foram filtradas, congeladas e liofilizadas para peso constante e foram submetidas ao processo de extração de lipídeos totais, através da utilização de solventes orgânicos para quantificação por gravimetria.

**Resultados.** Os maiores níveis de conteúdo lipídico foram obtidos no gênero *Aspergillus* com as espécies *Aspergillus niger* (AN 1) com 41%,

*Aspergillus flavus* (AF3) com 40%, *Aspergillus flavus* (AF1) 36%, *Aspergillus niger* (an5) com 35%, *A. flavus* (AF1) 36%, *A. flavus* (AF2) 33%, *A. flavus* (AF3) 40%, *A. parasiticus* (ap4)32%, *A. parasiticus* (AP5)36% *Penicillium glabrum* (P1) 24%, *Penicillium glabrum* (26%) e *F. oxysporium* apresentou 23%.

**Conclusões.** Os resultados apresentados mostram que os fungos estudados apresentam potencial biotecnológico na produção de lipídeos, uma vez que microorganismos oleaginosos são aqueles que possuem capacidade de acumular 20% a 30% de sua biomassa em lipídeos.

### TLP-762. Study of the effect of fungi pigments in the metabolism of *Penicillium* sp.

Paulo Silva\*, Kyrriale Morant\*, Camilo La Rotta\*, Galba Takaki\*

\*Universidade Católica de Pernambuco Brasil.

**Introduction.** The enzymes are nowadays the most powerful type of biologic resources and the green way of substitute an inorganic and poison component. They are in everything we use, since food up to clothes. We also can use oxidases to reduce the oxygen and then produces energy in a biofuel cell. Founding a new oxidase fungi source and produce it in the culture medium as most as possible would reduce the costs of immobilization and purification of the enzyme, also using a fungal pigments for increase the electron transference through the medium, to a posterior use in a biofuel cell. The objective of this work was the study of the combination of enzymes and pigments extracted by new isolated fungus of Caatinga soil from Pernambuco.

**Materials and methods.** The fungus strain used was penicillium sp. Enzyme production was use a salt medium added cooper and 10 ppm of each fungal pigments in separate places: read, orange, yellow and green. Also was make a control, without pigments. The samples was take daily and evaluated their glucose, enzyme activity and at the end, final weight.

**Results.** Any pigments reduces the fungal growth or inhibited the enzymatic activity. All samples had an expressive growth at 168 h and the highest value of enzymatic activity was with the yellow pigment with 7.894 kui.min<sup>-1</sup>. By the other hand, the green sample consumes the glucose faster than the others.

**Conclusions.** All pigments are viable to use with the fungi without interfere its growth or enzyme production. Also they increase the enzymatic activity.

### TLP-763. Casos submicroscópicos de malaria gestacional en zonas costeras Colombianas

Carlos A. López-Ramírez\*, Cristian C. Hidalgo-García\*, Oscar J. Murillo-Gómez\*, Yurany Patricia Blanquiceth\*, Amanda Elena Maestre\*, Mauricio Corredor\*

\*Grupo Genética Y Bioquímica De Microorganismos (GEBIOMIC), Instituto De Biología, Facultad De Ciencias Exactas Y Naturales, Universidad De Antioquia Colombia.

**Introducción.** La malaria gestacional perjudica a madres y fetos en desarrollo. Según la OMS, en el mundo, 24 millones de embarazadas por año sufren de malaria, causando anemia en el 3-15% de los neonatos, bajo peso al nacer en el 8-14% y mortalidad infantil en el 3-8%. En Colombia, las infecciones por *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax* son altamente endémicas, produciendo hasta 60% de abortos y 10-50% de mortalidad materna. En Colombia el diagnóstico celular es rutinario, mientras que el molecular es escaso. Objetivo: comparar una técnica celular y una molecular para diagnosticar infecciones submicroscópicas por *P. falciparum* y *P. vivax*.

**Materiales y métodos.** Se estudiaron 64 pacientes gestantes y no gestantes con síntomas de malaria, en Puerto Libertador, Tumaco y Turbo. Las muestras se obtuvieron de sangre periférica, placenta y cordón umbilical. Se realizó la prueba celular gota gruesa. Se extrajo ADN y se amplificó con la prueba molecular qPCR. Se calculó la sensibilidad y especificidad de ambas técnicas. Además se realizaron pruebas de hipótesis.

**Resultados.** Las pruebas diagnosticaron satisfactoriamente la presencia de *Plasmodium* en sangre periférica, cordón umbilical y placenta. Además la prueba molecular qPCR permitió evidenciar la existencia de ambas especies de *Plasmodium* y la predominancia de *P. falciparum* en las tres localidades. La prueba qPCR presentó sensibilidad y especificidad del 100%; 2 muestras negativas de puerto libertador por gota gruesa

fueron positivas por qPCR y 1 muestra positiva para *P. falciparum* de Tumaco dio mixta por qPCR.

**Conclusiones.** La qPCR detecta casos con muestras mixtas de ambas especies *P. falciparum* y *P. vivax*, que la prueba de gota gruesa no detecta. La prueba de gota gruesa presentó menor grado de sensibilidad y especificidad comparada con la prueba qPCR.

### TLP-764. Genome reannotation of the protozoa parasite *Cryptosporidium parvum*

Juan Pablo Isaza\*, Bernice Huang\*, Andrey V. Matveyev\*, Myrna G. Serrano\*, Gregory A. Buck\*, Juan Fernando Alzate\*

\*Universidad de Antioquia Colombia.

**Introduction.** *Cryptosporidium parvum* is a recognized cause of diarrhoea in humans and animals, and is associated with a high degree of morbidity and mortality in aids patients. The genome of this apicomplexan was sequenced in 2004 but genome annotation still requires some improvement in order to better understand the gene and protein repertoire and enhance further comparative genomic analysis. Objective. Reannotate *Cryptosporidium parvum* genome.

**Materials and methods.** Oocysts and sporozoites cDNA libraries were prepared from *C. parvum* iowa strain and sequenced using capillary sequencing. Additionally, a 48 h time-course infection transcriptome dataset was generated in HCT-8 infected cells with fresh excysted oocysts of *C. parvum* iowa strain. At several time points (1,2,4,6,12,24,48-h ) rna was extracted from the infected monolayer and sequenced using hiseq platform with 2x100 paired end libraries at the center for the study of biological complexity (virginia commonwealth university). A protein dataset from *Cryptosporidium parvum* previous annotation and the cDNA reads were used as input to the maker annotation pipeline. Tophat was used to align rna-seq reads to *C. parvum* genome and to discover transcript splice sites. Cufflinks was used to assemble the reads into transcripts. Outputs from maker, tophat and cufflinks were manually checked using artemis and apollo viewers.

**Results.** A total of 3851 genes were annotated, 10% of these genes had at least one intron. Between these genes, were more frequent genes with 2 introns. Mean exon length was 378 nucleotides and the mean intron length was 100 nucleotides. More frequent splice donor site was gt and more frequent splice acceptor site was ag, although is necessary to confirm some non-canonical splice sites found. We were able to predict 58 new genes and 407 new introns.

**Conclusions.** This reannotation process allowed to identified new genes and new introns previously missed in the annotation.

### TLP-765. Identificação e caracterização da arginase em *Trypanosoma cruzi*

Debora Batista\*, Simone Oliveira\*, Diego Gonçalves\*, Dário Kalume\*, André Santos\*, Marta Branquinha\*, Cátia Sodrê\*

\*Universidade Federal Fluminense Brasil.

**Introdução.** No *Trypanosoma cruzi*, agente causal da doença de Chagas, a L-arginina serve como um precursor de, no, fosfoarginina e, possivelmente, poliaminas. Não há evidências de síntese endógena de L-arginina pelo parasito. A arginase, uma das enzimas que tem como substrato a L-arginina, é essencial para a produção da ornitina, um precursor das poliaminas em muitos tipos celulares, exceto em *T. cruzi*. Este parasito não apresenta a enzima ornitina descarboxilase que produz putrescina a partir de ornitina, o que o faz depender, então, de uma captação eficiente desta molécula (Putrescina). Objetivo geral: identificar a presença de arginase em *Trypanosoma cruzi* e possíveis variações no nível de expressão desta enzima em diferentes cepas deste parasito.

**Materiais e métodos.** Proteínas solúveis de formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* foram submetidas à técnica de eletroforese bidimensional acoplada à espectrometria de massa para identificação de proteínas de interesse, dentre elas a arginase; a reatividade da enzima ao anticorpo anti-arginase I e II também foi verificada através da técnica de citometria de fluxo, utilizando formas epimastigotas do parasito permeabilizadas com triton x-100.

**Resultados.** Através dos dados obtidos na espectrometria de massa foi possível identificar, pela primeira vez, a presença da enzima arginase em formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi*. Esta enzima apresentou reatividade com os anticorpos anti-arginase I e II, porém mostrou um percentual de reconhecimento dependente do tempo de crescimento

dos parasitos em meio de cultura. Os estudos de atividade da arginase nas diferentes cepas dos principais grupos filogenéticos do *T. cruzi* encontram-se em desenvolvimento.

**Conclusões.** Os dados sugerem que, possivelmente, em algum momento do ciclo de vida deste parasito, a expressão da arginase, de alguma forma, pode contribuir para a obtenção endógena de ornitina, mesmo que pequena. Fontes financiadoras: CNPQ, CAPES e FAPERJ.

### TLP-766. *Trypanosoma cruzi*: efeitos de inibidores da aspártico peptidase do HIV em tripomastigotas e amastigotas da cepa Y

Leandro Stefano Sangenito\*, Claudia Masini D'ávila-Levy\*, André Luis Souza Dos S. \*, Marta Helena Branquinha de S. \*

\*Universidade Federal Do Rio De Janeiro (UFRJ) Brasil.

**Introdução.** O *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas, infecta 8 milhões de pessoas nas Américas. Os medicamentos disponíveis apresentam efeitos colaterais e a eficácia da terapia é contestável. As aspártico peptidases têm sido identificadas em diversas patologias, contudo os únicos inibidores aprovados clinicamente são os utilizados na terapia anti-HIV. Portanto, o objetivo é avaliar o efeito dos inibidores da aspártico peptidase do HIV sobre o *T. cruzi*.

**Materiais e métodos.** Por microscopia ótica, foi verificado a viabilidade e morfologia dos tripomastigotas frente a nelfinavir e lopinavir. Foi determinado o efeito dos inibidores sobre a atividade enzimática de aspártico peptidase e proteassoma utilizando substratos específicos. O efeito desses inibidores sobre diferentes aspectos fisiológicos foi averiguado: metabolismo mitocondrial por MTT; produção de ros usando diclorofluoresceína; integridade da membrana citoplasmática por incorporação de PI; acúmulo de lipídios por Nile red. O efeito desses inibidores sobre a interação com células LLC-MK2 e sobre os amastigotas intracelulares, foi observado por contagem em lâminas coradas.

**Resultados.** Nelfinavir e lopinavir reduziram a viabilidade dos tripomastigotas causando diversas alterações morfológicas. Esses inibidores inibiram parcialmente as atividades proteolíticas de aspártico peptidase detectada e proteassoma. Eles também afetaram o metabolismo mitocondrial, ocasionaram grande estresse oxidativo, afetaram a integridade da membrana celular e levaram ao acúmulo de lipídeos nos parasitos tratados. O pré-tratamento com nelfinavir e lopinavir inibiu a interação de tripomastigotas com células LLC-MK2 de forma dose-tempo dependente e o pós-tratamento dessas células infectadas, evidenciou que esses inibidores reduzem a multiplicação dos amastigotas intracelulares.

**Conclusões.** Estes dados demonstram a influência destes inibidores sobre o metabolismo e infectividade do parasito, abrindo novas possibilidades para o tratamento da doença de Chagas.

### TLP-767. Efeitos da combinação do inibidor de calpaínas MDL28170 e da anfotericina B sobre *Leishmania amazonensis*

Pedro Soares de Souza A. \*, Diego Gonçalves\*, Filipe Pereira Matteoli\*, Sérgio Henrique Seabra\*, Claudia Masini D'ávila Levy\*, André Luis Souza Dos S. \*, Marta Helena Branquinha de S. \*

\*UFRJ, Brasil.

**Introdução.** As leishmanioses são um grupo de doenças infecciosas causadas por diferentes espécies do gênero *Leishmania*, e afetam cerca de 2 milhões de pessoas por ano. Drogas usadas no tratamento são caras, requerendo longa administração parenteral, produzem sérios efeitos colaterais, e a resistência a esses componentes vem se mostrando um grande problema atualmente. Desta forma, é crescente a busca pelo desenvolvimento de novos medicamentos, bem como a combinação entre drogas, contribuindo para o menor desenvolvimento de resistência. Pretendemos avaliar a combinação do inibidor de calpaínas MDL28170 e da anfotericina B sobre a cepa ph8 de *Leishmania amazonensis*.

**Materiais e métodos.** Promastigotas foram incubadas em concentrações crescentes de cada composto, e quantificadas diariamente por 96 h. Após a determinação do IC50 para cada droga, avaliamos combinações das mesmas: mantendo-se constante o valor de ¼ IC50 da anfotericina b, foram utilizados os valores de ¼, ½ e ¾ IC50 do MDL28170. Por microscopia eletrônica de varredura, verificamos possíveis alterações morfológicas. Avaliamos também a viabilidade celular pelo ensaio de alamar blue, bem

como a integridade de membrana e a expressão de peptidases e produção de ros por citometria de fluxo. Interagindo o parasito com cultura de macrófagos raw, avaliamos o efeito na infecção “*in vitro*”.

**Resultados.** Nas combinações obtivemos efeito aditivo, sendo 1/4IC50 da AMB + 1/2IC50 MDL28170 a menor combinação capaz de causar alterações morfológicas. Esta combinação foi capaz também de alterar significativamente a viabilidade celular, integridade de membrana, expressão de peptidases, produção de ros e interação com macrófagos raw.

**Conclusões.** É possível reduzir a concentração de anfotericina B para o tratamento de leishmanioses em combinação com inibidores de calpainas, diminuindo efeitos colaterais associados.

### TLP-768. Vectorial role of *Acanthamoeba* in *Legionella* propagation in water for human use

Angela Magnet\*, Regina Peralta\*, Thiago Gómes\*, Fernando Izquierdo\*, Carmen Fernandez V.\*, Ana Luz Galván D.\*, María José Pozuelo\*, Carmen Pelaz\*, Soledad Fenoy\*, Carmen Del Aguila\*

\*Universidad San Pablo Ceu, Spain. Universidad Federal Fluminense, Brazil. Universidad de Antioquia, Colombia. Instituto de Salud Carlos III, Spain.

**Introduction.** *Legionella* spp. is the causative agent of legionnaires' disease and is transmitted through aerosols emanating from man-made water systems. *Legionella* resistance to water treatments has been related to its association with environmental amoebae such as *Acanthamoeba*. Due to the high presence of this protozoon in Spain and the high rate of notification of legionnaires' disease of this country, the aims of this work were to study the coexistence of these bacteria and protozoa in water as well as their interaction. The usefulness of *Acanthamoeba* co-culture for the isolation of environmental *Legionella* was also studied.

**Materials and methods.** 70 water samples were collected in 2011 from three drinking water treatment plants, three wastewater treatment plants and five natural pools in Spain. The presence of either *Acanthamoeba* or *Legionella* was studied by molecular technique and by culture.

**Results.** *Acanthamoeba* was found by PCR in 87.1% (61/70) samples and, by culture in 85.7% (60/70) samples. *Legionella* was detected by PCR in 58.6% (41/70) of water samples, in 5.7% (4/70) by agar culture and 75.7% (53/70) by *Acanthamoeba* co-culture. From the 54 *Acanthamoeba* water isolates, *Legionella* was detected in 43 of them independently of *Acanthamoeba*'s genotype (t3, t4 and t11). *Legionella* feeleii (human pathogen), *L. birninghamiensis*, *L. gresilensis/berliardensis*, *L. fairfieldensis*, *L. drozanski* and *L. falloni* were identified.

**Conclusions.** It is showed that environmental *Acanthamoeba* is infected by *Legionella* to a high percentage, and due to its ubiquity, high resistance and its pathogenic potential per se, new methods for its elimination should be studied. Also, the high effectivity of *Acanthamoeba* co-culture for *Legionella* detection has been shown.

### TLP-769. Utilidad y eficacia de los tratamientos farmacológicos en *Trichinellosis* en modelo experimental

María Alejandra Moreno G.\*, Francisca Chávez R.\*, Zuleika Quiroz N.\*, Beatriz Adriana Dorado B.\*, José Jesús Muñoz E.\*, Claudia Herminia Maldonado T.\*

\*Universidad Autónoma de Zacatecas, México.

**Introducción.** La *Trichinellosis* es una zoonosis endémica, cosmopolita, sus huéspedes son, rata, cerdo y otros mamíferos entre ellos el hombre. La presencia de *Trichinellosis* se debe a la ingestión de carne de cerdo insuficientemente cocida, afectando a países con bajos recursos económicos. Objetivos: evaluar 4 fármacos: albendazol, ivermectina, quinifamida y rinfampicina en el tratamiento de la *Trichinellosis* en modelo experimental.

**Materiales y métodos.** Se trabajaron seis grupos de ratas long evans de 40 cada uno se infectaron todos los animales al inicio del experimento con 500 li vía oral y se iniciaron los tratamientos al día 1, 7,15 y 30, para el albendazol se utilizó una dosis de 15 mg/kg por 14 días, para la ivermectina de 200 µg/kg se utilizó una y dos dosis, para la rinfampicina 5 mg/kg por 10 días, para la quinifamida 4.5 mg por tres días, el grupo control sin tratamiento. Todos los grupos fueron sangrados a los 15, 30 días y al sacrificio para obtención de suero para la realización de técnicas inmunológicas. Al sacrificio se obtuvo tejido muscular para cuantificación de carga parasitaria por la técnica de digestión artificial y evaluación de viabilidad de li por azul tripano y se incluyeron en formol

para realización de técnica de hematoxilina-eosina para evaluación del implante de la célula nodriza de *T. spiralis*.

**Resultados.** El análisis estadístico se realizó en el programa stargraphics centurion para la rinfampicina un p-value de 0.001 mostrando un nivel de confianza del 99%, para el albendazol un p-value de 0.01 y un nivel del 95.0% de confianza, para ivermectina p-value de 0.05 y un nivel del 90.0% de confianza, y con quinifamida no fue significativo.

**Conclusiones.** El medicamento que presentó una mayor eficacia y utilidad fue la rinfampicina seguido del albendazol, intermedio la ivermectina y no tuvo utilidad la quinifamida.

### TLP-770. Discrimination of six new world *Leishmania* species through the implementation of a high resolution melting (HRM) assay

Carolina Hernández\*, Catalina Álvarez\*, Camila González\*, Martha Ayala\*, Cielo León\*, Juan David Ramírez\*

\*Universidad Del Rosario, Colombia.

**Introduction.** *Leishmaniases* are tropical zoonotic diseases, caused by kinetoplastid parasites from the genus *Leishmania*. New world (NW) species are related to sylvatic cycles although urbanization processes have been reported in some South American countries. This eco-epidemiological complexity imposes a challenge to the detection of circulating parasite species, not only related to human cases but also infecting vectors and reservoirs.

**Materials and methods.** Herein, we conducted a systematic high-resolution melting (HRM) assay targeted to HSP70 and ITS2 genes in order to generate an algorithm that will allow the identification of at least six nw *Leishmania* species. In order to validate the herein described algorithm, we included 25 natural isolates obtained from human cases with cutaneous *Leishmaniasis*, insect vectors and mammals.

**Results.** Our genotyping assay allowed the correct assignment of six nw *Leishmania* species (*L. mexicana*, *L. infantum* (Chagasi), *L. amazonensis*, *L. panamensis*, *L. guyanensis* and *L. braziliensis*) based on reference strains. When the algorithm was applied to a set of well-characterized strains by means of MLEE and monoclonal antibodies (ma) we observed a tailored concordance between the hrn and MLEE/MA (ki= 1.0). Additionally, we tested the limit of detection for the hrn method showing that this is able to detect at least 10 equivalent-parasites per ML.

**Conclusions.** This is a rapid, accurate and reliable method to conduct molecular epidemiology and host-parasite association studies in endemic areas. We hope that findings will support further analysis on the detection of *Leishmania* parasites from human, vector and mammal samples.

### TLP-771. Antitrypanosomal activity of extracellular compounds produced by *Pseudomonas* sp. Lv strain in epimastigotes form of *Trypanosoma cruzi*

César Armando Contreras L.\*, Danielle Kian\*, Angelo de Oliveira C.\*, Admilton Gonçalves de O.\*, Galdino Andrade F.\*, Celso Vataru N.\*, Lucy Megumi Y.\*, Sueli Fumie Yamada O.\*

\*Universidade Estadual de Londrina, Brasil.

**Introduction.** *Trypanosoma cruzi* is the etiologic agent of the Chagas' disease, a neglected illness that affects million people, mainly in Latin America. Current treatment of this disease has toxic effects and limited efficacy, leading to search of new chemotherapeutic agents. The aim of this study was to evaluate the biological activity of extracellular compounds of *Pseudomonas* sp. Lv strain against *T. cruzi*.

**Materials and methods.** The F3D ethyl acetate fraction (F3D-EA) was obtained from the supernatant of 15-day culture of *Pseudomonas* sp. Lv strain. *T. cruzi* epimastigotes in logarithmic growth phase were treated with F3D-EA. (2.5-30 µg/mL). Cells were counted and the results expressed as the concentrations that cause 50% (IC50/72 h) and 90% (IC90/72 h) of growth inhibition. Cell viability was determined by the MTT method using LLCMK2 cells cultured in plates with medium containing F3D-EA (1-2.000 µg/mL). Morphological alterations of F3D-EA-treated epimastigotes were analyzed by scanning electron microscopy.

**Results.** A tripanocidal activity of F3D-EA in epimastigotes was observed after 72 h of treatment and IC50 and IC90 values were 17.5 and 22.5 µg/mL, respectively. No growth was detected when the parasites were

treated with concentrations higher than 30 µg/mL. No cytotoxicity was observed at the highest concentration of the fraction tested (2000 µg/mL), since 81.7% of the cells remain viable after the treatment. Epimastigotes treated with the F3D-EA IC50 presented profound morphological alterations of parasite shape and blebs formation near the basal body region. The IC90 treatment caused decrease in cell length.

**Conclusiones.** Here we reported the trypanocidal activity of compounds obtained from the supernatant of *Pseudomonas* sp. Growth medium in *T. cruzi*. The results highlight the potential of *Pseudomonas* to produce antitrypanosomal compounds and stimulate to move on to the next phases of identification of active molecules.

### TLP-772. Estudio de la variabilidad genética y las fuerzas evolutivas en los loci P12 y P38 de *Plasmodium vivax* a partir de aislados colombianos entre el 2007-2010

Lady Johanna Forero R.\*, Diego Garzón O.\*, Manuel A. Patarroyo\*

\*Fundación Instituto de Inmunología de Colombia (FIDIC).  
Posgrado Interfacultades de Microbiología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá DC, Colombia.

**Introducción.** *Plasmodium vivax* es una de las 5 especies que causa malaria en el ser humano, afectando a cerca de 391 millones de personas anualmente. El desarrollo de una vacuna contra la malaria ha sido propuesto como una de las alternativas para el control de esta enfermedad. Sin embargo, su desarrollo se ha visto obstaculizado por la alta variabilidad genética que exhiben algunos antígenos parasitarios, la cual genera respuestas inmunes alelo-específicas. Por lo tanto, la evaluación de la variabilidad genética de estos antígenos es esencial durante el diseño de una vacuna completamente efectiva. Objetivo: identificar la variabilidad genética y fuerzas evolutivas en los loci P12 y P38 de *Plasmodium vivax* a partir de aislados colombianos.

**Materiales y métodos.** A partir de secuencias de ADN de los genes P12 y P38 de *Plasmodium vivax* (PV12 y PV38) obtenidas de aislados clínicos de Colombia entre los años 2007 a 2010, se evaluó el polimorfismo y la distribución de los haplotipos mediante un análisis de genética de poblaciones. Adicionalmente, se determinaron las fuerzas evolutivas que generan el patrón de variación observado.

**Resultados.** Tanto PV12 como PV38 mostraron tener una baja diversidad genética. El modelo neutral de evolución molecular no pudo ser descartado para PV12, mientras que el polimorfismo en PV38 parece ser mantenido por una selección balanceante, restringida al extremo 5' del gen. Las proteínas codificadas por estos genes parecen tener restricciones funcionales/estructurales debido a la presencia de los dominios S48/45.

**Conclusiones.** Ya que las proteínas P12 y P38 de *Plasmodium* spp. parecen tener un rol durante el reconocimiento de la célula huésped, sumado a las características antigénicas de PV12 y PV38 y la baja variabilidad genética observada en este estudio, estas proteínas podrían ser buenos candidatos para ser evaluados en el diseño de una vacuna multiantígeno/multiestadio.

### TLP-773. Relaciones filogenéticas y análisis de divergencia funcional de la familia multigénica MSP-7 (proteína de superficie del merozoito-7) en *Plasmodium* spp.

Diego Garzón O.\*, Luis Fernando Cadavid\*, Manuel A. Patarroyo\*

\*Fundación Instituto de Inmunología de Colombia (FIDIC). Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud, Univ. Del Rosario, Bogotá, DC, Colombia.

**Introducción.** MSP-7 es una proteína de membrana expresada sobre los merozoitos de *Plasmodium* spp., como parte de un complejo proteico involucrado en la interacción inicial entre el parásito y los eritrocitos. Objetivo: identificar las relaciones evolutivas de la familia MSP-7 en el género *Plasmodium*.

**Materiales y métodos.** Contigs de siete especies de *Plasmodium* fueron analizados con el fin de identificar todos los genes de esta familia multigénica. Análisis filogenéticos fueron realizados para determinar relaciones de ortología, para así estimar el coeficiente de divergencia funcional.

**Resultados.** La búsqueda identificó marcos de lectura abiertos anotados previamente y otros no anotados a la fecha. Se observó un número desigual de genes entre las diferentes especies del linaje *Plasmodium*. Un

análisis filogenético estableció la presencia de al menos dos genes ancestrales e identificó duplicaciones linaje-específicas. La estimación de sustituciones sinónimas (DS) y no sinónimas (DN) mostró un DS más alto que DN, sugiriendo la acción de selección purificante. No se presentaron cambios significativos en la tasa. Mediante el uso de una prueba basada en codones. Estos datos, junto con la evaluación del tipo I de divergencia funcional propuesto por GU, y la comparación de las tasas evolutivas entre genes, sugieren que la familia MSP-7 presenta una redundancia funcional. Finalmente, un análisis para identificar regiones de recombinación indica que estos genes han sufrido este proceso, y tal mecanismo podría ser importante en la aparición de nuevos genes.

**Conclusiones.** La evolución de la familia MSP-7 está dirigida por el modelo denominado nacimiento y muerte de genes, éstos podrían haberse expandido hasta encontrar un óptimo número de copias en las diferentes especies de *Plasmodium*, lo que les permitió adaptarse a diferentes nichos. Adicionalmente, la familia MSP-7 seguiría un modelo de selección diversificante multialélico, donde los parálogos con redundancia funcional incrementarían la evasión de la respuesta inmune por variabilidad antigénica.

### TLP-774. Efecto antagónico del tratamiento en fase intestinal con resiniferatoxina en la infección por *Trichinella spiralis* en modelo de rata Sprague-Dawley

José Luis Muñoz C.\*, María Alejandra Moreno G.\*

\*Universidad Autónoma de Zacatecas, Mexico.

**Introducción.** *Trichinella spiralis* desencadena una respuesta primaria de hipersensibilidad (RPH) a nivel intestinal en el hospedero, la cual juega un papel crucial para la expulsión y eliminación del parásito. En este contexto, el tratamiento ideal para esta RPH son los glucocorticoides. Sin embargo, sus efectos colaterales limitan su uso terapéutico debido a que favorecen la instalación del parásito en el hospedero, de ahí la importancia de investigar moléculas con potencial terapéutico, como lo es la resiniferatoxina (RTX). Se sabe que la RTX ejerce actividad antiinflamatoria en fase intestinal de la infección por *T. spiralis*, disminuyendo los niveles de PGE<sub>2</sub>, TNF-α y NO en suero de rata Sprague-Dawley (SD), acompañada de una reducción de la enteropatía y eosinofilia periférica. El objetivo de nuestro estudio es evaluar si el tratamiento con RTX en fase intestinal coadyuva al hospedero en contra de la infección por *T. spiralis*.

**Materiales y métodos.** Se infectaron las ratas con 500 L1 de *T. spiralis*, después se trató con RTX en fase intestinal. Se evaluó el efecto del tratamiento el día 28 de infección (fase muscular), a través de las técnicas directas: determinación adultos, carga parasitaria y L1 de *T. spiralis*. Tinción hematoxilina-eosina para evaluación de tejido intestinal y muscular; y técnicas indirectas: IDR, MIDD y dot-ELISA para la identificación de anticuerpos contra *T. spiralis*.

**Resultados.** El tratamiento con RTX indujo involución y atrofia de hembras adultas y células nodrizas de *T. spiralis* en la fase intestinal y muscular respectivamente. Así mismo, redujo la implantación y carga parasitaria de manera significativa, con la consecuente producción a la baja del perfil antigénico de *T. spiralis* en ratas SD.

**Conclusiones.** El tratamiento con RTX en fase intestinal ejerce un efecto antagónico en contra de *T. spiralis* coadyuvando al hospedero en contra de la infección.

### TLP-775. Mechanism of action of recombinant defensin of cowpea seeds against *Leishmania amazonensis*

Géssika Silva S.\*, Viviane Veigás Do N.\*, Laís Pessanha C.\*, Edésio José Tenório de M.\*, Julia Miranda F.\*, Júlia Ribeiro S.\*, Valdirene Moreira G.\*, André de Oliveira C.\*

\*Universidade Estadual Do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Brasil.

**Introduction.** Antimicrobial peptides (AMPS) are components of innate immunity of organisms and can be an alternative of current drugs. Plant defensins are small, basic, cysteine-rich AMPS endowed with antimicrobial activity. The aim of this work was to evaluate the biological activity of the recombinant defensin from cowpea seeds and describe some its action mechanism against *Leishmania amazonensis*.

**Materials and methods.** *Escherichiacoli* containing plasmid PET-DEF was grown in TB medium at 37°C for 16 h. After culture reaches an OD600 between 0.5-1, IPTG 1 mM was added and incubated at 27°C for 3 h. Centrifuged cells were sonicated in phosphate buffer saline containing

triton-x 100 1% and inhibitor's cocktail for general use (SIGMA). The supernatant was load in NI-NTA agarose (QIAGEN) to purify the recombinant defensin. This protein was cleaved with enterokinase 0.02 u and applied in reversed-phase c18 column (shimadzu) to final purification. A hundred µg of purified defensin was used to parasite growth inhibitory assay at 28°C at 24 in warren's medium. Viability assays were done using rodamine 123, sytox green and 2',7' diacetate dichlorofluorescein stains according to, thevissen *et al.* (1999) and aerts *et al.* (2007).

**Results.** The recombinant defensin was purified in two chromatographic steps, one in ni-nat agarose and one in reversed-phase c18 column. The parasites were observed in fluorescence microscopy and shown a lower mitochondrial functionality, disrapture of the membrane and the production of reactive oxygen species. Similar results were seen by mango-ni *et al.*, (2005), luque-ortega *et al.*, (2008), kulkarni *et al.*, (2006).

**Conclusions.** *L. amazonensis* treated recombinant defensin shown lost of mitochondrial functionality, membrane damage and ros production, that together with still unidentified mechanisms, caused the parasite's inhibition growth.

### TLP-776. Baja variabilidad genética en el locus que codifica la proteína P41 de *Plasmodium vivax* en la población parasitaria de Colombia

Lady Johanna Forero R.\*, Diego Garzón O.\*, Manuel A. Patarroyo\*

\*Fundación Instituto de Inmunología de Colombia (FIDIC).  
Posgrado Interfacultades de Microbiología,  
Univ. Nacional de Colombia, Bogotá DC, Colombia.

**Introducción.** El desarrollo de la vacuna contra la malaria ha sido obstaculizado por las respuestas inmunes alelo específicas producidas por antígenos parasitarios altamente variables. Por tanto la variabilidad genética de los antígenos parasitarios candidatos a incluir en una vacuna debe ser evaluada para garantizar su efectividad. Las proteínas P12 y P41 de *P. falciparum* se encuentran ubicados en la membrana del parásito formando un complejo proteico, ambas moléculas poseen péptidos de alta capacidad de unión a glóbulo rojo en los dominios S48/45. Los genes que codifican estas proteínas han sido identificadas en *P. vivax*, mostrando características similares a sus ortólogos en *P. falciparum*. El gen P12 en *Plasmodium vivax* (PV12) mostró tener bajo polimorfismo en la población colombiana, mientras que la variabilidad de PV41 no ha sido descrita. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el polimorfismo genético del locus P41 de *P. vivax* (PV41) en la población colombiana.

**Materiales y métodos.** Secuencias de ADN del gen PV41 obtenidas de aislados clínicos Colombianos, fueron utilizadas para caracterizar y estudiar la variabilidad genética y fuerzas evolutivas que han establecido el patrón de variación observado.

**Resultados.** Similar a otros miembros de la familia de proteínas 6-CYS, PV41 mostró tener baja variabilidad genética. La región 3' de PV41 tuvo los valores más altos de diversidad nucleotídica, encontrando varias sustituciones bajo selección positiva. Se identificaron codones seleccionados negativamente en una comparación inter-especies en los dominios S48/45, por lo tanto, P41 parece estar bajo restricción funcional/estructural debido a la presencia de estos dominios.

**Conclusiones.** A pesar de la restricción funcional de los dominios S48/45 de PV41, el sistema inmune parece haber permitido la fijación de sustituciones no-sinónimas como mecanismo de adaptación; la inclusión de los dominios S48/45 de PV41 en una vacuna debe ser cuidadosamente evaluado debido a la presencia de variantes en dichos dominios.

### TLP-777. Efectividad antiparasitaria de derivados de hidroquinolinas C-2 sustituidas. Estudios preliminares de nuevas moléculas con potencial terapéutico contra *Leishmaniasis* y enfermedad de Chagas

Xenon Serrano-Martin\*, Jorge Nuñez-Duran\*, Jacques Leañez\*,  
Daznia Bompant\*, Felipe Sojo\*, Francisco Arvelo\*,  
Vladimir Kouznetsov\*, Yael García-Marchan\*

\*Grupo de Biología y Quimioterapia de Parasitosis Tropicales.  
Área Salud Instituto de Estudios Avanzados-Idea Venezuela.

**Introducción.** Las enfermedades de Chagas y *Leishmaniasis* son 2 de las 6 parasitosis con mayores niveles de mortalidad y morbilidad a ni-

vel mundial. Ambas son tratadas con drogas tóxicas, costosas, y poco efectivas. En la búsqueda de compuestos con mayor efectividad, se sintetizaron 10 nuevas hidroquinolinas C-2 sustituidas, evaluando posteriormente su actividad antiparasitaria contra epimastigotes de *Trypanosoma cruzi*, promastigotes de *Leishmania braziliensis* y sus respectivas células hospederas.

**Materiales y métodos.** Se realizaron ensayos de MTT, con una concentración máxima de 50 µm. Aquellos compuestos con proliferación celular menor al 50% respecto al control, fueron seleccionados y evaluados en células VERO y macrófagos BMDM.

**Resultados.** (1) *T. cruzi*: de los 10 compuestos evaluados, 5 presentaron EC50 ≤ 50 µm y fueron inocuos para las células hospederas (VERO) a concentraciones de 300 µm. Todos ellos más activos que Itraconazole®. El compuesto JS56 presenta una potente actividad tripanocida, con un porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) del 75% y un EC50: 0,5 µm. (2) *L. braziliensis*: 9 de los 10 compuestos presentaron un EC50 < 50 µm, de éstos, 6 fueron más efectivos que la Miltefosine®, sin afectar a su célula hospedera (macrófagos BMDM) a concentraciones de 300 µm. los compuestos JS87 y JS92 presentaron la mayor actividad leishmanicida, con un PIC cerca de 90% y un EC50: 3 µm and 1 µm, respectivamente.

**Conclusiones.** La efectividad antiparasitaria de estos compuestos los hacen excelentes candidatos para llevar adelante estudios más detallados de su mecanimo de acción. Actualmente evaluamos el efecto antiparasitario de los candidatos seleccionados, sobre amastigotes intracelulares y modelos *in vivo*.

### TLP-778. Diagnóstico y tipificación de especies de *Leishmania* spp. empleando PCR en tiempo real acoplada a temperatura media de desnaturalización de alta resolución utilizando el gen de ADNA polimerasa tipo 2

Giovanny Andres Herrera O.\*, Rafael Villarreal J.\*, Carlos Enrique Muskus L.\*, Marcel Marín V.\*, Iván Darío Vélez B.\*

\*Programa de Estudio Y Control de Enfermedades Tropicales PECET.  
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

**Introducción.** La *Leishmaniasis* es una enfermedad causada por parásitos del género leishmania. En Colombia se hallan varias especies y se ha demostrado que no todas responden igual a los tratamientos de elección y algunas presentan resistencia a los tratamientos convencionales, por lo que la tipificación temprana es importante para monitorear la evolución clínica, brindar un tratamiento específico de especie, y evaluar los riesgos epidemiológicos. Actualmente no existe un método que permita diagnosticar e identificar simultáneamente, las especies de leishmania de una manera sensible, específica, rápida y que no se tenga que complementar con otras metodologías. Se busca implementar una metodología que permita la detección e identificación simultánea de parásitos de leishmania en muestras clínicas o de cultivos.

**Materiales y métodos.** Se estandarizó una PCR en tiempo real acoplada a temperaturas de desnaturalización de alta resolución (PCR-HRM), mediante la cual se diagnosticaron y tipificaron muestras clínicas y de cultivos y sus resultados fueron comparados con una PCR-RFLP previamente estandarizada.

**Resultados.** Se obtuvo un 100% de concordancia entre ambas PCR, incluso se lograron diagnosticar y tipificar algunas muestras negativas por PCR-RFLP.

**Conclusiones.** La PCR-hrm es un excelente método para discriminación de especies más prevalentes en Colombia, comparando patrones de melting específicos según la especie de leishmania involucrada.

### TLP-779. *Phytomonas serpens*: aspectos bioquímicos e biológicos da indução da resistência a um inibidor de calpaínas

Simone Santiago Carvalho de O.\*, Cátia Lacerda Sodré\*,  
Diego Souza G.\*, Sérgio Henrique Seabra\*, Rubem Figueiredo  
Sadok Menna B.\*, Cláudia Masini D'ávila-Levy\*, André Luis  
Souza Dos S.\*, Marta Helena Branquinho de Sá\*

\*Universidade Federal Do Rio de Janeiro (UFRJ), Brasil.

**Introdução.** *Phytomonas serpens* é um tripanossomatídeo parasito de tomates que expressa moléculas similares às descritas em tripanosso-



matéios patogênicos. Calpaínas têm sido estudadas como um novo alvo para o desenvolvimento de quimioterápicos. Para compreender as funções destas enzimas, foi selecionada uma população de *P. serpens* resistente ao inibidor de calpaínas MDL28170 NA concentração de 70 µm, pelo cultivo destas células em concentrações crescentes da droga.

**Materiais e métodos.** Efeito do MDL28170 sobre *P. serpens*. Análise da expressão de calpaínas, GP63 e cruzipaina através de citometria de fluxo. Detecção de atividade enzimática utilizando um substrato fluorogênico específico para calpaínas. Análise morfológica e ultraestrutural por meio de microscopia de varredura e eletrônica.

**Resultados.** Uma curva de crescimento das populações selvagem e resistente na presença da droga permitiu calcular um IC50 de 37,03 µm para a população selvagem, e para a resistente de 121,67 µm. A análise por citometria de fluxo mostrou que a população resistente ao MDL28170 marcada com os anticorpos anti-DM calpaína, ANTI-GP63 e anti-cruzipaina apresentou um aumento na expressão de homólogos destas moléculas. Uma grande atividade enzimática foi observada na população selvagem, enquanto que na população resistente nenhuma atividade foi detectada. A análise por microscopia eletrônica de varredura e de transmissão mostrou que não há nenhuma diferença ultraestrutural entre essas duas populações. A análise da população selvagem tratada com o IC50 da droga indicou fortes alterações na sua superfície, bem como em organelas intracelulares, como o complexo de golgi e a mitocôndria.

**Conclusões.** Este estudo tem permitido verificar que há uma alteração no perfil proteico dessas populações, sem alterar a estrutura celular. Pretendemos realizar uma análise por espectrometria de massa dessas das duas populações e assim entender os mecanismos bioquímicos de resistência envolvidos bem como compreender as possíveis funções de calpaínas no parasito.

### TLP-780. Evaluation of the toxicity of protein fractions obtained from seeds of *Bertholetia excelsa* (Brazilian nut) on *Leishmania amazonensis* and study of their mechanism of action

Julia Miranda F.\*, Laís Pessanha C.\*, Viviane Veigás Do N.\*, Edésio José Tenório de Melo\*, Géssika Silva S.\*, Júlia Ribeiro Soares\*, Valdirene Moreira G.\*, André de Oliveira C.\*

\*Universidade Estadual Do Norte Fluminense Darcy Ribeiro Brasil.

**Introduction.** Antimicrobial peptides form an important defense mechanism against pathogens in different organisms. Because of their importance as defense substances, they are suggested as possible active principles of new therapeutic, especially for the treatment of diseases in which the existing treatment is ineffective, such as *Leishmaniasis*. In our work we choose as the source of these peptides the Brazilian nut seeds and to test the antimicrobial activity of the obtained protein fractions, we choose the protozoan *L. amazonensis*. The aim of the work is to evaluate the toxicity of protein fractions obtained from seeds of Brazilian nut on *L. amazonensis* and to study their mechanism of action.

**Materials and methods.** The initial isolation of protein fractions resulted in three fractions and the R2 fraction, which showed higher toxic character on *L. amazonensis*, was selected for purification by C18 column. The obtained fractions were tested on *L. amazonensis*. Synergism assay between obtained fractions were done. The study of the mechanisms of action covered membrane integrity by sytox green and analysis of mitochondrial functionality by rhodamine 123.

**Results.** The R2 fraction showed high toxic character eliminating 100% of the cells of protozoa. When R2 was purified by C18 column new fractions were obtained and H6 and H7 fractions showed toxicity by about 20 to 46% (at 150 µg/mL). As this activity was lower than that one presented by the r2 fraction, these fractions were subjected to synergistic assay inhibited protozoan cell proliferation in 97.7% (at 90 µg/mL), which almost recovered the observed toxicity of the r2 fraction. Both fractions caused membrane permeability and caused changes in mitochondrial function.

**Conclusions.** The R2 fraction has high toxicity, the resulted fractions from C18 column ACT in synergism and the mechanism of action responsible for the activity against *L. amazonensis* involves the membrane permeabilization and mitochondrial disfunction.

### TLP-781. El análisis de la diversidad genética de los loci MSP-7E, MSP-7F y MSP-7L confirma un patrón de polimorfismo heterogéneo de esta familia multigénica en *Plasmodium vivax*

Diego Garzón O.\*, Lady Johanna Forero R.\*, Manuel A. Patarroyo\*

\*Fundación Instituto de Inmunología de Colombia (FIDIC). Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad Del Rosario, Bogotá, Colombia.

**Introducción.** El gen MSP-7 se ha expandido diferencialmente en el género *Plasmodium*, observándose en *P. vivax* el mayor número de copias, varias de las cuales codifican proteínas antigénicas del merozoito. La diversidad genética de 5 miembros de la familia MSP-7 de *P. vivax* (PVMSP-7) ha sido previamente evaluada, mostrando que el polimorfismo de los miembros de MSP-7 difiere considerablemente entre *P. falciparum* y *P. vivax*. Objetivo: caracterizar la diversidad genética de tres miembros de la familia MSP-7 de *P. vivax*.

**Materiales y métodos.** Con el fin de caracterizar y estudiar la diversidad genética de los genes PVMSP-7E, -7F y -7L, se analizaron secuencias de ADN obtenidas a partir de aislados clínicos Colombianos evaluando las señales de selección natural que han influenciado la evolución de estos loci.

**Resultados.** Los resultados muestran que el gen PVMSP-7E es altamente polimórfico, a diferencia de PVMSP-7F y PVMSP-7L quienes mostraron una limitada diversidad genética. El polimorfismo de PVMSP-7E es generado por diferentes tipos de selección positiva, mientras evidencias de selección natural no fueron encontradas en PVMSP-7F y -7L. Aunque estas copias parecían ser duplicaciones especie-específicas, una búsqueda en el genoma de *P. cynomolgi*, (un taxón hermano) mostró que ambas especies comparten todo el repertorio MSP-7. Esto permitió explorar el efecto a largo plazo de la selección natural. Los resultados sugieren que estos genes parecen haber divergido por selección positiva y la región 3' de estos genes podría codificar la región funcional de las proteínas MSP-7.

**Conclusiones.** La región central de PVMSP-7E es altamente polimórfica, sugiriendo que hacia esta región va dirigida la respuesta inmune. El extremo 3' tiende a ser conservado (intra e inter-génico), probablemente porque éste codifica la región funcional de estas proteínas. Dado que el polimorfismo de la familia PFMSP-7 y PVMSP-7 son diferentes, las PVMSP-7S podrían tener un rol más activo que aquellas codificadas en *P. falciparum*.

### TLP-782. Efeitos antiparasitários e mecanismos de ação de novas tiosemicarbazonas e seus derivados tiazolidinonas sobre amastigotas de *Trypanosoma cruzi* in vitro

Laís Pessanha de Carvalho\*, Marco Antônio G.B. Gomes\*, Bárbara S. Rocha\*, Rodrigo R. de Oliveira\*, Edmilson J. Maria\*, Edésio J. T. de Melo\*

\*Universidade Estadual Do Norte Fluminense - Darcy Ribeiro Brasil.

**Introdução.** *Trypanosoma cruzi* é um protozoário parasita intracelular obrigatório causador da doença de Chagas. O parasito invade e replica-se dentro de uma grande variedade de células eucarióticas, até a ruptura das células, liberando tripomastigotas para invadir novas células e estabelecer a infecção. O tratamento da doença consiste no uso das drogas benzonidazol e do nifurtimox, ambas com drásticos efeitos colaterais e indução de resistência pelo parasito. Este estudo teve como objetivo avaliar a atividade antiparasitária de 16 novos compostos das classes tiosemicarbazonas (TSC) e seus derivados 4-tiazolidinonas (TZN) mostrando seu modo de ação em parasitos intracelulares.

**Materiais e métodos.** Células vero foram cultivadas em placas de 24 poços, sobre laminulas estéreis, infectadas com tripomastigotas de *T. cruzi* e incubadas com os compostos por 24 h. Então as células foram fixadas, coradas e contadas no microscópio óptico, usando objetiva 63x. Em culturas tratadas com 1 mm do composto 1 foram preparadas para microscopia de fluorescência e eletrônica de transmissão (MET). Para detecção de compartimentos ácidos foram utilizados o laranja de acridina (LA) de acordo e lysotracker red, lisossomos, assim como o MDC para marcar vacúolos autofágicos.

**Resultados.** Todos os compostos levaram a drástica diminuição da infecção e eliminação dos parasitos em concentrações de 1 mm; e completamente em concentração de 10 mm sem efeitos drásticos sobre as células hospedeiras. A met mostrou que os amastigotas tinham grandes

alterações morfológicas e rupturas, além de estarem dentro de vacúolos delimitados por membranas provavelmente vindas do retículo endoplasmático, formação inicial do vacúolo autofágico. Vacúolos acidícos, lisossomos e autofágicos foram encontrados em células infectadas e tratadas, inclusive contendo o parasita.

**Conclusões.** Todos compostos foram efetivos em diminuir a infecção em concentrações que não atingiam a célula hospedeira, por isto, os efeitos de alguns destes compostos serão estudados mais detalhadamente.

### TLP-783. Optimización del método de evaluación de medicamentos con actividad leishmanicida usando *Leishmania tarentolae* fluorescente en comparación con *Leishmania tarentolae* silvestre

Cindy Tatiana Pineda A.\*, Yesenia Valencia R.\*, Sara María Robledo R.\*, María Fernanda Flórez G.\*, Carol Vanessa Mesa C.\*

\*Pecet, IIM- Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Colombia.

**Introducción.** La *Leishmaniasis* es un problema de salud pública en los países endémicos. La búsqueda de alternativas terapéuticas es una prioridad debido a la alta toxicidad de los medicamentos actuales y la poca adherencia al tratamiento que conlleva a la aparición de resistencia. En la búsqueda de alternativas terapéuticas es necesario generar modelos experimentales *in vitro* que permitan la evaluación de medicamentos de manera efectiva, fácil y segura. Por ello las evaluaciones sobre *Leishmania tarentolae*, una especie no patógena para humanos, representa una alternativa porque su manipulación se puede realizar en laboratorios de baja complejidad, facilitando la evaluación de candidatos a medicamentos. Asociar al genoma de *L. tarentolae* la proteína verde fluorescente (GFP) y comparar *in vitro* el comportamiento de la cepa fluorescente con el de la cepa silvestre en la evaluación y selección de medicamentos con actividad leishmanicida mediante citometría de flujo, microscopía de fluorescencia y fluorometría, en laboratorios que no cuentan con nivel de bioseguridad II para el manejo de modelos patógenos.

**Materiales y métodos.** Se generó la cepa de *L. tarentolae* expresando la GFP a partir de un vector de integración, que sustituye a una copia del *arn 18s* en el cromosoma con la secuencia codificante de GFP mediante recombinación homóloga. La cepa fluorescente y la silvestre se compararon según la curva de crecimiento, perfil de susceptibilidad a los medicamentos leishmanicidas estándar y capacidad infectiva en células U937.

**Resultados.** *L. tarentolae* fluorescente se comportó de manera similar a la cepa silvestre indicando que el constructo no afecta su viabilidad. Con las metodologías empleadas se logró que el constructo sea estable a lo largo del tiempo.

**Conclusiones.** La cepa *L. tarentolae* fluorescente se puede utilizar como modelo de experimentación *in vitro* para laboratorios con cualquier nivel de bioseguridad que se dediquen a la búsqueda de nuevos medicamentos leishmanicidas.

### TLP-784. Differential expression of cruzipain- and GP63-like molecules in the phytoflagellate trypanosomatid *Phytomonas serpens* induced by exogenous proteins

Camila Elias\*, Michel Chagas\*, Ana Luíza Souza-Gonçalves\*, Bernardo Pascarelli\*, Claudia D'ávila-Levy\*, André Santos\*, Marta Branquinho\*

\*Universidade Federal Do Rio de Janeiro Brasil.

**Introduction.** *Phytomonas serpens* synthesizes metallo- and cysteine-proteases that are related to GP63 and cruzipain, respectively, two virulence factors produced by pathogenic trypanosomatids.

**Materials and methods.** Here, we described the cellular distribution of GP63- and cruzipain-like molecules in *P. serpens* through immunocytochemistry and confocal fluorescence microscopy. The differential expression of molecules on the cell surface were assessed through flow cytometry using anti-cruzipain and anti-GP63 antibodies, and the reactivity pattern of secreted proteins from *P. serpens* were shown using ELISA assay.

**Results.** Both proteases were detected in distinct cellular compartments, presenting co-localization in membrane domains and intracellular regions. Subsequently, we showed that exogenous proteins modulated the production of both protease classes, but in different ways. Regar-

ding the metalloprotease, only fetal bovine serum (FBS) influenced the GP63 expression, reducing its surface exposition ( $\approx 30\%$ ). Conversely, the cruzipain-like molecule was differentially modulated according to the proteins: human and bovine albumins, which reduced its expression around 50% and 35%, respectively; mucin and FBS did not alter its production, while IGG and hemoglobin drastically enhanced its surface exposition around 7- and 11-fold, respectively. Additionally, hemoglobin induced an augmentation in the cell-associated cruzipain-like activity in a dose-dependent manner. A 2-fold increase of the secreted cruzipain-like protein was detected after parasite incubation with 1% hemoglobin compared to the parasites incubated in PBS-glucose.

**Conclusions.** The results showed the ability of *P. serpens* in modulating the expression and the activity of proteolytic enzymes after exposition to exogenous proteins, with emphasis in its cruzipain-like molecules.

### TLP-785. Desarrollo, síntesis y evaluación de derivados de ftalacinas contra *Leishmania braziliensis* y *Trypanosoma cruzi*. La superóxido dismutasa como blanco terapéutico

Yael García-Marchan\*, Anamaria Alcalá\*, Johnatan Rodríguez\*, Ángel Romero\*, Simón López\*, Jacques Leañez\*, Jorge Nuñez-Duran\*, Xenon Serrano-Martín\*

\*Grupo de Biología y Quimioterapia de Parasitosis Tropicales. Área Salud Instituto de Estudios Avanzados-Idea. Laboratorio de Química Medicinal Y Heterocíclicos. Departamento de Química. Univ. Simón Bolívar Venezuela.

**Introducción.** Las drogas de primera línea para el tratamiento de enfermedades como Chagas y *Leishmaniasis* presentan una alta toxicidad, baja eficacia y resistencia parasitaria. Es por ello que se realizan esfuerzos por diseñar compuestos que inhiban vías enzimáticas específicas de estos parásitos. Ejemplo de ello son los inhibidores de la superóxido dismutasa (SOD), una de las enzimas responsable de mantener el balance oxidativo de estos parásitos y que representa un blanco terapéutico importante a considerar. Nosotros pretendemos evaluar el efecto antiparasitario de derivados de ftalacinas sobre la viabilidad de promastigotes y epimastigotes de *L. braziliensis* y *T. cruzi*, respectivamente; así como su posible citotoxicidad en sus células hospederas.

**Materiales y métodos.** Luego de diseñar y sintetizar 22 nuevos derivados de ftalacinas, procedimos a evaluar su efecto sobre los parásitos, a través de: a) ensayo preliminar con MTT, y B) construcción de curva de crecimiento y cálculo de EC50, c) ensayo de MTT para células hospederas.

**Resultados.** Se evaluaron 22 nuevos derivados de ftalacinas, sobre la viabilidad de *L. braziliensis*, *T. cruzi* y sus células hospederas. Se demostró que 4 de los 22 compuestos afectan significativamente la viabilidad de promastigotes y epimastigotes, comparando con el fármaco comercial. Se determinaron valores submicromolares de EC50. Estos 4 compuestos resultaron ser ligeramente tóxicos para las células hospederas, sin embargo presentan un índice de selectividad  $\geq 10$ .

**Conclusiones.** De los 22 compuestos evaluados 4 presentaron potencial antiparasitario de ellos, el derivado I18B resultó significativamente efectivo tanto para *L. braziliensis* como para *T. cruzi*, siendo muy poco tóxico para las células hospederas. Estos resultados corroboran un potente efecto sobre la viabilidad de estos parásitos, posiblemente producto de alteraciones a nivel del balance oxidativo. Actualmente, se realizan estudios de actividad enzimática sobre la sod con la finalidad de afinar el mecanismo de acción biológico paralelo a ensayos de actividad sobre amastigotes intracelulares.

### TLP-786. Two differential location of an antigen encoded by TC8.2 gene in *Trypanosoma cruzi*

Danielle Kian\*, César Armando Contreras L.\*, Márcia Regina Machado Dos S.\*, José Franco Da Silveira F.\*, Celso Vataru N.\*, Sueli Fumie Yamada-Ogatta\*, João Santana Da Silva\*, Lucy Megumi Yamauchi\*

\*Universidade Estadual de Londrina Brasil.

**Introduction.** *Trypanosoma cruzi* is a heteroxenous parasite with life cycle alternating between replicative and infective forms. Some genes described in the trypanosomatids have shown unique characteristics, such as differential subcellular compartmentalization of their expression products during parasite life cycle due the addition of the mRNA leader

sequence in different positions, leading a gain or loss of target signals. Objective describe the molecular characterization of *T. cruzi* tc8.2 gene. **Materials and methods.** TC8.2 was isolated from  $\lambda$ Zap *T. cruzi* cADNA, sequenced, expressed in *Escherichiacoli* and the serum against recombinant protein was used to react with protein extracts of *T. cruzi* and immunolocalization of the protein by immunofluorescence and transmission electron microscopy. For characterization of the gene, the sequence was analyzed in tritrypdb database in addition to southern blot and northern blot assays.

**Results.** the serum anti-TC8.2 recognized 70 and 80 kda polypeptides in epimastigotes and trypomastigotes, respectively, as well as demonstrates a differential protein immunolocalization. In the epimastigotes TC8.2 protein is cytoplasmatic, and in trypomastigote we observed in the nucleus and kinetoplast. the genomic organization analysis suggest two gene copies in the *T. cruzi* genome, and the northern blot showed two different sizes of transcripts, in the infective forms, there is a higher transcript than in the replicative forms, despite forms presented the same c-terminal gene.

**Conclusions.** our findings showed that TC8.2 has dual location, however further analysis of the n-terminal sequence should be performed to search for these splice acceptor sites, which could prove the occurrence of alternative splicing of the transcript, since our results indicate that this gene is alternatively transcribed in epimastigote and trypomastigote forms. Additional studies need to be done to determine the role of TC8.2 protein in *T. cruzi*.

### TLP-787. *Trypanosoma cruzi*: efeitos do nelfinavir sobre as formas epimastigotas da cepa Y

Arthur de Azevedo G.\*, Leandro Stefano Sangenito\*,  
Claudia Masini D'ávila-Levy\*, André Luis Souza Dos S.\*,  
Marte Helena Branquinho de S.\*

\*Universidade Federal Do Rio de Janeiro (UFRJ) Brasil.

**Introdução.** O *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas, infecta 8 milhões de pessoas nas Américas, pondo em risco outras 100 milhões. Os medicamentos disponíveis apresentam diversos efeitos colaterais e sua eficácia é contestável. As aspártico peptidases têm sido identificadas em diversas patologias, contudo os únicos inibidores aprovados clinicamente são os utilizados na terapia anti-HIV. Portanto, o objetivo é avaliar o efeito do inibidor da aspártico peptidase do HIV nelfinavir sobre as formas epimastigotas da cepa y do *T. cruzi*.

**Materiais e métodos.** Foi verificado, por contagem em câmara de Neubauer, o efeito de nelfinavir sobre diferentes densidades celulares (105, 106 e 107 parasitos/mL) em concentrações que variavam de 1 a 50  $\mu$ m. Por microscopia óptica, foi observado o efeito do inibidor sobre a morfologia do parasito. O efeito de nelfinavir sobre diferentes aspectos fisiológicos foi também averiguado: metabolismo mitocondrial por MTT; produção de espécies reativas de oxigênio usando diclorofluoresceína; integridade da membrana citoplasmática por incorporação de iodeto de propídeo; e acúmulo de lipídios neutros por Nile red.

**Resultados.** Nelfinavir mostrou-se densidade célula-dependente. Nas densidades de 105 e 106 parasitos, o inibidor reduziu a viabilidade celular nas maiores concentrações, apresentando valores de IC50 foi de 21,2 e 31,9  $\mu$ m, respectivamente. Por microscopia óptica, foram observadas alterações morfológicas, como inchaço do corpo celular, arredondamento e diminuição do tamanho dos parasitos tratados. O inibidor afetou o metabolismo mitocondrial e ocasionou grande estresse oxidativo nos epimastigotas. Danos na membrana celular e o acúmulo de lipídios neutros foram outras alterações comumente observadas.

**Conclusões.** Estes dados demonstram a influência deste inibidor sobre o metabolismo do parasito, abrindo a possibilidade do uso de inibidores da aspártico peptidase do HIV sobre as formas tripomastigotas do *T. cruzi*.

### TLP-788. Biological and geographical distribution of *Trypanosoma cruzi* i genotypes (TCIDOM and sylvatic TCI) in Colombia

Cielo León\*, Carolina Hernández\*,  
Marleny Montilla\*, Juan David Ramírez\*

\*Universidad Del Rosario Colombia.

**Introduction.** *Trypanosoma cruzi* displays a remarkable genetic diversity evinced in six discrete typing units (DTUS). Recently, TCI the genotype

with the broadest geographical distribution has been divided into an enigmatic genotype named tcidom and sylvatic isolates. The aim of this work was to conduct a retrospective detection of tcidom and sylvatic-like isolates across a set of 105 isolates from Colombia, ranging from 1984 to 2012.

**Materials and methods.** We typed 105 strains isolated from humans, *Didelphis marsupialis*, *Canis familiaris*, *Oryzomys*, *Rattus rattus*, *Rhodnius robustus*, *R. colombiensis*, *R. pictipes*, *R. prolixus*, *Triatoma venosa*, *T. dimidiata* and *Panstrongylus geniculatus*. The TCI strains were subjected to TCI genotypes discrimination using specific primers based on SL-IR region. The samples were typed in blind using as reference controls the strains da (TCIDOM) and GC (sylvatic TCI).

**Results.** After analyzing the PCR profiles of the 105 strains studied, we observe that 30% were tcidom and 70% were sylvatic TCI. Regarding humans, 40% were typed as tcidom and 60% as sylvatic TCI. In mammal reservoirs, 99.7% were typed as sylvatic TCI and 0.3% as tcidom. Finally, among the insect vectors we observed 52% typed as TCIDOM and 48% as sylvatic TCI.

**Conclusions.** These findings suggest that despite of the recent description of TCIDOM genotype. This enigmatic near-clade has been circulating across insects and humans in Colombia since 1984. Also, the strict association with vectors and humans imply a host-selection or biological adaptation of this genotype that needs to be further unraveled.

### TLP-789. Molecular diagnosis and characterization of *Giardia duodenalis* in Colombian children suggest the predominance of assemblage B

Juan David Ramírez\*, Ruben Dario Heredia\*, Carolina Hernández\*,  
Ligia Moncada\*, Patricia Reyes\*, Consuelo López\*, Analida Pinilla\*

\*Universidad Del Rosario Colombia.

**Introduction** Giardiasis is a parasitic infection that affects around 200 million people worldwide. This parasite presents a remarkable genetic variability observing 8 genetic clusters named as 'assemblages' (a-h). These assemblages are host restricted and maybe zoonotic observing that a and b infect humans and animals around the globe. The knowledge of the molecular epidemiology of human giardiasis in South-America is scarce and also the usefulness of the molecular diagnosis of this pathogen in fecal samples remains controversial. The aim of this study was to conduct a cross-sectional study to compare the molecular targets employed for the molecular diagnosis of giardia ADNA and to discriminate the parasite assemblages circulating in the population.

**Materials and methods.** We analyzed 181 fecal samples from children at la virgen, cundinamarca, Colombia that were ADNA-extracted and analyzed by ssu rADNA, TPI and gdh LOCI.

**Results.** We observed prevalence by microscopy of 13% and by PCR around 76-80% depending on the molecular marker. Additionally, a lack of statistical concordance between microscopy and PCR was detected. Regarding the genetic assemblages, we observed assemblage a (3%), assemblage B (90%) and mixed infections assemblages a+b (7%). Hence, the sub-assemblages were typed observing AI, All and BIV across the population.

**Conclusions.** This study represents a reliable attempt to understand the molecular epidemiology of giardiasis in Colombia and the use of PCR to detect cryptic infections. The epidemiological implications are herein discussed.

### TLP-790. Detecção e caracterização de peptidases em *Phytomonas* spp.

Erick Vinícius Silva\*, Simone Santiago Carvalho de O.\*,  
Cláudia Masini D'ávila-Levy\*, André Luis Souza Dos S.\*,  
Marta Helena Branquinho de S.\*

\*Universidade Federal Do Rio de Janeiro (UFRJ) Brasil.

**Introdução.** O gênero *Phytomonas* engloba espécies de tripanossomatídeos parasitos de plantas. Moléculas similares às de tripanossomatídeos patogênicos já foram descritas nestes parasitos, como as peptidases. Géis de poliacrilamida contendo um substrato proteico são amplamente utilizados para avaliar a expressão de peptidases. Neste trabalho, objetivamos avaliar a expressão de peptidases em oito espécies de *Phytomonas* (*P. bergamiae*, *P. cathartica*, *P. francaei*, *P. hissipifolia* 81, *P. hissipifolia* 175, *P. macrantha*, *P. pinea* e *P. serpens* 15T).

**Materiais e métodos.** Utilizamos a técnica de SDS-page, tendo gelatina ou caseína incorporada como substrato. Sendo os géis incubados a 28oc ou 37oc, em tampão pH 5,5 ou pH 10,0.

**Resultados.** Utilizando-se gelatina como substrato somente *P. cathartica* não apresentou atividade no extrato celular. Nos géis incubados em pH 5,5 a 28oc, diferentes bandas foram detectadas nas espécies estudadas. Variando a temperatura para 37oc, a atividade do extrato celular de *P. bergamía*, *P. macranta* e *P. serpens* 15T desapareceu, já em *P. francai*, 3 novas bandas foram observadas. Incubando os géis em pH 10,0, tanto a 28oc quanto a 37oc, somente *P. hissoipifolia* 81 e *P. hissoipifolia* 175 apresentaram atividade. Similarmente, o sobrenadante de cultivo dos parasitos apresentou melhor atividade proteolítica em pH 5,5, mas sem influência da temperatura. Para determinar a classe enzimática das peptidases observadas, os géis foram incubados na presença dos inibidores e-64 ou 1,10-fenantrolina, classificando as peptidases detectadas como cisteino ou metalopeptidases. Caseína incorporada ao gel também foi utilizada como substrato. Dados mostram que o pH 5,5 e a temperatura de 37oc são as condições mais adequadas para a detecção das atividades.

**Conclusões.** O estudo de enzimas em microrganismos fitopatogênicos é importante já que disponibilizam ferramentas para o entendimento da patogenia destas espécies em vegetais permitindo o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas.

### TLP-791. Identificação de peptidases expressas pelas espécies de tripanossomatídeos *Wallaceina inconstans* e *Wallaceina brevicula*

Alan Molter\*, Michel Chagas\*, Claudia D'ávila-Levy\*, André Santos\*, Marta Branquinho\*

\*Universidade Federal Do Rio de Janeiro (UFRJ), Brasil.

**Introdução.** As espécies do gênero wallaceina são tripanossomatídeos flagelados monoxênicos isolados de hospedeiros invertebrados pertencentes à ordem hemiptera, que apresentam ao longo do ciclo de vida as formas promastigota e endomastigota. Sabe-se muito pouco a respeito deste gênero e por isso o presente trabalho tem por objetivo investigar a possível presença de peptidases produzidas por *Wallaceina inconstans* e *Wallaceina brevicula*.

**Materiais e métodos.** Para se analisar o perfil proliferativo, as espécies foram cultivadas a 28°C e 37°C em meio warren e as células foram estimadas pela contagem em câmara de Neubauer. E para se analisar o perfil de peptidases expressas pelas duas espécies, extratos celulares totais obtidos de parasitos em diferentes tempos de cultivo foram utilizados em sds-page contendo gelatina incorporada ao gel como substrato.

**Resultados.** As células cultivadas a 28°C atingiram o ápice da fase logarítmica em 48 h. Entretanto, as células cultivadas a 37°C não apresentaram proliferação relevante, observando-se uma morfologia típica de células mortas. Após a corrida, os géis foram incubados em sistemas tampão com diferentes phs: 5,0, 7,0 e 9,0. Ao se analisar os dados, observou-se que os géis incubados em pH 5,0 apresentaram cinco bandas de maior intensidade referentes ao tempo de 48 h, representando o período de maior expressão de peptidases nas duas espécies. Observou-se ainda que nos phs 7 e 9 as cinco bandas se apresentavam com menor intensidade, para ambas as espécies.

**Conclusões.** Portanto, os resultados obtidos indicam uma adaptação destes dois tripanossomatídeos a mesma temperatura e pH encontrados no trato digestivo de insetos da ordem hemiptera, 28°C e pH 5,0, as quais são ideais para proliferação e atividade proteolítica observadas nas espécies estudadas. As próximas etapas do projeto visam identificar as principais famílias de peptidases expressas por esses micro-organismos utilizando-se inibidores proteolíticos clássicos.

### TLP-792. Evaluación de 4 técnicas inmunológicas para detección de anticuerpos anti *Trichinella spiralis* en cerdos de Jerez Zacatecas México

María Alejandra Moreno G.\*, Iván Alejandro Rojero M.\*, José Jesús Muñoz E.\*, Claudia Herminia Maldonado T.\*

\*Universidad Autónoma de Zacatecas, México.

**Introducción.** La oms en 2014 incluyó a *Trichinella spiralis* en la lista de los 10 principales parásitos transmitidos por alimentos, en Zacatecas,

México es una zoonosis endémica desde 1976. Objetivos: evaluar 4 técnicas inmunológicas en la detección de anticuerpos anti-*Trichinella spiralis* en cerdos de Jerez Zacatecas, México.

**Materiales y métodos.** Se trabajó con un modelo experimental, se utilizaron 2 cerdos infectados con 1 Li/g de peso como controles positivos y 2 cerdos como control negativo. En los cuales se evaluaron las técnicas inmunológicas de microinmunodifusión doble (MIDD), dot-ELISA, wester blot (WB) e inmunofluorescencia indirecta (IFI) como modelo de estandarización. Se recolectaron 464 sueros de cerdo de población abierta obtenidos en el municipio de Jerez Zacatecas durante los años 2010-2013 a los cuales se les realizó la técnica de MIDD como tamiz, posteriormente a los positivos se les realizó las técnicas de dot-ELISA, IFI y WB. Para la comparación de sensibilidad de MIDD y dot-ELISA se analizó el 20% de los sueros.

**Resultados.** En el análisis de los 464 sueros de cerdo por la técnica de MIDD se obtuvieron 19 positivos (4.1%). Al realizarles a estos sueros la técnica de dot-ELISA, ifi, wb para confirmar la infección por *T. spiralis* se obtuvo el triplete característico de *T. spiralis* que se encuentra entre 42, 45 y 48 kda en 17 de los 19 sueros. Por la técnica de dot-ELISA se obtuvieron 28 positivos.

**Conclusiones.** Se detectaron 47 sueros positivos, 28 por dot-ELISA y 19 por MIDD, dot-ELISA, IFI y WB, de los cuales 37 corresponden a cerdos de traspatio, lo que indica que la trichinellosis es una parasitosis que a la fecha sigue vigente en el estado de Zacatecas, México.

### TLP-793. Perfil enteroparasitológico de escolares do ensino fundamental do município de Tucuruí/PA

Queila Da Costa Rodrigues Q.\*, Marisa Da Cruz Nascimento M.\*, Mateus Gomes Oliveira M.\*, Jerferson Martins J.\*, Érica Patricia Silva de Almeida\*, Lourival Roland-Junior\*, Cláudio Borba-P.\*

\*Instituto Federal de Educação Ciência E Tecnologia Do Pará Brasil.

**Introdução.** As infecções por parasitas intestinais representam um problema de saúde pública mundial e essas patologias são, principalmente, devidas às condições precárias de saneamento básico e a falta de programas de educação para a saúde para uma grande parte da população. Investigando a problemática, esta pesquisa buscou comparar o perfil enteroparasitológico de crianças assistidas e não assistidas por água tratada da cidade de Tucuruí, estado do Pará.

**Materiais e métodos.** A pesquisa foi realizada em três escolas do município de Tucuruí, no período de agosto de 2013 à maio de 2014. A população amostral constituiu-se de 103 alunos do 1º ao 5º ano do ensino fundamental, na faixa de 6 a 10 anos, sendo que 65 desses alunos eram provenientes de comunidade não atendida por água tratada (população-1) e 38 de comunidade atendida por água tratada (população-2). As amostras foram preparadas pelos métodos direto e hoffman, sendo preparadas 3 lâminas por amostra para cada método, totalizando 618 lâminas analisadas. A análise estatística usou o teste binomial para duas proporções devido o tipo de escala dos dados, realizado no programa estatístico bioestat® 5.0.

**Resultados.** A análise microscópica revelou diferença estatística significativa na prevalência de parasitas entre as subpopulações 1 e 2 (p<0,0001), sendo que, a subpopulação-1 apresentou uma prevalência de 61,5%, enquanto na população-2, apenas 5,2% apresentaram parasita. O parasita mais frequente na população-1 foi o *Escherichia coli lumbricoides*, em 50% das amostras, e na subpopulação-2 a *Entamoeba histolytica* foi a única presente nas amostras.

**Conclusões.** Esses resultados demonstram que a população-1 está mais suscetível a contaminação por parasitas do que a população-2, especialmente geohelmintos, sendo que isto pode ser um problema para os escolares, visto que pode afetar o desempenho acadêmico dos mesmos.

### TLP-794. Sistema ELISA de inhibición una opción para el diagnóstico de *Toxoplasma* en especies de interés veterinario

Angel Antomio Entrena G.\*, Miriam Burón R.\*, Raimundo Cot Iraola\*, Lisset Fonseca G.\*, Otto Cruz S.\*, Dever Felipe Díaz H.\*, Natacha Negrin R.\*, Raiden Grandía G.\*, Jesús Ro\*

\*Centro Nacional Para La Producción de Animales de Laboratorio Otros Países.

**Introducción.** *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), causante de la toxoplasmosis, afecta a mamíferos y aves, es una de las zoonosis reguladas en la

ciencia de los animales de laboratorio. El desarrollo de un sistema inmunozimático de inhibición de un anticuerpo, inespecífico de especie, constituye nuestro objetivo.

**Materiales y métodos.** Se caracterizó un antígeno soluble de *T. gondii* (cepa RH) mediante inmunotransferencia, para lo cual se obtuvo un antisuero de conejo anti *T. gondii*, también usado en el conjugado enzimático. El ELISA fue diseñado bajo el principio de un solo anticuerpo, en su normalización, se evaluaron diferentes concentraciones de antígeno frente a diluciones del conjugado, con tiempos de incubación de muestras y conjugado de 30 minutos y 1 h, tiempo de lectura de 10 a 30 minutos, en la validación, realizada entre los laboratorios del cenp-lab y del instituto de medicina tropical IPK, fueron empleados sistemas comerciales de aglutinación por látex e inmunofluorescencia indirecta, como sistemas de referencia, frente a paneles de muestras de cuatro especies (primates no humanos, ovinos, conejos y perros), caracterizados por los métodos de referencia, para determinar sensibilidad y especificidad analítica y diagnóstica, valor predictivo positivo y negativo, eficiencia e índice Kappa.

**Resultados.** El antígeno evidenció 13 bandas antigénicas, el conjugado anti *T. gondii*, permitió el diagnóstico de anticuerpos en diferentes especies y el tiempo de lectura óptimo fue 15 minutos; la validación demostró: sensibilidad del 99.3%, especificidad de 99.6%, VPP 99.2%, VPN 99.6%, eficiencia del 99.5% e índice Kappa de 0.99%.

**Conclusiones.** Resultados similares a los sistemas de referencia avalan su uso para el diagnóstico.

### TLP-795. *Blastocystis* subtype 3 (allele 34) is associated with urticaria in Argentinean patients

Rodolfo Casero\*, Florencia Mongi\*, Juan David Ramirez\*

\*Universidad Del Rosario, Colombia.

**Introduction.** *Blastocystis* is an enteric protist linked to gastrointestinal and skin disorders. This protozoan exhibits remarkable genetic diversity and multiple subtypes (ST). However, the knowledge of the distribution of sts in South-America is scarce. Therefore, we aimed to determine the *Blastocystis* subtypes circulating in Argentinean patients with urticaria.

**Materials and methods.** To determine the *Blastocystis* sts association with pathologies, fecal samples were submitted to ADNA extraction, PCR, sequencing and st identification according to ADNA barcoding as previously reported.

**Results.** St analyses, revealed ST1 (11%), ST2 (8%), ST3 (78%) and ST6 (2%). No association between *Blastocystis* st and clinical symptomatology was detected ( $p=0.5$ ). *Blastocystis* 18s database retrieved the following alleles: 2 and 4 (ST1), 9 (ST2), 122 (ST6), 134 (ST3) for patients with non-like urticaria symptoms and 34 (ST3) only detected in a cohort of Argentinean patients presenting urticaria.

**Conclusions.** This represents the first report of *Blastocystis* populations/subtypes and urticaria in South-America.

### TLP-796. Prevalência de helmintos em escolares das séries iniciais município de Tucuruí- PA/Brasil

Erika Patricia Silva de A.\*, Mateus Gomes O.\*, Queila Rodrigues\*, Marisa Nascimento\*, Jerferson Martns\*, Samuel Borges\*

\*Instituto Federal de Educação, Ciência E Tecnologia Do Pará/Campus Tucuruí Brasil.

**Introdução.** As infecções por helmintos causam grande morbidade no Brasil, sendo mais comuns nas regiões menos desenvolvidas. Por conta disso, esta pesquisa buscou comparar prevalência de helmintos, de acordo com algumas características epidemiológicas de estudantes do 1º ao 5º ano do ensino fundamental de duas escolas de Tucuruí-PA.

**Materiais e métodos.** A pesquisa foi realizada de abril a dezembro de 2012. Foram analisadas por microscopia 60 amostras fecais dos métodos direto, hofmam e bermam-moraes, sendo preparadas 3 lâminas por amostra para cada método. As variáveis comparadas foram: gênero e faixa etária (6-9 e 10-12). A análise estatística usou o teste não paramétrico binomial para duas proporções devido o tipo de escala dos dados.

**Resultados.** Das amostras analisadas 30% estavam parasitadas. Na comparação por faixa etária houve uma diferença estatística significativa ( $\Delta\%=29$ ;  $p<0,0001$ ) favorável ao grupo de estudantes de 6-9 anos, enquanto, na comparação por gênero não houve diferença estatística

significativa ( $p=0,40$ ). O helminto mais frequente foi o *Escherichia coli lumbricoides*, ( $\Delta\%=18$ ;  $p=0,02$ ), seguido por ancilostomídeos ( $\Delta\%=24$ ;  $p=0,003$ ) e em menor proporção pelo enterobius vermiculares ( $\Delta\%=52$ ;  $p<0,0001$ ), *Trichuris trichiura* ( $\Delta\%=54$ ;  $p<0,0001$ ), *Fasciola* ( $\Delta\%=58$ ;  $p<0,0001$ ) e *Hymenolepis* ( $\Delta\%=58$ ;  $p<0,0001$ ).

**Conclusões.** Foi ainda constatada a presença do protozoário entamoeba ssp. Os resultados mostram que as infecções por enteroparasitos constituem um problema para os escolares pesquisados, podendo-lhes diminuir o desempenho escolar.

### TLP-797. Prevalencia de *Blastocystis* sp. en niños y niñas de un municipio de Colombia en el 2012

Beatriz Giraldo\*, Daniel Eduardo Henao N.\*

\*Fundación Universitaria Autónoma de Las Américas Colombia.

**Introducción.** *Blastocystis* sp., protozoario cosmopolita emergente, reemergente, transmitido por fecalismo, se relaciona con deficientes condiciones de saneamiento, hacinamiento y mala nutrición. Estudios de prevalencia e incidencia mundialmente discuten su verdadero papel patógeno con relación al crecimiento de los niños y su presencia cuyos resultados comprueban asociación significativa entre peso y talla baja en niños con blastocystosis. *Giardia lamblia* primero en frecuencia de parásitos en niños, en muchos estudios no se investigaba la presencia de *Blastocystis* o se mencionaba como comensal del tubo digestivo. Actualmente, se observa una transición parasitaria y ocupa el primer lugar en frecuencia y se asocia con sintomatología aguda y crónica, síndrome del intestino irritable, enfermedad intestinal inflamatoria y diarrea crónica. Este trabajo determina la prevalencia de *Blastocystis* que afecta algunos niños menores de 10 años adscritos a controles de crecimiento y desarrollo en dos comunidades del municipio de dosquebradas, abordadas en las prácticas académicas de la Fundación Universitaria Autónoma de las Américas.

**Materiales y métodos.** Se recolectaron 258 muestras de heces, con previo consentimiento y asentimiento informado por parte de los padres de familia y los niños. Las muestras fueron sometidas a análisis microscópico utilizando la técnica de Ritchie o centrifugación con formol-éter.

**Resultados.** Los parásitos con potencial patógeno tuvieron las siguientes prevalencias: *Blastocystis* sp. 16,7%, seguido del complejo *Entamoeba histolytica/dispar* 8,9% y *Giardia lamblia* 7%. Los resultados obtenidos en el estudio señalan una prevalencia *Blastocystis* 16,7%. En América Latina este agente, destaca una prevalencia creciente y emergente.

**Conclusiones.** En esta transición es importante considerar las adaptaciones a realizarse en servicios de salud; los médicos clínicos incluir la blastocystosis dentro de las patologías digestivas, enfatizar en técnicas de identificación y autoridades incluirla en programas de control.

### TLP-798. Prevalência de *Escherichia coli lumbricoides* em escolares das séries iniciais município de Tucuruí

Marisa Da Cruz Nascimento\*, Queila Da Costa R.\*, Mateus Gomes Oliveira\*, Erika Patricia de Almeida\*, Jerferson Martins\*, Lourival Roland\*, Samuel Da Luz Borges\*

\*Instituto de Educação, Ciência E Tecnologia Do Pará-Campus Tucuruí Brasil.

**Introdução.** A infecção por *Escherichia coli lumbricoides* tem sido apontada como a mais prevalente em várias regiões do Brasil. O ovo desse helminto é muito resistente e possui grande capacidade de aderência a superfícies, o que representa um fator importante para a transmissão e contágio. Considerando a problemática, esta pesquisa buscou descrever a prevalência desse helminto em estudantes das séries iniciais do ensino fundamental do município de Tucuruí, no nordeste do Pará.

**Materiais e métodos.** A pesquisa foi realizada de abril a dezembro de 2012 com 60 escolares. As amostras fecais foram analisadas pelos métodos direto, hofmam e bermam-moraes, sendo preparadas 3 lâminas para cada amostra e para cada um desses métodos, totalizando 540 lâminas. Foi comparada a prevalência desse helminto por gênero e faixa etária (6-9 e 10-12) do estudante. A análise estatística foi feita pelo teste binomial de fisher.

**Resultados.** A análise microscópica revelou que 35% das amostras estavam contaminadas com *A. lumbricoides*. Na comparação por gênero não foi encontrada diferenças estatisticamente significativas ( $\Delta\%=7$ ;  $p=0,52$ ), enquanto a comparação por faixa etária demonstrou

diferenças significativas ( $\Delta\%=13$ ;  $p=0,03$ ) favoráveis ao grupo de 6 a 9 anos. Além dos *Escherichia coli lumbricoides*, outros grupos de helmintos foram identificados nas amostras fecais, destacando-se os ancilostomídeos. Também foram identificados protozoários com capacidade patogênica.

**Conclusões.** Assim, a faixa etária de 06 a 09 anos mostrou-se mais vulnerável a infecção por *A. lumbricoides*.

### TLP-799. Parasitosis intestinal en escolares urbanos quiteños

Wilmer Tarupi\*, Jaime Silva\*, Luis Darquea\*

\*Universidad Tecnológica Equinoccial Ecuador.

**Introducción.** Las parasitosis intestinales representan un problema de salud pública ya que constituyen una causa importante de morbilidad y mortalidad especialmente para la población infantil y escolar. El presente estudio determinó la prevalencia de parasitosis intestinal en escolares urbanos del distrito metropolitano de Quito (DMQ).

**Materiales y métodos.** Durante el año 2013, se seleccionó aleatoriamente a 406 niñas y niños de entre 5 y 12 años de edad en 5 instituciones de educación básica públicas y 5 privadas. A cada participante se le realizó un examen coproparasitario directo y concentrado y se le aplicó una encuesta socioeconómica. En el análisis se valoró la asociación entre parasitosis intestinal y condicionantes socioeconómicos a través de regresión logística.

**Resultados.** La prevalencia de infestación parasitaria fue de 29.3 %, de los cuales 12.3 % corresponde a parásitos patógenos. Dentro de los parásitos patógenos identificados, *Entamoeba histolytica* representa el 70.1 %; *Giardia lamblia* el 12.9 %; e *Hymenolepis nana* el 5.6 %. La prevalencia de parasitosis intestinal disminuye conforme aumenta la edad y el nivel de instrucción de los padres.

**Conclusiones.** La prevalencia aquí reportada es inferior a aquella publicada en otros estudios nacionales y Latinoamericanos con similares metodologías. Es necesario evaluar el impacto de los programas de desparasitación en instituciones educativas para poder atribuir estos resultados a la mejoría de la salud urbana en el DMQ.

### TLP-800. Parasitoses intestinais em escolares da rede pública e privada da cidade de viçosa, Alagoas- Nordeste do Brasil

Elizabeth Simões Do Amaral A.\*, Jarbas Macena de Oliveira J.\*, Jânio Pereira Da S.\*, Beatriz Maria de Almeida B.\*, Artur Bibiano de Vasconcelos\*, Juliana Carla Cavalcanti M.\*

\*Universidade Federal de Alagoas Brasil.

**Introdução.** As parasitoses intestinais possuem uma ampla distribuição mundial, e estão presentes principalmente em países em desenvolvimento, sendo bioindicadores socioambientais de índices como a educação sanitária e o saneamento básico. Este trabalho estimou a frequência de parasitoses intestinais em escolares da cidade de viçosa no estado de alagoas, através de exames coproparasitológicos e análise de inquérito epidemiológico.

**Materiais e métodos.** Foram realizados 50 exames parasitológicos em amostras provenientes de crianças com idade entre 9-14 anos que cursavam o ensino fundamental em 3 escolas de viçosa- al, Brasil. As amostras foram recebidas mediante assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) e o preenchimento de um questionário epidemiológico e foram classificadas qualitativamente como positivas ou negativas segundo a presença/ausência de ovos, larvas, cistos e/ou trofozoítos.

**Resultados.** Encontraram-se positividade em 48% das amostras. O sexo que apresentou maior parasitismo foi o feminino com 54,16% das amostras positivas. A faixa etária das crianças entre 10-11 anos foi a mais afetada e apresentou 79,1% das amostras com ovos ou cistos. Entre os parasitas encontrados, o helminto *Escherichia coli lumbricoides* foi o de maior frequência (37%), enquanto o protozoário mais encontrado foi a *entamoebacoli* em 54,16% das amostras. As escolas públicas apresentaram 83,3% das amostras positivas, enquanto que 16,6% eram provenientes das particulares.

**Conclusões.** Os resultados estão relacionados ao baixo índice de escolaridade e às deficiências sanitárias do país. Os resultados encontrados

alertam para a adoção de medidas sanitárias associadas a ações educativas que levem as pessoas a adquirirem conhecimento para prevenir as parasitoses.

### TLP-801. Captura a distancia de hematies por *Entamoeba histolytica* similares a NETs

Rito Zerpa L.\*, Elsa Ore B.\*, Edgar Gonzales E.\*

\*Instituto Nacional de Salud Del Niño / UNMSM Perú.

**Introducción.** *Entamoeba histolytica*, agente de amebosis (amebiasis) no ha sido reportado en su capacidad de atrapar hematíes a distancia para luego fagocitarlos; algo similar ha sido observado en leucocitos con capacidad de atrapar bacterias a distancia, conocidas como nets y fagocitarlas. Objetivos: presentar evidencias mediante videos, de la capacidad de *Entamoeba histolytica* para atrapar hematíes a distancia.

**Materiales y métodos.** Se trabajó con cepa de *Entamoeba histolytica* (con capacidad de fagocitar hematíes), en cultivo en el medio de pavlova modificado al que se agregó suspensión de hematíes e incubado a 35°C y realizándose lecturas en examen en montaje húmedo a la 1,2, y 4 h, registrándose las imágenes en microfotografías y videos.

**Resultados.** Al examen directo de las muestras en montaje húmedo, se observó a trofozoitos de *E. histolytica* atrayendo a hematíes, 1, 4 ó más hematíes a un polo para fagocitar a éstos y la resistencia de algunos hematíes para ser atraídos por el parásito, los cuales han sido registrados mediante videos. Las imágenes muestran la capacidad de *E. histolytica* de atrapar hematíes posiblemente por enlaces proteicos elásticos.

**Conclusiones.** Se presentan evidencias de captura de hematíes a distancia por trofozoitos de *E. histolytica*.

### TLP-802. Pesquisa de malária em comunidades ribeirinhas localizadas à montante de um reservatório da Amazônia Ocidental: UHE-Tucuruí-PA

Lourival Roland\*, Mateus Oliveira\*, Jeferson Martins\*, Ronaldo Borges\*, Samuel Borges\*

\*Instituto Federal Do Pará Brasil.

**Introdução.** A malária é a doença parasitária mais impactante em todo planeta. Segundo estimativas da oms, ocorreram cerca de 219 milhões de novos casos da doença em 2012 e 627 mil mortes decorrentes deles. A grande morbi-mortalidade associadas a essa doença são sentidas, principalmente, em áreas tropicais e subtropicais, umidade e índice pluviométrico, contribuem sobremaneira para proliferação das larvas do vetor. Entre tantas medidas utilizadas como profilaxia em grande escala contra essa patologia, o governo Brasileiro passou a distribuir e instalar mosquiteiros impregnados com inseticidas de longa duração. Por conta disso, este trabalho buscou determinar a prevalência da malária em comunidades que receberam e utilizam esses mosquiteiros.

**Materiais e métodos.** A pesquisa foi realizada no mês de outubro de 2013 nas comunidades água fria, ouro verde e rio jordão, no município de Tucuruí-PA. Foram colhidas por punção capilar digital e montadas em gota espessa em lâminas de vidro, amostras sanguíneas de 177 indivíduos de ambos os sexos e todas as faixas etárias dessas duas comunidades. Essas amostras, depois de identificadas, foram levadas ao laboratório de biociências e comportamento do campus Tucuruí-IFPA, onde foram coradas pelo método de walker e analisadas por microscopia óptica, para diagnóstico de espécies de *Plasmodium*.

**Resultados.** Das 177 lâminas analisadas, 87 eram de amostras sanguíneas de pessoas do sexo masculino e 90, do sexo feminino. Os resultados da pesquisa microscópica não revelaram nenhum caso de malária na população estudada.

**Conclusões.** Esse resultado revela boa capacidade protetiva desses mosquiteiros, haja vista que em períodos anteriores à distribuição e instalação dos mesmos, essas comunidades apresentavam casos da doença, segundo os relatórios do sivep-malária para os anos de 2011 e 2012. Os dados produzidos permitem, ainda, um bom grau de comparação para trabalhos futuros sobre o comportamento dessa doença e da funcionalidade do equipamento impregnado com inseticida, aqui e em outras regiões.

### TLP-803. Prevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en donantes de sangre en Tabasco, México

Leova Pacheco\*, Fernando Beltran\*, Juana Ortiz A.\*, Cesar Mirabal\*

\*Univ. Juárez Autónoma de Tabasco, Secretaría de Salud México.

**Introducción.** La enfermedad de Chagas causada por el parásito flagelado *T. cruzi* es endémica en las zonas sur y oriente de México. La transmisión natural es por la inoculación de las deyecciones en las heridas causadas por la picadura de triatomidos de diversas especies, de manera vertical durante el embarazo y al administrar sangre mediante transfusiones. En México la norma oficial mexicana 003-SSA2-1993, indica que todos los donadores de sangre deben ser analizados para la presencia de anticuerpos contra este parásito.

**Materiales y métodos.** Se realizó un estudio retrospectivo de los años de 2012 y 2013 de todos los donantes de sangre en ambos bancos a los que se les determinó la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* por el método de ELISA, así como datos de origen, sexo y edad a partir de los registros archivados.

**Resultados.** La prevalencia general fue de 2.7% sin diferencias significativas entre ambos bancos siendo más prevalente en hombres (71%), entre 26 y 55 años y el municipio de centro fue el que aportó el mayor número de casos.

**Conclusiones.** Esta parasitosis puede pasar desapercibida pues los pacientes habían negado sintomatología asociada, la mayoría no era del área rural por lo que debe seguir vigilándose. Aunque la prevalencia es de menos del 2.7% es el doble de la reportada en otras entidades del país en población abierta.

### TLP-804. Prevalencia de parasitosis, y su efecto como factor modificador de la respuesta cardiovascular ante el ejercicio físico en niños de una escuela en el centro de Quito

María de los Angeles Costta M.\*, Leonardo Javier Beltran G.\*, Diana Jaqueline Vaca Ll.\*, David Santiago García G.\*, Ana Lucía Ruano N.\*

\*Facultad de Ciencias Médicas Universidad Central Del Ecuador, Instituto Nacional de Investigación En Salud Pública Ecuador.

**Introducción.** La prevalencia de parasitosis en el Ecuador es alta, se conoce que las parasitosis afectan el desarrollo infantil, y condicionan alteraciones en la actividad física. Objetivo: determinar la prevalencia de parasitosis y su efecto en la respuesta cardiovascular al ejercicio físico en niños de una escuela del centro de Quito.

**Materiales y métodos.** Para valorar la prevalencia de parasitosis en los niños se realizó estudio parasitológico en heces mediante test de Baerman, Kato-Katz y análisis microscópico simple, además se obtuvieron muestras de sangre para realización de conteo de fórmula leucocitaria. La respuesta cardiovascular se valoró mediante la medición de tensión arterial y frecuencia cardíaca, antes y después de la realización del test de Leger.

**Resultados.** El 50% de la población estudiada se hallaba infectada por algún tipo de parásito, el 40% de la población se hallaba poliparasitada, el parásito con mayor prevalencia fue *A. lumbricoides*. Existe un aumento estadísticamente significativo ( $p < 0.001$ ) en la frecuencia cardíaca tras la realización del ejercicio físico en niños parasitados en relación con no parasitados, la misma relación se demostró en la tensión arterial media.

**Conclusiones.** La parasitosis es una enfermedad de alta prevalencia en el Ecuador, en este estudio se determina que existe una alteración en el patrón de respuesta fisiológica ante el ejercicio físico en niños parasitados, por lo que se recomienda la realización de nuevos estudios, que permitan comprobar la validez de este hallazgo.

### TLP-805. Fluctuación temporal de la infección natural con diferentes genotipos de *Trypanosoma cruzi* en el reservorio *Octodon degus*

Gemma Rojo\*, Alejandra Sandoval\*, Carezza Botto\*, Sylvia Ortiz\*, Pedro E. Cattán\*, Aldo Solari\*

\*Universidad de Chile.

**Introducción.** La enfermedad de Chagas es causada por *Trypanosoma cruzi*. En el ciclo silvestre de esta enfermedad, los reservorios son prin-

cipalmente mamíferos de vida libre manteniendo la infección. En este estudio se utilizó sangre periférica de un roedor reservorio denominado *Octodon degus* para caracterizar la infección.

**Materiales y métodos.** La enfermedad de Chagas es causada por *Trypanosoma cruzi*. En el ciclo silvestre de esta enfermedad, los reservorios son principalmente mamíferos de vida libre manteniendo la infección. En este estudio se utilizó sangre periférica de un roedor reservorio denominado *Octodon degus*.

**Resultados.** Al 1º análisis de las heces (día 40) se detectó la presencia de los 4 genotipos e infección mixta en un individuo. En el 2º análisis (día 80) 2 linajes desaparecen (TCII y TCV) y no se presentó ninguna infección mixta. En el caso del 3º análisis (día 120), el linaje tcv vuelve a ser detectado mientras que TCI y TCVI se mantuvo. En este último ensayo aparecen un mayor número de infecciones mixtas en relación a los 2 primeros análisis.

**Conclusiones.** Se reconoció infecciones con los 4 genotipos a lo largo del seguimiento completo, detectando más frecuentemente los genotipos TCI y TCVI. En lo que respecta al rol de los vectores, se evidenció que *M. gajardoi* detectó un mayor número de genotipos y además se demostró el mayor número de infecciones mixtas, en comparación con *T. infestans*.

### TLP-806. Detection of norovirus recombinant strains isolated from acute gastroenteritis cases in Brazil

Tulio Fumian\*, Rejane Alves\*, Matheus Assis\*, Monica Simoes\*, Juliana Andrade\*, José Paulo Leite\*, Marize Miagostovich\*

\*Laboratório de Virologia Comparada E Ambiental, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz. Brasil.

**Introduction.** Norovirus (NOV), a major cause of acute gastroenteritis (AGE) outbreaks worldwide, are constantly evolving. This ability is reflected in the speed and efficiency with which these viruses spread and remain in human population. The present study aimed to investigate the presence of recombination events – one of the main driving forces that shapes NOV evolution – among different genotypes in Brazil.

**Materials and methods.** Fecal samples were tested using primers targeting region B (ORF1) and region d (ORF2) of NOV genome by using specific primers. Samples yielding positive results with both methodologies were subjected to investigate the possibility of a recombination event, and ORF1/2 junction region was amplified with primers mon 431/432 and G2SKR. Amplicons obtained were purified and sequenced using the big dye terminator reaction Kit® and an abi prism 3130xl ADNA sequencer. Assignment of the strain to specific NOV genotypes was made according to the noronet (<http://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool>) and the phylogenetic analysis was performed using mega version 5.05.

**Results.** In total, we analyzed 37 samples, and found recombination events in 19 (51%) of these. We detected eight different combinations of NOV recombinant genotypes, being: GII.PE/GII.4 (n=12); gii.p7/gii.6 (n=7); gii.p7/gii.14 (n=1); gii.pe/gii.17 (n=2); gii.p13/gii.17 (n=1); gii.p21/gii.3 (n=1); gii.pg/gii.12 (n=5); gii.p16/gii.3 (n=2). These results were confirmed by phylogenetic and simplot analysis with references strains, and identified the breakpoint located near the ORF1/2 overlap.

**Conclusions.** Our study revealed a high circulation of NOV recombinant strains in Brazil, revealing that this type of event is not uncommon among divergent genotypes. In addition, we highlight the importance of this mechanism for successfully NOV maintenance and spread in human population. To our knowledge, this is the first description of a large study concerning NOV recombination from cases of AGE in Brazil.

### TLP-807. Caracterización molecular de los virus influenza A y B en Cuba durante dos años consecutivos

Pedro Kourí C.\*, Alexander Piñón\*

\*Instituto de Medicina Tropical.

**Introducción.** En Cuba, la influenza junto a la neumonía constituye la cuarta causa de muerte entre todas las posibles y la primera entre las enfermedades infecciosas. El presente trabajo contribuye a un mejor entendimiento de los virus influenza circulantes en Cuba, país subtropical localizado en el área del Caribe. El objetivo de este trabajo fue determinar la circulación y caracterizar molecularmente los virus influenza en Cuba. Entre los meses de enero/2012 y diciembre/2013, el centro nacional de influenza de Cuba recibió 7783 muestras clínicas proceden-

tes de individuos con enfermedad tipo influenza, infección respiratoria aguda grave y de casos fatales.

**Materiales y métodos.** La detección de los virus influenza A y B se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real múltiple. La secuenciación nucleotídica de la región HA1 de la ha de los virus influenza se realizó directamente a partir de las muestras clínicas positivas. Las distancias genéticas se calcularon utilizando el programa mega v.6. los árboles filogenéticos se construyeron utilizando el programa el programa Mr. Bayes v.3.1.2. Los sitios potenciales de N-glicosilación se identificaron con la herramienta en línea netnglyc server 1.0.

**Resultados.** De las 1335 muestras positivas a los virus influenza, el 48% fue positiva a los virus influenza A(H1N1)pdm09, el 31% a los virus influenza B y el 21% a los virus influenza A(H3N2). El año 2012 se caracterizó por una circulación baja del subtipo A(H3N2), con 23 detecciones. Las secuencias nucleotídicas obtenidas se ubicaron en el grupo genético 6. Durante el año 2013 la circulación del subtipo A(H3N2) fue la mayor, y se localizaron en el grupo genético 3c (3c.2 y 3c.3), relacionadas con la cepa de la vacuna perteneciente al linaje a/texas/50/2012. La circulación del virus influenza A(H1N1)pdm09 fue la mayor en el año 2013 (26,2%) respecto al año 2012 (8,3%). Las secuencias estudiadas se distribuyeron en tres grupos genéticos diferentes: las secuencias del año 2012 se ubicaron en el grupo 7, las secuencias de enero del año 2013 se ubicaron en el grupo 7 fundamentalmente y una de ellas en el grupo 6c junto a las de mayo de 2013, las últimas secuencias (noviembre/2013) se ubicaron en el grupo 6b. los virus influenza B se detectaron durante los dos años de estudio, caracterizados por la circulación del linaje B/victoria en el 2012 (20.5%) y el linaje B/yamagata en el 2013 (7.4%). Las secuencias del linaje B/victoria se agruparon con la cepa de la vacuna B/brisbane/60/2008, mientras que las del linaje B/yamagata se ubicaron en el grupo 2 representado por la cepa B/massachusetts/02/2012 de la vacuna.

**Conclusiones.** El estudio permitió concluir que circularon diferentes variantes genéticas de los virus influenza A y B en Cuba, sin embargo, se necesitan estudios de caracterización antigénica para determinar si las mutaciones que las definen representan derivas antigénicas de importancia que pudieran contribuir a la evasión del sistema inmune y/o afectar la efectividad de la vacunación anti-influenza.

### TLP-808. The use of the green fluorescent protein (GFP) as a selective marker on MVA-vectored vaccines is safe and does not alter basic immuno-physiological status upon immunization of mice

Danielle Soares de Oliveira D.\*n, Fabiana Magalhães C.\*,  
Tânia Mara Gomes de P.\*, Flávio Guimaraes Da F.\*

\*Federal University Of Minas Gerais Brasil.

**Introduction.** Recombinant viruses represent a promising strategy for new vaccine development and/or improvement of existing vaccines. Members of the poxviridae family - with emphasis on the modified vaccinia virus ankara (MVA), are some of the most coveted viruses to be used as a vaccine platform. Due to low generation of visible cytopathic effect by MVA, it is pertinent to use selection markers in order to identify recombinants. The green fluorescent protein (GFP) is one of the most used genetic markers in many areas of scientific research. Here we described the construction of a recombinant MVA vector expressing GFP and its evaluation upon immunization in mice.

**Materials and methods.** The recombinant MVA vector was constructed through homologous recombination in MVA-infected cells transfected with a PLW44 shuttle plasmid which contains the GFP cADNA as a selective genetic marker. The homologous recombination between MVA and plw44 was carried out in chicken embryo fibroblastic cells (cef's); the recombinant MVA-GFP progeny was selected with the aid of GFP expression, amplified and titrated on cef's cells.

**Results.** Neutrophil recruitment was confirmed by the cell count with differences between the vaccinated and unvaccinated animals. there was a trend of increased recruitment of neutrophils in the acute infection period, followed by a gradual decrease within 72 h. The presence of GFP does not appear to alter the characteristic inflammatory profiles of the viral vector when we compared animals vaccinated with MVA-GFP vector or WTMVA. Besides, there is no evidence of hepatotoxicity related to the vector containing the gene for GFP protein or the wild type vector.

**Conclusions.** The vaccine platform was stable when used in living systems without significant changes in basic inflammatory and/or physiolo-

gical parameters, a fact that highlights the safety of the vector and the use of GFP as a genetic marker in such systems.

### TLP-809. A porcine circovirus type II vaccine based on the modified vaccinia virus ankara platform expressing the capsid protein

Danielle Soares de Oliveira D.\*,  
Tânia Mara Gomes de P.\*, Flávio Guimaraes Da F.\*

\*Federal University Of Minas Gerais, Brasil.

**Introduction.** Infections by the porcine circovirus type 2 (PCV 2) and the development of porcine circovirus associated diseases (PCVAD) are considered as major problems in the global pork industry. Despite the current existence of a few commercial vaccines against PCV 2, new improved immunogens presenting higher immunogenic standards and better costs are welcome. This study shows the construction of a new MVA-based recombinant viral vector expressing the capsid protein (CAP) of porcine circovirus type II (PCV 2).

**Materials and methods.** The recombinant MVA vector was constructed through homologous recombination in MVA-infected cells transfected with a PLW44 shuttle plasmid which contains the PCV 2 cap cADNA and the coding sequence for GFP as a selective genetic marker. The homologous recombination between MVA and plw44 was carried out in chicken embryo fibroblastic cells (cef's); the recombinant MVA-CAP progeny was selected with the aid of GFP expression, amplified and titrated on cef's cells. The resulting recombinant vector was used for pre-clinical immunogenicity studies in mice.

**Results.** Upon immunization, humoral immune responses were evaluated by ELISA and demonstrated the generation of high titers of anti-PCV2 antibodies.

**Conclusions.** Our results have confirmed the immunogenic effectiveness of the recombinant vectored vaccine and prompted the development of clinical trial studies in pigs. This work was supported by hertape-calier Ltda.

### TLP-810. Official reports of hospitalization by ADD x detection of enteric viruses in Juiz de Fora, MG, from 2006 to 2011

Andrêssa Silvino Ferreira A.\*, Daniel Almeida V.\*,  
Maria Luzia Rosa E. Silva\*

\*Universidade Federal de Juiz de Fora Brasil.

**Introduction.** Acute diarrheal disease (ADD) affects millions of children worldwide often requiring hospitalization. Despite that, usually the etiological agent is not identified. Among the viral pathogens involved stand out the group a rotavirus (GARV), norovirus (NOV), adenovirus (ADV) and astrovirus (ASTV), some of them associated with high morbidity and mortality, especially in developing countries. The purpose of this study was to investigate the presence of these viruses in ADD cases, aiming to verify their putative contribution in the official report of infantile hospitalization by ADD in juiz de fora, mg.

**Materials and methods.** From January 2006 to December 2011, 524 diarrheal fecal samples were obtained from children under 5 years old. Detection of viruses was realized by PCR and rt-PCR. The rates of hospitalization for ADD were obtained from ministry of health's hospitalization data system.

**Results.** It was observed that 136 (25.9%) fecal samples were positive at least for one of the enteric viruses tested. The prevalence of these viruses in single infections was: NOV (33.8%), ADV (32.4%), GARV (28.7%) and astv (5.1%). Co-infection was observed in 18 fecal samples involving two viruses, mainly ADV-GARV (33.4%), ADV-NOV (22.3%) and NOV-GARV (22.3%) and three viruses, such as GARV-ASTV-NOV and GARV-ASTV-ADV (5.5%). The comparison of viral prevalence data with official report showed an important reduction in the number of hospitalization between 2006 and 2007 coinciding with the decrease of GARV prevalence, shortly after the introduction of the rotarix® vaccine. On the other hand, was observed a trend of increase from 2008 to 2011 associated with an important increment in prevalence of nov and adv infections, probably indicating more severe cases of ADD caused by these viruses.

**Conclusions.** Altogether these results suggest an important contribution of nov, GARV and adv in cases of hospitalization by ADD.



### TLP-811. Prevalencia de norovirus, astrovirus y coinfección parasitaria en muestras materia fecal de consultantes del Hospital San Rafael de Tunja

Román Yesid Ramírez R.\*, Claudia Patricia Jaimés B.\*,  
Marta Beatriz Rodríguez M.\*

\*Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Colombia.

**Introducción.** La gastroenteritis es una de las principales causas de morbimortalidad en personas de todas las edades. En Boyacá la epidemiología de los virus causantes de gastroenteritis aún no está suficientemente caracterizada, debido a que estos no son detectados de manera rutinaria. En el presente estudio se determinó la prevalencia de norovirus y astrovirus en materia fecal de consultantes con diagnóstico de enfermedad diarreica aguda (EDA) del hospital San Rafael de Tunja, así como la coinfección entre estos dos virus y cada uno de estos con parásitos intestinales.

**Materiales y métodos.** Se determinó la presencia de antígenos de norovirus (genogrupos 1 y 2), así como de astrovirus (serotipos 1 al 8), por medio de enzimo-inmunoanálisis (ELISA – Ridascreen®). La presencia de parásitos intestinales se evaluó a través de examen coprológico.

**Resultados.** El número total de muestras fue 166, las cuales se recolectaron, entre los meses de diciembre de 2012 y agosto de 2013. La prevalencia de norovirus fue de 9,63%, (n=16), la de astrovirus fue de 3,61% (n=6) y la de parásitos intestinales de 35,54% (n=59). El rango de edad en el que más se presentó positividad para los virus estudiados fue entre 1 a 14 años (13 de 20). No se presentó coinfección viral en ninguna de las muestras analizadas. En siete muestras (4,21%) se presentó coinfección virus-parásitos. La mayor proporción de coinfección virus-parásito se dio con *B. hominis* (6 de 7 muestras).

**Conclusiones.** La prevalencia norovirus y astrovirus en la población estudiada (13,24%), destaca la importancia de la determinación de estos agentes etiológicos, al menos en los episodios de EDA que no presenten una etiología clara. La coinfección de norovirus y *B. hominis* (parásito considerado no patógeno) podría explicar la presencia de eda en estos pacientes. Se propone incluir la determinación de norovirus como causa de eda en niños.

### TLP-812. Efecto anti viral de extractos proteicos de bacterias probióticas sobre la infección in vitro por rotavirus

Maria Fernanda Gutierrez\*, Sandra Patricia Salas\*

\*Pontificia Universidad Javeriana Colombia.

**Introducción.** El agente viral más asociado con EDA es el rotavirus (RV). Aunque existen medidas profilácticas y medidas preventivas, no son suficientes para contrarrestar el impacto que ocasiona esta enfermedad. Como alternativa se utilizan bacterias probióticas las cuales han demostrado en diversos estudios que reducen la severidad de la diarrea a través de diferentes mecanismos. Objetivo. Determinar el efecto antiviral de proteínas extraídas de bacterias probióticas sobre la infección in vitro por rotavirus.

**Materiales y métodos.** A partir de las bacterias *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Bifidobacterium adolescentis* y *Bifidobacterium bifidum* se obtuvo un extracto de proteínas las cuales se les realizó ensayo de citotoxicidad sobre la línea celular MA104 la cual es susceptible a la infección por la cepa rotaviral RRV. Posteriormente, usando pruebas de inmunocitoquímica, se evaluó la actividad antiviral de los extractos proteicos sobre los eventos de adherencia, penetración del virus a la célula y la multiplicación. Y posteriormente se evaluó el efecto de bloqueo de los extractos proteicos a través de coimmunoprecipitación con HSC70 y/o integrina β3.

**Resultados.** Los cuatro extractos proteicos presentaron una actividad antiviral que se evidenció por la disminución del porcentaje de infectividad in vitro por la cepa RRV y por la unión de los extractos proteicos a moléculas importantes para la entrada del virus como HSC70 y/o integrina β3.

**Conclusiones.** Los extractos proteicos de las bacterias *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Bifidobacterium adolescentis* y *Bifidobacterium bifidum* tienen afinidad por moléculas que utiliza el virus para entrar a la célula como HSC70 y/o integrina β3, logrando un efecto de bloqueo permitiendo que ejerza una disminución de su infectividad in vitro.

### TLP-813. Biological properties of a recombinant dodecahedron containing the short fiber protein of the human adenovirus 41

Joselma Siqueira Y.\*, Daphna Fenel\*, Evelyne Gout\*,  
Pascal Fender\*, Charlotte Marianna Harsi\*

\*Department Of Microbiology, Virology Laboratories, Institute Of Biomedical Sciences, University Of Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil; Nove De Julho University (Uninove), Sao Paulo, Brazil, Institut De Biologie Structurale Jean Pierre Ebel, Grenoble 3802 Brasil.

**Introduction.** HADV-41 has gastrointestinal tropism and is considered fastidious in cell cultures. The virus possesses two types of protein fibers (long and short) alternatively distributed: the Lf recognizes the car receptor but the SF does not, suggesting that only the Lf participates in viral adsorption. This structural fact is exclusive of HADV-40 and 41 in the mastadenovirus genus. These data directed our objective: to determine short fiber role in viral adsorption and penetration in hek-293 and CACO2 cells.

**Materials and methods.** Firstly, we constructed recombinant baculovirus expressing HADV-41 SF, using the “BAC-to-BAC® baculovirus expression system” (invitrogen™). Expression kinetics of the individual protein, as well as co-expression assays of base-AD3+SF proteins were performed in SF9 cells, and analyzed by western-blot. For the production of the recombinant dodecahedrons (base and fiber), viral stocks (base-AD3, BSF, basergehs-AD3 and base-AD3+fiber-AD3) were produced in high five™ cells. 72 h post-infection, dodecahedrons were purified in sucrose gradients, analyzed by tem and inoculated in hek-293 and CACO2 cells.

**Results.** Recombinant dodecahedrons were able to enter the cells, but probably driven by the base AD3. When the dodecahedron was substituted by a quimera lacking rgd motif the particles remained outside the cells. Only in CACO2 cells a few quantity of the dodecahedrons appeared attached to membranes. Next, recombinant dodecahedrons base-AD3+SF-AD41 and base-ad3 were digested with pepsin and analyzed by western blot. We observed a partial proteolysis of the SF, while the base-ad3 dodecahedron was completely digested.

**Conclusions.** These results show that, in vitro, the HADV-41 SF probably suffers proteolysis in the gastro-intestinal tract, its natural environment, which may facilitate the recognition of receptors in intestinal cells. The results obtained may be used as the base for the development of gene-therapy vectors directed to intestinal epithelium, as well as orally administered vaccine vectors.

### TLP-814. Polimorfismos de un nucleótido asociados a la gravedad de la enfermedad respiratoria por virus respiratorio sincicial en lactantes

Sandra Ampuero\*, Luis Lizama\*, Francisco Nuñez\*, Dina Silva\*,  
Gabriela Olivares\*, Paula Bravo\*, Vivian Luchsinger\*,  
Aldo Gaggero\*, Carmen Larrañaga\*

\*Programa de Virología, Instituto de Ciencias Biomédicas,  
Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile.

**Introducción.** El virus respiratorio sincicial (VRS) es el principal agente de bronquiolitis en lactantes y 0,5% desarrolla una infección grave. La mayoría de los lactantes que se hospitalizan no tienen factores de riesgo conocidos. Se han planteado factores genéticos asociados a enfermedad grave por VRS; entre ellos los polimorfismos de un nucleótido (SNPs) en genes de respuesta inmune. Nuestro objetivo fue evaluar la asociación de 14 SNPs con la gravedad de la primoinfección por VRS en lactantes Chilenos menores de 6 meses de edad.

**Materiales y métodos.** Se obtuvieron muestras de aspirado nasofaríngeo y sangre de 212 lactantes (2005 a 2010), con enfermedad grave (96), moderada (62) o leve (54). El diagnóstico de VRS se confirmó mediante RT-PCR tiempo real. El análisis genético de los 14 SNPs se realizó mediante PCR-HRM y el análisis estadístico mediante el programa unphased y test de Armitage.

**Resultados.** Un total de 4 SNPs alcanzaron asociación significativa con la gravedad de la infección. El genotipo T/C del SNP RS721917 del gen SPD fue más frecuente en pacientes graves, y el genotipo c/c en los leves. En el SNP rs1921622 del gen IL1RL1, la frecuencia del heterocigoto g/a fue mayor en pacientes graves, donde el alelo

a constituyó el factor de riesgo (or: 2,5). Las frecuencias alélicas y genotípicas de los SNPS RS1060826 del gen NOS2A y RS1800795 del gen IL6, fueron significativamente diferentes entre graves y leves. El alelo G de RS1060826 tuvo un comportamiento de riesgo (or: 2,0) y el genotipo g/g fue más frecuente en los graves y a/a en los leves. También, el alelo c de RS1800795 fue un alelo de riesgo (or: 2,1), así como el genotipo heterocigoto c/g.

**Conclusiones.** La determinación de marcadores de riesgo o protección permitirían el manejo oportuno frente al riesgo de enfermedad grave. Financiamiento: fondeo CA13110003.

### TLP-815. Inhibición farmacológica de la proteína $\beta$ -secretasa-1 y silenciamiento de su gen por shRNAmir en células vero: posible participación en la infección por dengue

Yaneth Miranda-Brand\*, Grace Paola Carreño-Flórez\*,  
Juan Carlos Gallego-Gómez\*

\*Grupo de Medicina Molecular y de Translación, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Colombia.

**Introducción.** A pesar del impacto global del DENV, actualmente no existen vacunas o drogas antivirales aprobadas contra la enfermedad. Por lo tanto, la búsqueda de un tratamiento antiviral, se ha convertido en un objetivo principal. Durante la infección, el virus utiliza funciones/organelas celulares, para la replicación viral que conduce a la producción de nuevos viriones, por tal motivo se propone como estrategia terapéutica bloquear funciones/organelas celulares, que posiblemente en el ciclo replicativo del virus. En el presente trabajo se determinará si la  $\beta$ -secretasa 1 (BACE-1), está implicada de alguna forma en la replicación del DENV-2.

**Materiales y métodos.** Para dar cumplimiento al objetivo, se inhibió farmacológicamente (EMD 565788) la enzima y se silenció su gen, mediante un shRNAmir (un RNA interferente tipo short hairpin en un ambiente de microrRNA) de BACE-1. Para evidenciar tales efectos, se cuantificaron los viriones producidos mediante ensayo de unidades formadoras de placa (PFU) y se determinó la cantidad de proteína celular por in-cell western.

**Resultados.** Datos preliminares mostraron que EMD 565788 redujo en un 50% el título viral en una concentración de 5  $\mu$ m en estados post-infectivos (replicación, tráfico y liberación de viriones). Por microscopía avanzada de fluorescencia, BACE-1 tiene una distribución subcelular, implicando la región perinuclear y de membrana celular. Por in-cell western, preliminarmente se determinó un 52,4% en la expresión de la proteína a las 48 h post-transfección, por silenciamiento de su gen atribuible al shRNAmir, con respecto a las transfecciones con el control negativo y el plásmido vacío, cuyo resultado fue validado por microscopía de fluorescencia.

**Conclusiones.** Estos hallazgos, apuntan que la  $\beta$ -secretasa-1 estaría participando en etapas post-infectivas del ciclo del virus dengue. Se propone validar estos resultados, mediante otras metodologías, que revelen el mismo fenómeno, pero de manera complementaria y alterna. Agradecimientos a colencias 111554531621 y 111554531592.

### TLP-816. Development of serological assay based on chimeric prokaryotic protein for screening of human T-lymphotropic virus 1 (HTLV-1)

Débora Marques Da Silveira E. Santos\*, Ana Paula Do Carmo\*,  
Marina Lobado Martins\*, Flávio Guimaraes Da Fonseca\*,  
Edel Figueiredo Barbosa Stancioni\*

\*Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.

**Introduction.** Human T-lymphotropic virus (HTLV) was the first retrovirus isolated from human and currently they are classified into four types: 1, 2, 3 and 4, being the HTLV-1 and HTLV-2 the types correlated with severe inflammatory and neoplastic diseases in 5% of infected individual. Both viruses can be transmitted by breast feeding, sexual contact and blood transfusion. Routine laboratory procedures are performed in order to evaluate clinical samples and detect infected individuals by using efficient and accurate serological tests and HTLV-1/2 screening of blood units is important to prevent transfusion transmitted infection being mandatory in Brazil and elsewhere. In this way, a recombinant HTLV-1 chimeric protein

was produced in a prokaryotic system with diagnostic purposes.

**Materials and methods.** After production, the recombinant protein was purified using an affinity chromatography column and was tested by a western blot assay using pool of positive and negative sera also sera from two HTLV-2 infected individuals. Was developed an in house ELISA using the chimeric protein and sera of infected and non-infected patients; were tested 80 sera, including 40 seronegative individuals (SN) and 40 from HTLV-1 infected individuals (INF), being 20 presenting the mielopathy - HAM/TSP (HT) and 20 sera from asymptomatic (as) individuals.

**Results.** The results showed that only sera from infected people reacted with the chimeric recombinant protein (INF x SN;  $p < 0.0001$ ; "unpaired t test"). HAM/TSP and asymptomatic individuals recognized equally the recombinant protein and when were compared to SN both presented statistic differences (HT x SN and AS x SN  $p < 0.0001$ ; anova oneway with tukey post-test). In western blot this specificity was either showed for HTLV-1 and HTLV-2 infected individuals and controls.

**Conclusions.** These preliminary results suggest that sera from HTLV-1 infected individuals specifically recognized the protein produced and then it can be a useful tool for routine screening diagnostic tests.

### TLP-817. Development of plasmid based reverse genetic system for infectious salmon anemia virus (ISAV)

Daniela Toro-Ascuy\*, Carolina Tambley-Zamorano\*,  
Eduardo Olivares\*, Eugenio Spencer\*, Marcelo Cortez San Martín\*

\*Universidad de Santiago de Chile, Chile.

**Introduction.** The infectious salmon anemia is a viral disease that affects atlantic salmon, causing high mortality rates and economical losses in the Chilean salmon industry. The infectious salmon anemia virus (ISAV), as well as the influenza virus belongs to the orthomixoviridae family. In contrast to influenza virus, there is a scarce experimental knowledge on the proteins functions of ISAV. In this work, using a recombinant molecular biology and synthetic biology approach, we developed a plasmid based reverse genetic system for ISAV. To solve the necessity to express in the salmon cell the vrna we design a new vector called pss-urg which sequence contain a new salmon its 1-derived promoter.

**Materials and methods.** In this study, salmon cells transfected with eight pss-urg-derived plasmids and expression vectors for ISAV PB1, PB2, pa and np proteins allowed the generation of a recombinant ISAV. For first time we report the generation of chimeric strain called ISAVR S6/EGFP-HPR, that contain the orf of green fluorescent protein (GFP) within the hpr zone of segment 6.

**Results.** The analysis showed replicative activity and cytopathic effects in infected cells. The rescue of ISAVR S6/EGFP-HPR showed that recombinant segment 6 remained stable, including the expression of EGFP at several passages analyzed. The fluorescent recombinant viruses showed a characteristic cytopathic effect in salmon ask cells, and the viruses grew to an infectious titer of  $6.5 \times 10^5$  pfu/mL.

**Conclusions.** This reverse genetic system will be an important tool for study of viral protein function, virulence and host-specificity, vaccine development and viral vector design.

### TLP-818. Orthopoxvirus circulation in cats and mice of urban areas: implications for the transmission chain of vaccinia virus in southeast Brazil

Galileu Costa\*, Julia Miranda\*, Gregório Almeida\*, Poliana Figueiredo\*, Ben Muller\*, Iara Borges\*, Jonathan Howard\*,  
Cláudio Bonjardim\*, Paulo César Peregrino\*, Jônatas Abrahão\*

\*Universidade Federal De Minas Gerais, Brasil.

**Introduction.** Several outbreaks involving orthopoxviruses have been reported worldwide, such as monkeypox virus in africa and cowpox virus in europe. In Brazil, vaccinia virus causes an exanthematous disease, affecting dairy cattle and humans in rural environment. Other mammalian species are known to be infected as equids, monkeys and wild rodents. Seeing that rodents play the role of hosts for cowpox and possibly for monkeypox, and that cats are well known to transmit cowpox virus and also are natural predators of rodents, our goal was to investigate orthopoxvirus circulation among cats and mice in a Brazilian urban environment, its implication for epidemiological studies and the relationship between this virus and these animals.

**Materials and methods.** Blood and serum samples were analyzed from 78 domestic cats and 11 mice in an urban area from state of Minas Gerais. Plaque reduction neutralizing test was applied in cats serum samples for anti-orthopoxvirus neutralizing antibodies. Viral ADNA was accessed using phenol, chloroform and isoamyl alcohol method. Standard PCR targeting VGF and ati genes were performed for rodent samples and real time PCR targeting VGF and ha genes were performed for cat samples.

**Results.** Most cats are female (55.1%) and age range from 5 months to 11 years. It was found 13 seropositive cats (16.7%), with antibodies titers ranging from 100 to 1600 neutralizing units per mL. Molecular analysis of seropositive cats showed 7 positives for VGF gene and 4 for ha. Two mice samples were positive for at least one gene tested. Sequencing of ati product confirmed the detection of a vaccinia virus strain.

**Conclusions.** Poxviruses are ubiquitous among mammals and have a wide spectrum of hosts. Although in Brazil occurrence of poxviruses are, until now, restricted to rural environments, investigations conducted in urban areas highlights the risk of viral spread to urban environments and its importance to epidemiological chain.

### TLP-819. Actividad antiviral y evaluación del efecto sinérgico *in vitro* del (E)-labda-8(17), 12-diene-15,16-dial y el aciclovir frente a HHV-1 y HHV-2

Lee Solbay Agudelo G.\*, Francielle Tramontini Gomes de Sousa-C.\*, Claudia María Oliveira S.\*, Juan Carlos Gallego G.\*, Hamlet Acevedo O.\*, Miguel Ángel González C.\*, Liliana Amparo Betan\*

\*Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

**Introducción.** HHV-1 y HHV-2 son virus ADNA, neurotróficos pertenecientes a la subfamilia alpha herpesvirinae. Aislados virales resistentes al aciclovir se observan principalmente en individuos inmunocomprometidos. Situación que ha dado lugar a la búsqueda de nuevos agentes antiherpéticos preferiblemente con mecanismos de acción diferentes de los análogos de nucleósidos y la aplicación de terapia combinatoria. El virus dengue (DENV), con genoma rna, perteneciente a la familia *Flaviviridae*, presenta cuatro serotipos (DENV 1-4). La infección por DENV se manifiesta en diversas enfermedades, que van desde la fiebre del dengue no grave, a la fiebre hemorrágica de dengue grave y el síndrome de choque por dengue. Actualmente, no hay vacuna o tratamiento específico, sólo de soporte. Objetivo: determinar la actividad antiviral *in vitro* frente a cepas de herpes simplex tipo 1, 2, y DENV-2 del labdadienedial y su efecto sinérgico antiherpético con el aciclovir.

**Materiales y métodos.** La EC50 para las diferentes moléculas y controles se evaluó contra los virus HHV-1 (KOS y 29R, HHV-1 obtenido en el centro de control de enfermedades (Atlanta, GA); HHV-2 (333 y VR-734 (G aciclovir) y DENV-2, mediante el ensayo de reducción de placas en las etapas pre y post-infección. Para determinar los índices de selectividad (IS) antiherpéticos y anti-DENV (IC50/EC50), en paralelo, se evaluó la IC50 por el método del MTT. Se analizó la actividad antiherpética combinada del (E)-LABDA -(17),12-diene-15,16-dial, mediante el método de determinación del índice combinatorio (IC).

**Resultados.** El (+) labdadienedial, DEX-S y HEP inhiben las fases iniciales del ciclo de replicación viral para HHV y DENV-2 a concentraciones  $\leq 7 \mu\text{m}$ ,  $2 \mu\text{g/mL}$  y  $2 \mu\text{g/mL}$ , respectivamente. Se espera obtener un efecto sinérgico con el ACV en al menos una de las cepas de herpes simplex evaluadas.

**Conclusiones.** El labdadienedial se define como un posible candidato para el desarrollo de fármacos tópicos.

### TLP-820. Molecular detection and characterization of polyomavirus JC in sewage in Santiago, Chile

Jorge Levican\*, Aldo Gaggero\*

\*Programa de Virología, Instituto de Ciencia Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Chile.

**Introduction.** Polyomavirus JC (PYVJC) is ubiquitous in human, persisting in renal tissue and excreting progeny in urine from healthy people. Its strong resistance against various environmental conditions makes PYVJC a good marker of human pollution. Additionally, because its high genetic stability combined with a mechanism of transmission, mainly from parents to children during close cohabitation, PYVJC has become a novel

mean of tracing human migrations. Recent studies have revealed PYVJC in urban sewage in wide geographic settings and phylogenetic analyses from these samples have become a good approach to study the ethnicity composition of human populations. This study aims to investigate the circulation of PYVJC in waste water from sewage treatment plants in Santiago- Chile.

**Materials and methods.** Raw and treated sewage samples were collected monthly during one year and examined for the presence of PYVJC using real time PCR (qPCR). Positive samples were amplified with specific 610 bp ig PYVJC region primers and the PCR products were cloned and sequenced. The 610 bp ig nucleotide sequences were used for phylogenetic analysis using mega software.

**Results.** The detection of PYVJC reached 80,56% with a range of  $5,84 \times 10^3$  and  $<1 \text{ gc/mL}$ . The number of gc was of at least 1 bigger order of magnitude in the raw sewage regarding treated sewage. Positive samples were presented during all the year, not being observed seasonality. The phylogenetic analysis indicates that the detected PYVJC strains clustered mainly with asian genotype 2 (a/c).

**Conclusions.** Our study indicates that PYVJC is distributed among the inhabitants of Santiago de Chile and molecular detection in wastewater indicates that this approximation is feasible to monitor human environmental pollution. The presence of asian genotype is in agreement with previous anthropological studies and indicates a strong native American ethnic component in the Southern part of America.

### TLP-821. Silenciamiento del gen C-ABL por shRNAmir e inhibición química de su proteína en células vero: posible participación en la infección por dengue

Grace Paola Carreño-Flórez\*, Yaneth de Jesús Miranda-Brand\*, Juan Carlos Gallego-Gómez\*

\*Grupo de Medicina Molecular Y de Translación, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Viral Vector Core And Gene Therapy, Grupo de Neurociencias de Antioquia, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

**Introducción.** La infección por el virus dengue es la enfermedad transmitida por mosquito de más rápida diseminación a nivel mundial. Si bien en la infección concurren múltiples factores determinados por el mosquito, el huésped y el virus; las estrategias actuales no han considerado la participación de los factores celulares, pudiendo ser potencialmente útiles en terapia. En efecto, existen evidencias que sugieren que distintos patógenos secuestran la ruta de señalización ABL-quinasas para reorganizar el citoesqueleto de actina del hospedero y promover la fosforilación de proteínas efectoras virales. El objetivo de este proyecto es evaluar la participación de la quinasa C-ABL durante la infección de células epiteliales por virus dengue.

**Materiales y métodos.** Se evaluó la participación de C-ABL en pre y post-infección mediante inhibición química, siendo detectado por ensayo de placa. Se determinaron las condiciones de silenciamiento (ventana temporal y porcentaje de silenciamiento) y el patrón de distribución subcelular de C-ABL por imaginología celular.

**Resultados.** En los ensayos de pre y post- infección, el inhibidor de actividad quinasa imatinib, mostró ser activo en pre-infección (adherencia y/o entrada viral) con un 71.3% de reducción de placa. Además se detectó la distribución subcelular de C-ABL en citoplasma por microscopía de fluorescencia y se validó su silenciamiento mediante microrrna artificial, evidenciándose la disminución de la proteína a las 48 h (44.2%) y 72 h (33.7%) post-transfección, mediante inmunomarcaje (in-cell western).

**Conclusiones.** Como conclusiones preliminares se podría decir que la actividad quinasa, posiblemente esté implicada en las etapas iniciales de la infección por virus dengue.

### TLP-822. Ex vivo assay for antiviral searching against infectious salmon anemia virus (ISAV) using fluorescent recombinant virus generated by reverse genetic

Marcelo Cortez-San Martín\*, Mariela Guajardo\*, Daniela Toro-Ascuy\*, Carolina Mascayano\*

\*Universidad de Santiago de Chile, Chile.

**Introduction.** The infectious salmon anemia is a viral disease that affects mainly Chilean Atlantic salmon industry. For ISAV there is not effecti-

ve vaccines, the antiviral treatment is a good alternative but the laborious searching makes it an expensive solution. In order to facilitate the search of new antiviral candidates against ISAV and to determinate the decrease of viral replication, we generate a chimeric recombinant isavirus (RISAV) expressing the green fluorescent protein as reporter. The new reverse genetic system allows the generation of recombinant virus called RISAVS6-EGFP-HPR.

**Materials and methods.** In a previous work we demonstrate that RISAVS6-EGFP-HPR has the capacity to infect and replicate in ask cells as wild type virus. In this work, correlation between the viral load and fluorescence of RISAVS6-EGFP-HPR was determined by comparison of viral QRT-PCR analysis and direct fluorescent quantification of supernatants of infected cells. The antiviral Candidates were chosen from isoflavones collection using docking analysis results. The antiviral assay was performed by infection of ask cells with the RISAVS6-EGFP-HPR in presence of isoflavones IR-3, IR-201, IR-303 and rivavirin as control. At 7 days post-infection direct fluorescence was measured by tecan nanoquant fluorimeter.

**Results.** The results show that exist a direct relationship between increase of fluorescence measured and the viral titer, we reported an intensity of fluorescence of 500 units/mL related with a titer of  $2 \times 10^6$  virus genome copies/mL. Finally, the antiviral assay using RISAVS6-EGFP-HPR and fluorescence measure show that IR-3 is the isoflavone with the best effect in ISAV replication, with the similar activity than ribavirin. The docking analysis shows that IR-3 have stretch interaction with ISAV nucleoprotein where may correspond to a specific antiviral mechanism.

**Conclusions.** In conclusion this work show that the RISAVS6-EGFP-HPR is a useful tool for the rapid determination ex vivo of an effective antiviral treatment against ISAV. Acknowledgments: grant-fondecyt-11110212/d-ta PHD-scholarship-conicyt.

### TLP-823. Tizoxanide inhibits the replication of dengue virus-2 in vero cells

Kristie Aimi Yamamoto\*, Tiago Sousa S.\*, Marcelo Damiao Ferreira de M.\*, Renata Mendonca C.\*, Marcia Regina Soares\*, Dennis Brown\*, Davis Fernandes F.\*

\*Federal University Of Rio de Janeiro / North Carolina State University Brasil.

**Introduction.** Dengue virus (DENV), a mosquito-borne virus (family flaviviridae, genus flavivirus), is a leading cause of illness and death in the tropics and subtropics. With more than one-third of the world's population living in areas at risk for infection, there is no available antiviral treatment or vaccine to cure or prevent DENV infection. Therefore, other approaches are needed to fight and control the virus. Tizoxanide (tiz) is the active compound of nitazoxanide (NTZ), a thiazolide anti-infective licensed for the treatment of parasitic gastroenteritis. In this study, the anti-DENV-2 activity of tiz was evaluated in cultured cells.

**Materials and methods.** DENV-infected vero cells were treated with tiz at different concentrations. The replication of DENV in the mock- and tiz-treated cells was examined by virus titration. Tiz was also administered at different time points of DENV infection to determine the stage at which tiz affected DENV replication.

**Results.** Tiz significantly inhibited the replication of DENV in cell culture in a dose-dependent manner with 50% inhibitory concentration value of  $3.07 \pm 0.08 \mu\text{g/mL}$  (50% cytotoxic concentration =  $7.58 \pm 0.2 \mu\text{g/mL}$ ). The selective index calculated was 2.5. The viral yields of the tiz-treated cells post-infection were reduced up to 90% at  $5 \mu\text{g/mL}$ , compared with the mock-treated cells. Tiz showed little (up to 20%) or none antiviral effect in other stages of viral replication (virucidal; 1, 12, 24 h pre-treatment, adsorption, penetration, virus release).

**Conclusions.** Our results corroborate with those found in Shi *et al* (2014) study which indicated that ntz has anti-japanese encephalitis virus activity, acting at the early-mid stage of viral replication. These results suggest the potential application of ntz/tiz in the treatment of flavivirus infection. Further ongoing analysis are being carried out in order to elucidate the mechanism of action of tiz.

### TLP-824. Bacteriophages reduce biofilm formation on reverse osmosis membranes of the oil refinery wastewater treatment system

Roberto S Dias\*, Larissa ABV Fonseca\*, Livia CF Silva\*, Maira P Sousa\*, Rodrigo S. Souza\*, Ana Paula R. Torres\*, Vania MJ Santiago\*, Cynthia C. Silva\*, Valeria M. Oliveira\*, Sergio de Paula\*

\*Laboratory Of Molecular Immunovirology, Federal University Of Viçosa Brasil.

**Introduction.** Oil refineries are greater consumers and generators of water, however this water must be treated before release in the receiving water body. Thus, various forms of treatment have been developed, especially for reverse osmosis. Nevertheless, the growth of a wide variety of microorganisms on the membrane surface or biofouling, inherent in this process, it causes operational problems in the system, primarily due the production of extracellular polymeric substances (EPS). The modification of membranes polymer and the use of biocides have been used to reduce microbial growth. In the search for alternative treatments, bacteriophages appear as an innovative methodology, since they have advantages such as site replication, host specificity and the presence of enzymes that degrade the EPS. This study evaluated different moi's (multiplicity of infection) in the control of biofilm formed by *Pseudomonas* sp. and *Brevundimonas* sp.

**Materials and methods.** The assays of biofilm formation and scanning electron microscopy (SEM) were performed in MBEC® device with moi's equal to 0.01; 0.02; 0.03 and 0.04. After different times of incubation, the biofilm was quantified by the crystal violet (CV) technique. To sem, pins were fixed in 2.5% glutaraldehyde and dehydrated in graded series of ethanol, followed by drying of the material and examination.

**Results.** The sem results corroborate with those obtained for *Pseudomonas* sp. by the CV technique, showing no significant difference in the reduction of the biofilm with increasing of moi. However, with 48 h, both isolates evaluated, *Pseudomonas* sp. and *Brevundimonas* sp., had a dose-dependent response.

**Conclusions.** In this study we concluded that lytic bacteriophages can be used as an alternative to other available techniques, in preventing or destruction of biofilm in membranes of reverse osmosis systems.

### TLP-825. Seroprevalencia de dengue y detección de infecciones asintomáticas en seis zonas geográficas de Colombia

Shirly Parra\*, Rosalía Pérez\*, Sócrates Herrera\*, Myriam Arévalo\*, Fabian Cortés M.\*, Carolina Coronel-Ruiz\*, Jaime Eduardo Castellanos\*, Myriam Velandia-Romero\*

\*Universidad El Bosque Colombia.

**Introducción.** En Colombia, el dengue es un problema en salud pública y el enfoque clínico y de laboratorio para su diagnóstico y control, se basa en la vigilancia de los casos notificados, sin tener en cuenta las infecciones asintomáticas, las cuales son un factor en el ciclo de transmisión de la enfermedad. Caracterizar la seroprevalencia de dengue y su relación con los factores sociodemográficos en seis zonas geográficas de Colombia.

**Materiales y métodos.** El estudio se desarrolló en seis municipios del país (Buenaventura, Quibdó, Tierralta, Tumaco, Anapoima y Apulo). Los individuos que aceptaron participar firmaron un consentimiento informado, respondieron una encuesta CAP sobre dengue, se tomó una muestra de sangre para las pruebas de diagnóstico: ELISA IGM e IGG, ELISA para detección de NS1, RT-PCR.

**Resultados.** Se analizaron muestras de suero-plasma de 1318 individuos, residentes en los municipios y al momento de la toma de muestra ninguno refirió síntomas asociados a dengue. El porcentaje de muestras positivas por serología fue: IGM (11.71%), IGG captura (9.25%), IGG indirecta (75.35%). No se detectaron muestras positivas para NS1. de las muestras positivas por serología, 26.1% fueron positivas por RT-PCR, identificando los cuatro serotipos del virus: DENV-1 (48.62%), DENV-2 (21.05%), DENV-3 (6.32%), DENV-4 (7.37%). Se detectaron coinfecciones producidas entre DENV-1/2 (6.32%), DENV-3/4 (8.42%), DENV-2/3/4 (2.11%). El 45.82% de las viviendas es de material de ladrillo, el 37.46% en madera. El 38.04% tiene acueducto, el 59.96% debe desplazarse 20, 50-100 metros fuera de la vivienda para recolectar agua.

**Conclusiones.** El presente estudio demuestra que en zonas endémicas para dengue en Colombia, la población ha estado infectada al menos una vez en su vida con dengue. El 35% de individuos presentaron infecciones activas, en ausencia de síntomas. Esto confirma el sub-registro de casos, aumentando el riesgo de transmisión del virus en la población.

### TLP-826. Actividad anti-herpética *in vitro* de derivados de 1,4 nafto y antraquinonas

Vicky Constanza Roa L.\*<sup>‡</sup>, Yaneth Miranda B.\*<sup>‡</sup>,  
Liliana Amparo Betancur G.\*<sup>‡</sup>, Arturo San Feliciano M.\*<sup>‡</sup>

\*Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

**Introducción.** Los herpesvirus humanos tipo 1 y 2 (HHV-1 y HHV-2) se asocian principalmente a lesiones en la mucosa oral y genital, respectivamente. Actualmente, los análogos de nucleósido son la primera opción de tratamiento frente a estos virus, sin embargo, la aparición de cepas resistentes ha complicado su manejo clínico, haciendo necesaria la búsqueda de nuevos agentes anti-herpéticos. Teniendo en cuenta su riqueza química y amplio espectro de actividad biológica, entre ellas antiviral, los derivados quinónicos se plantean como una opción factible en la búsqueda de principios activos para tal fin. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad anti-herpética *in vitro* de compuestos derivados de 1,4 nafto y antraquinonas, frente a HHV-1 y HHV-2.

**Materiales y métodos.** El tamizaje primario de veintisiete moléculas se llevó a cabo mediante la técnica de titulación de punto final, los ensayos de inhibición en etapas pre y post-infectivas se realizaron por el método de unidades formadoras de placa, la citotoxicidad se evaluó empleando la técnica del MTT y se realizó el cálculo del índice de selectividad antiviral (IS). Para todos los ensayos se empleó la línea celular vero.

**Resultados.** Los resultados indican que el derivado de naftoquinona (compuesto 6), mostró actividad moderada (RF= 1x10<sup>2</sup>) contra HHV-1 y HHV-2, a una concentración de 6.25 y 12.5 µg/mL, respectivamente. Además esta molécula presentó actividad en etapas pre-infectivas (virión libre, adhesión y entrada viral) en concentraciones por debajo de 0,39 µg/mL y valores de IS superiores a 500 frente a los dos tipos virales, indicando que es una molécula altamente selectiva.

**Conclusiones.** Teniendo en cuenta estos hallazgos y que la terapia combinada puede aumentar la selectividad antiviral, reducir las concentraciones activas y la citotoxicidad y mejorar la eficacia de los fármacos de uso común, se propone realizar ensayos de interacción entre el aciclovir y el derivado de naftoquinona 6, a fin de encontrar un posible efecto sinérgico.

### TLP-827. Prevalencia del virus del papiloma humano en pacientes del Oriente Antioqueño, Colombia

Janeth E. Bedoya\*<sup>‡</sup>, Diego F. Chávez-Henao\*<sup>‡</sup>, Rubén Serna†<sup>‡</sup>,  
Oscar J. Murillo-Gómez\*<sup>‡</sup>, Mauricio Corredor\*<sup>‡</sup>

\*Grupo Genética y Bioquímica de Microorganismos. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia, Colombia. †Hospital Gilberto Mejía Mejía, Rionegro, Antioquia, Colombia. ‡Parasitología Tropical, Facultad de Medicina, Universidad de Sao Paulo, Brasil. Genética, Regeneración Y Cáncer, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia, Colombia.

**Introducción.** El cáncer de cuello uterino (CCU) es el segundo más frecuente a nivel mundial después del cáncer de mama. En Colombia es el más frecuente entre las mujeres y su primera causa de muerte por cáncer. La infección por VPH es el principal factor de riesgo asociado al CCU. Se han identificado al menos una docena de tipos de VPH oncogénicos, donde el 16 y el 18 son responsables de la mayoría de los cánceres. Dada su importancia el presente estudio pretende determinar la prevalencia del VPH en mujeres del oriente antioqueño y utilizar para su diagnóstico la PCR convencional y en tiempo real. Objetivo: establecer la prevalencia de VPH oncogénicos en muestras de citología por técnicas convencionales y en tiempo real.

**Materiales y métodos.** Participaron mujeres entre los 18 y 60 años de edad habitantes del Oriente Antioqueño. Se les realizó un tamizaje de endocervix con citocépilo, se depositaron en tubos falcón con 1 mL de SSN 0,9%, se almacenaron a -20°C. Extracción de ADN por medio del kit QIAAMP® ADNA mini (QIAGEN) y la presencia de VPH se determinó por PCR convencional y anidada con primers específicos para la región L1 del virus 16, 18, 31 y 35.

**Resultados.** Se encontró alta prevalencia de VPH (>50%). Además, el 71,43% de pacientes positivas presentaban PAP normal y no estaban asociadas con otros factores de riesgo para CCU. Sin embargo la presencia del virus no se asoció siempre con infección o con riesgo oncológico, pero la edad y los hábitos sexuales siguen estando asociados.

**Conclusiones.** La prevalencia de VPH en las mujeres caso es alta. Por esto, es necesario brindar educación a las mujeres del oriente antioqueño acerca del CCU. Se evidenció la necesidad de genotipificar los tipos de VPH presentes en la población.

### TLP-828. Effect of extracts *Schinus terebinthifolius* and *Punica granatum* on mayaro virus replication

Tiago Sousa S.\*<sup>‡</sup>, Kristie Aimi Yamamoto\*<sup>‡</sup>, Marcelo Damiao Ferreira de M.\*<sup>‡</sup>, Thayane E. Guimaraes\*<sup>‡</sup>, Lucio A. Caldas\*<sup>‡</sup>, Ricardo M. Kuster\*<sup>‡</sup>, Marcia Regina Soares Da S.\*<sup>‡</sup>, Davis Fernandes F.\*<sup>‡</sup>

\*Federal University Of Rio de Janeiro Brasil.

**Introduction.** Mayaro virus (MAYV) is an arbovirus belonging to the genus alphavirus, *Togaviridae* family, responsible for mayaro fever which symptoms are similar to the classic dengue fever. MAYV is endemic in tropical and subtropical regions on the borders of the Amazon basin. In this work we tested the antiviral effect of *Schinus terebinthifolius* (mastic) and *Punica granatum* (pomegranate) against MAYV.

**Materials and methods.** The toxicity of these substances in vero cells was tested by the incorporation of neutral red after 24 h of treatment. For antiviral effect, cells were infected for 1 h with mayaro and the treatment of cells was carried out with non-toxic concentrations of the substances for 24 h. The viral production was quantified by tcid50 method. We also tested the substances for virucide properties, adsorption impairment, pretreatment, immunofluorescence and transmission electron microscopy (TEM).

**Results.** CC50 of each substance was 242, 315, 102 and 5000 µg/mL in acetate, flavonoids 1 and 2, oil of *Schinus*, respectively, and 590 and 442 µg/mL for crude extract and acetate of punica, respectively. TCID50 were 4,3; 4,5; 14 and 830 µg/mL µg/mL in acetate, flavonoids 1 and 2, oil of *Schinus*, respectively, and 12 and 30 µg/mL for crude extract and acetate of punica, respectively. Selectivity index were greater than 7 for all substances. Our results showed more than 95% virucidal effect for the partitions acetate, flavonoids mastic and crude extract of pomegranate. We observed similar inhibition obtained in the virucidal test by immunofluorescence. Was also observed damage in viral particles treated with substances by tem. The proteomic analysis of the infection of MAYV showed differences in the expression of secreted proteins during infection and treatment with tetrahyamentoflavone substance.

**Conclusions.** We conclude that some of the substances act directly on the virus particle, and we are now assaying for this interaction at the molecular level.

### TLP-829. Identification and selection of B-cell restricted dengue virus epitopes with potential to be used as diagnostic tools

Alice Freitas Versiani\*<sup>‡</sup>, Tiago A.O. Mendes\*<sup>‡</sup>, Daniella Castanheira Bartholomeu\*<sup>‡</sup>, Flávio Guimarães Da Fonseca\*<sup>‡</sup>

\*Universidade Federal de Minas Gerais Brasil.

**Introduction.** Dengue is currently the most important infectious disease in Brazil in terms of epidemiological impact. Early diagnosis is an important factor for disease outcome, particularly for those afflicted with the most severe forms of infections. The goal of this work is to identify conserved and polymorphic linear B-cell dengue virus (DV) epitopes which could be used for ELISA.

**Materials and methods.** To this end, we aligned the predicted viral proteome based in the genome sequences of the four dv serotype and performed a *in silico* B-cell epitope mapping. We developed a script in perl integrating alignment and prediction information to identify potential serotype-specific epitopes. We excluded epitopes which are also present in the yellow fever virus genome and are known to have serological cross-reactivity with DV.

**Results.** A total of 15 peptides were found to be polymorphic among dv serotypes. Three of them were specific to serotype 1; 3 for serotype 2, 5 for serotype 3 and 4 were specific for serotype 4. Also, a total of 9

peptides were found to be conserved among all serotypes. A peptide array containing the predicted epitopes was covalently linked on a cellulose membrane. The reactivity of the peptides was tested using sera from rabbits monoinfected with each dengue serotype. Seven peptides were considered reactive with the test sera and not reactive with sera from non-infected rabbits. Three peptides were considered reactive for all serotypes.

**Conclusions.** These *in silico* and *in vitro* analyzes allowed the selection of three peptides conserved among all serotypes, which can be used in general dv screening tests. In the next steps, conserved and polymorphic linear B-cell dv epitopes will be synthesized as soluble peptides and tested by ELISA against a panel of sera from DV infected humans in order to confirm their potential as diagnostic tools.

### TLP-830. Biología celular del virus dengue. Uso de clones infecciosos, ncRNAs y RNAi

Maicol Ospina-Bedoya\*, Natalia Campillo-Pedroza\*, Juan Pablo Franco-Salazar\*, Jose Aldemar Usme-Ciro\*, Juan Carlos Gallego-Gómez\*

\*Grupo de Medicina Molecular y de Translación, Instituto de Investigaciones Médicas, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Colombia

**Introducción.** Los clones infecciosos constituyen una alternativa más precisa y controlable, para hacer estudios celulares moleculares de la infección viral, que en nuestro enfoque los concebimos como una interacción de ncRNAs del virus (tipo microrna) con blancos celulares, implicando los mecanismos del RNA interferente, como hemos publicado (virology journal 2013, 10:185). En tal interacción esperamos encontrar blancos que sirvan de candidatos para terapias. Rastrear en el genoma del DENV estructuras parecidas a micrornas y postular blancos celulares que serán experimentalmente validados, usando luego clones infecciosos recombinante con GFP y luciferasa.

**Materiales y métodos.** Secuencias virales DENV del genbank fueron predichas para pre-mirnas usando el VMIR program, identificándose putativas secuencias y sus mirnas maduros mediante ncRNA feature extraction and pre-miRNA classification web tool, que fueron sometidas al MFOLD y al minimal folding free energy, para elegir los mejores candidatos. Predicción de potenciales blancos y enriquecimiento funcional de genes, se hizo con UTRS humanos y los mirnas fueron escaneados linux-based miranda software. Potenciales blancos fueron analizados con cytoscape software y aplicando el gene ontology database. Clon infeccioso DENV lo describimos en virus research. 180: 12-22.

**Resultados.** Mediante herramientas de biología computacional, se encontraron ocho putativos mirnas en el genoma DENV, que hibridan con numerosos blancos celulares implicados en morfogénesis, diferenciación, migración y vías de crecimiento, lo cual podría estar jugando un rol importante en la interacción virus-célula hospedera. Próximas investigaciones pretenderán validar la presencia en mRNAs celulares, usando también clones infecciosos para localizar exactamente fragmentos candidatos a micrornas dentro de la genoteca que tenemos del DENV.

**Conclusiones.** En la búsqueda de la interacción virus-célula usando un modelo totalmente distinto al convencional, esperamos encontrar respuestas a la patogénesis viral, del modo como lo hemos mostrado en este trabajo publicado recientemente en bioinformatics and biology insights (2014). Vol. 8: 169-176. Agradecimientos a Colciencias 111554531592 y 111554531621.

### TLP-831. Distribución genotípica del virus del papiloma humano en mujeres con diagnóstico citológico de ASC-US y cambios celulares reactivos en una población de Medellín, Colombia

Leonel Andrés González N.\*, Lydis Patricia Romero A.\*, Beatriz Eugenia Pérez M.\*, Karina Ramirez B.\*, Tatiana Espinal C.\*, Diana Mejía M.\*, Jenny Andrea Carmona V.\*

\*Dinámica IPS Colombia.

**Introducción.** Aproximadamente 70% de las mujeres sexualmente activas adquieren la infección por el virus del papiloma humano (VPH). los genotipos de alto riesgo (VPH-AR) están directamente relacionados con el desarrollo de cáncer cervicouterino (CCU). La tipificación viral sería

fundamental para un seguimiento adecuado. Determinar la distribución genotípica de VPH-AR en mujeres con diagnóstico de ASC-US y cambios celulares reactivos (CCR).

**Materiales y métodos.** 1685 mujeres participantes, se les realizó citología cervicovaginal para estudio citopatológico y citología en medio líquido. A las pacientes con diagnóstico ASC-US y CCR se les realizó prueba molecular para identificación del ADN del VPH-AR utilizando el ensayo *in vitro* abbot real time HR-HPV, que permite identificar 14 genotipos de VPH-AR: individualmente 16 y 18, además 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.

**Resultados.** De 1685 mujeres entre 16 y 68 años (media de edad 33), 42 (2,5%) fueron diagnosticadas con ASC-US y 444 (23,3%) con CCR de los cuales 360 (21,4%) fueron aptos para prueba molecular. 76 (21,1%) pacientes con diagnóstico CCR y 19 (42,2%) pacientes con diagnóstico ASC-US fueron positivos para VPH-AR. Otros genotipos VPH-AR diferentes al 16 y 18 fueron los más comúnmente detectados en 53 (69,7%) mujeres entre 19 y 51 años (mediana 27 años), seguidos por 11 (14,5%) positivos para el genotipo 16 (mediana de edad 32 años), 8 (10,5%) para 16 y otros VPH-AR (mediana de edad 24 años), 2 (2,6%) para genotipo 18 y otros VPH-AR (mediana de edad 27 años). Genotipo 18 y positividad para ambos 16 y 18 fueron detectados en 1 paciente respectivamente.

**Conclusiones.** Una alta prevalencia de infección por VPH-AR fue detectada en pacientes con diagnóstico de ASC-US y CCR, esto sugiere que a pesar de que CCR son considerados como resultado negativo, también pueden ser candidatos a seguimiento por tipificación molecular.

### TLP-832. *In silico* epitope mapping of bovine herpesvirus type 1 glycoprotein (GB) using the herpes simplex virus type 1 as a model

Greyciele Rodrigues de A.\*, Greice Japolla\*, Luiz Arthur Mendes B.\*, Wílvia Marta Elsner Diederichsen de B.\*, Jair Pereira Da Cunha J.\*, Luiz Ricardo Goulart F.\*, Guilherme Rocha Lino de S.\*

\*Universidade Federal de Goiás Brasil.

**Introduction.** Glycoprotein B (GB) is a protein known to be conserved among the family herpesviridae. It is related to viral replication and is essential for the process of fusion and virus penetration into the host cell and therefore spreading to other uninfected cells. Information about the 3D structure of bovine herpesvirus type 1 (BOHV-1) GB is nonexistent, but homologous models are a useful tool for identifying target sequences and further characterization of epitopes. Objective. Mapping BOHV-1 epitopes using a synthetic peptide library and HSV-1 homologous protein as a model.

**Materials and methods.** The peptide library (PHD-12 new england biolabs) was used to select peptides that are immunoreactive against purified immunoglobulin from a serum of bovines infected with bohv-1. These peptides were investigated by a server for epitope mapping using affinity-selected peptides. The similarity between the amino acids sequences of BOHV-1 and HSV-1 GB extracellular domains was performed by protein blast and dot plot analysis.

**Results.** A crystal structure of the extracellular domain of glycoprotein b from herpes simplex virus type 1 (HSV-1) (PDB|2gum|a) was matched with a high identity with ten residues of the peptide queried (e-value: 4.23e-06). The sequence identity between the peptide and HSV-1 GB domain suggest that a similar 3D structure, formed by peptide residues, is present in both HSV-1 and BOHV-1 glycoproteins GB. The similarity between the amino acids sequence of BOHV-1 and HSV-1 GB extracellular domains has also been demonstrated by protein blast (score: 661 bits, e-value: 0.0) and dot plot analysis.

**Conclusions.** This region, clearly located at the surface and extracellular domain of the protein, can be further presented to the host immune system featuring a potential epitope. Thus, a peptide epitopes investigation may serve as a tool for the design of effective vaccines based on multi-epitope antigens or peptides displaying phages and diagnosis.

### TLP-833. Genealogy of circulating norovirus in Brazil

Fabiana Lopes de Paula\*, Sílvia Inês Sardi\*, Flora María de Campos F.\*, Marcus Welby-Borges\*, Dellane Martins T.\*, Camila Fonseca Lopes B.\*, Julianna Alves T.\*, Cláudio José de Freitas\*

\*Universidade Federal Da Bahia Brasil.

**Introduction.** The norovirus (NOV) is an important etiological agent of acute viral gastroenteritis in individuals of all ages. NOV, a member of the calciviridae family, is a single-stranded, positive-sense RNA virus,

classified into five genogroups (GI-GV) and subclassified into 35 genotypes (GI.1-8; GII.1-21; GIII.1-3; GIV.1.2; GV.1). Although the NOV is often associated with gastroenteritis in Brazil, there is not a phylogenetic study of exclusively Brazilian strains. Therefore, this study analyzes the gene profile and the relationship between the circulating strains in Brazil.

**Materiales and methods.** Stool samples from patients with symptoms of acute gastroenteritis were collected in bahia in 2012 and submitted to RT-PCR technique with primers for the gene of RNA-dependent RNA polymerase (ORF1).

**Results.** The NOV was identified in 85.08% (154/181) of the samples, predominantly for children under 5 years old. Phylogenetic analysis of the strains identified in this study and in several regions of the country showed the predominance of genotype GII.4, similar to that observed in other countries in the world.

**Conclusions.** Although the NOV GII.4 is considered the most prevalent strain circulating in Brazil, further studies should be conducted to analyze the regions of ORF2 and/or overlapping between ORF1 and ORF2, which can detect new NOV GII.4 variants or possible genetic recombinations.

### TLP-834. Relaciones co-evolutivas entre un bacteriófago nativo y su hospedero, *Salmonella enteritidis*

Angela Holguín\*, Martha Vives\*

\*Universidad de los Andes, Colombia.

**Introducción.** *Salmonella enteritidis* es considerado un problema de gran relevancia para la industria avícola alrededor del mundo. Por un lado, es agente causal de la salmonelosis, enfermedad transmitida por alimentos. Por otro lado, se ha reportado resistencia de la bacteria a los antibióticos que actualmente son usados en la industria avícola. Esto ha llevado a entidades gubernamentales a plantear nuevas alternativas para su tratamiento. El grupo de microbiología ambiental y bioprospección de la Universidad de los Andes, desde el 2008 lleva investigando el uso de bacteriófagos, virus que matan las bacterias, como alternativa de tratamiento a infecciones bacteriana. En estudios previos, un modelo evolutivo (reportado en la literatura y modificado) ha permitido determinar que las interacciones entre fago-bacteria varían entre especies bacterianas. Este trabajo tiene como objetivo evaluar la interacción entre un fago nativo y una cepa *Salmonella enteritidis* mediante el modelo evolutivo y comparar estos resultados con previos, donde la misma cepa bacteriana fue sometida a otro fago con diferentes características.

**Materiales y métodos.** La interacción del fago con su huésped se evaluó a lo largo de 12 días. El modelo evolutivo consistió en microcosmos inoculados con bacteria, a una concentración de 10e7ufc/mL y con fago, a una concentración de 10e6ufp/mL en 6 mL de caldo LB. Después de 48 h, se tomaron muestras, se aislaron bacterias y fagos, y 6 ul del lisado se transfirieron a medio fresco; esto se repitió hasta el día 12. Una vez recogidas todas las muestras, las bacterias aisladas de cada punto de tiempo se cruzaron con fagos aislados de diferentes tiempos.

**Resultados.** Los resultados mostraron la eficiencia de los fagos así como el patrón evolutivo y co-evolutivo en el tiempo.

**Conclusiones.** Este modelo permite la selección de fagos y bacterias para estudios de genómica comparativa y comprender los mecanismos de resistencia que las bacterias desarrollan contra los fagos.

### TLP-835. Células endoteliales infectadas con virus dengue liberan factores solubles con posibles roles en la disfunción endotelial del dengue grave

Diego Alejandro Álvarez D.\*, Elizabeth Orosco G.\*, Juan Carlos Gallego G.\*

\*Universidad de Antioquia - Grupo de Medicina Molecular y de Traslación Colombia.

**Introducción.** El dengue grave es una manifestación clínica potencialmente letal, caracterizada por la fuga plasmática al nivel microvascular asociada al aumento de citoquinas pro-inflamatorias que promueven la desestabilización del endotelio. Pocos estudios han investigado la interacción virus dengue (DENV)-células endoteliales (EC), principalmente por la dificultad de obtener biopsias del endotelio en pacientes infectados. Estudios *in vitro* ofrecen alternativas para investigar posibles efectos directos de esta interacción y su contri-

bución a la fisiopatología del dengue. Objetivo: evaluar la acumulación de citoquinas y factores de crecimiento promovidos por la infección de EC de microvasculatura humana con el virus dengue y su posible efecto en la migración celular.

**Materiales y métodos.** Se evaluó liberación de citoquinas, migración y viabilidad celular mediante sobrenadantes de infecciones sincronizadas (células HMEC-1) con DENV2 durante 48 h.

**Resultados.** Aproximadamente 100% de las HMEC-1 mostraron marcaje de proteína envoltura entre 1-6 hpi descendiendo en función del tiempo (1-48 hpi). Se detectó liberación PFUS entre 12 hpi-48 hpi, indicando replicación del DENV2 en HMEC-1. Ensayos LDH sugirieron mayor viabilidad de células infectadas. Sobrenadantes de células infectadas aumentaron la migración de células sin infectar desde 6 hpi. Las citoquinas detectadas se clasificaron en factores de crecimiento, quimiocinas e IL-6. Análisis multifactoriales sugieren asociaciones entre migración, GM-CSF, IL6, IL8, MCP-1 y GRO, mientras que MCP3, rantes, TGF- $\alpha$  y FGF-2 a liberación de PFUS y viabilidad celular.

**Conclusiones.** Aunque el DENV no se replica a altos niveles en células HMEC-1, estas responden liberando mediadores solubles reportados en plasma de pacientes infectados. Estos mediadores también se han reportado como inductores potentes de migración y angiogénesis *in vitro* e *in vivo*; sugiriendo que las EC pueden ser fuentes importantes de citoquinas que contribuyen a la desestabilización endotelial y aumento de permeabilidad vascular sobre-estimulando respuestas pro-angiogénicas como la migración, en la cual se rompen uniones inter-endoteliales tipo adherentes/estrechas, promoviendo la fuga plasmática hacia los tejidos.

### TLP-836. Seroprevalencia de citomegalovirus (CMV) por ELISA y qPCR en mujeres gestantes del Oriente Antioqueño Colombiano

Janeth E. Bedoya\*, Diego F. Chávez-Henao\*, Andrés Fernando Cardona-Rios\*, Manuel Gerónimo Feria-Garzón\*, Luz Elena Rondón-Castrillón†, Rubén Serna‡, Oscar J. Murillo-Gómez\*§, Mauricio Corredor\*||

\*Grupo Genética y Bioquímica de Microorganismos (Gebiom), Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia, Colombia. †Hospital General San Juan de Dios Ese, Rionegro, Antioquia, Colombia. ‡Hospital Materno, Gilberto Mejía Mejía, Rionegro, Antioquia, Colombia. §Parasitología Tropical, Facultad de Medicina, Universidad de Sao Paulo, Brasil. ||Genética, Regeneración y Cáncer, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas Y Naturales, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

**Introducción.** El citomegalovirus (CMV) de la familia *Herpesviridae*, virus del herpes humano tipo 5, cuya infección es asintomática, afecta mujeres embarazadas, niños de 0 a 5 años y personas inmunocomprometidas (infectados por VIH, personas trasplantadas, etc.). En Colombia se ha estudiado poco la infección por CMV, tanto a nivel hospitalario como científico. La población blanco son las mujeres embarazadas y su principal transmisión es congénita, ocasionando en los bebés pérdida de la visión, audición, retardo mental, hepatitis leve y retraso en el crecimiento. Objetivos: determinar la prevalencia de CMV en gestantes de tres poblaciones del departamento de Antioquia (Rionegro, Marinilla y el Carmen de Viboral) en Colombia.

**Materiales y métodos.** El estudio fue realizado en los hospitales: Gilberto Mejía del Municipio Rionegro, San Juan de Dios del Municipio de Marinilla y San Juan de Dios del Municipio del Carmen de Viboral. Se tomaron muestras sanguíneas de 96 gestantes, pertenecientes al programa de control prenatal de cada hospital, en las cuales se separó de suero sanguíneo por centrifugación, y luego se sometió a una prueba ELISA por medio del kit citomegalovirus IGG human ELISA midiéndose su absorbancia. Igualmente se trató de identificar la presencia del virus por qPCR.

**Resultados.** De las 96 muestras, 83 (92,22%) mostraron anticuerpos IGG específicos para CMV detectados por ELISA, pero entre ellos no hubo detección ADN por qPCR; no necesariamente por la ausencia de ADN viral, sino posiblemente, por la baja sensibilidad de la prueba, donde el número de copias virales es menor de la detectable.

**Conclusiones.** Por medio de la prueba de ELISA se logró detectar la presencia de cmv en mujeres gestantes, teniendo esta prueba mayor sensibilidad que la qPCR. La seroprevalencia del CMV tenía la misma tendencia en los tres municipios, indicando que hay una distribución homogénea del virus en estas localidades.

### TLP-837. Espectro de la infección por virus dengue en una cohorte de niños de dos municipios de Cundinamarca

Rosalía Peréz\*‡, Sigrid Camacho\*‡, Giovanni Delgado\*‡, Shirly Parra\*‡, María Angélica Calderón\*, Edgar Beltrán\*, Claudia Bueno\*, Viviana Ávila\*, Fabián Cortés Muñoz†, Carolina Coronel\*‡, Jaime E. Castellanos\*‡, Myriam Velandia-Romero\*‡

\*Grupo de Virología, Vicerrectoría de Investigaciones, Univ. El Bosque.

†Vicerrectoría de Investigaciones, Universidad El Bosque. ‡Red de Investigación Multidisciplinaria Para La Prevención Y Control de Enfermedades Transmitidas Por Vectores.

**Introducción.** El dengue es un problema de salud pública que presenta un amplio rango de manifestaciones desde cuadros inaparentes hasta graves y fatales. Hasta el momento no se conoce la inmunopatogénesis de la enfermedad, por lo que su diagnóstico y manejo no se realiza oportunamente. Determinar la seroprevalencia del dengue en una cohorte de niños de dos municipios del Departamento de Cundinamarca

**Materiales y métodos.** Se invitó a participar a niños entre 5-14 años de edad, de los municipios de Anapoima y Apulo en Cundinamarca. Quienes aceptaron participar, firmaron el asentimiento informado y sus padres el consentimiento informado. Los padres respondieron una encuesta CAP sobre dengue, luego se realizó un examen médico al niño y se tomó una muestra de sangre para el diagnóstico por ELISA IGM e IGG, ELISA para detección de NS1, y RT-PCR.

**Resultados.** Se incluyeron 356 individuos, el 48.88% fueron niños y 51.12% niñas, que no presentaron signos ni síntomas asociados a dengue. El porcentaje de muestras positivas encontrado fue: ELISA IGM (16.95%), IGG captura (29.10%), IGG indirecta (87.85%). El 30.20% de las muestras positivas por serología, resultaron positivas por RT-PCR. Se identificaron los cuatro serotipos: DENV-2 (75.56%), DENV-3 (11.11%), DENV-4 (4.44%) y DENV-1 (2.22%). Adicionalmente se detectaron coinfecciones: DENV-1/DENV-2 (4.44%), DENV-2/DENV-3 (2.22%).

**Conclusiones.** El presente estudio demuestra una alta seroprevalencia contra el virus dengue en niños que residen en zonas mesoendémicas, detectada por los títulos de IGG, lo que sugiere que los niños han tenido contacto con el virus dengue. Se encontró un porcentaje significativo de niños con infecciones activas, sin que en el examen médico detectara algún signo o síntoma sugestivo de dengue. El estudio continúa con el ánimo de identificar los factores asociados al desarrollo de dengue, caracterizar los signos y síntomas de la enfermedad.

### TLP-838. Increased sensitivity of newcastle disease virus detection just changing the fluorescent labeling

Luciano Matsumiya T.\*, Luiz Gustavo Bentim G.\*, Jansen Araujo\*, Marina Seixas\*, Tatiana Ometto\*, Carla Meneguim\*, Thais Colmanetti\*, Danielle Bruna Oliveira\*, Jorge Timenetsky\*, Edison Luiz Durig\*

\*Laboratório de Virologia Clínica E Molecular, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo Brasil.

**Introduction.** Our work aims an active epidemiological surveillance of newcastle disease virus (NDV) in wild animals from Brazil. The screening is performed by multiplex real-time PCR assay capable to detect both class 1 and class 2 NDV, described by kim *et al.* 2008. In this methodology, there are two sets of primers and probes specific for each class type, and each probe is labeled with a reporter dye (Fam™ or Tet®) on the 5' end and both have the quencher dye BHQ (black hole quencher) on 3' end. These dyes are distinguishable from one another since they have different emission wavelength maxima that enable the detection of mixed NDV infection. During sensitivity test assays, we found that the sensitivity for the class 1 virus detection, labeled with tet was much lower when compared to the detection of class 2 labeled with fam, in multiplex and singleplex tests. So we decided to test in parallel the same set of primers and probe previously labeled with tet but now, with fam to evaluate the difference in sensitivity.

**Materiales y métodos.** We made serial ten-fold dilutions of positive controls (vaccine strains and transcribed RNA [plasmid] with previously quantified ADNA copy number) in multiplex and singleplex reactions using both labeled probes.

**Results.** We found that the sensitivity increased exponentially and inversely proportional to the number of copies on the target product while using Fam.

**Conclusions.** It is possible that the design of the optical system also affect the efficiency which particular dyes are detected, as well the instrument settings, including filters and calibrations. This data is important for the development of detection assays, especially in active surveillance studies in wild animals that can present asymptomatic infections and/or very low viral loads and prevalence, where any increase in sensitivity is critical.

### TLP-839. Molecular characterization of rotavirus strains from samples collected from children 0-10 years old in the city of Manaus Amazonas

Karen Balieiro\*, Leidiane Amorim\*, Carolinie B.N. Da Cruz\*, Gleiciene Félix Magalhães\*, Paulo A. Nogueira\*, Patricia P.\*

\*Instituto Leônidas E Maria Deane – IIMD- Fiocruz, Brasil.

**Introduction.** The human gastroenteritis are among the diseases of greatest public health impact worldwide. There are several etiologic agents of diarrhea, with emphasis rotavirus, viral pathogen prominently in the genesis of severe acute gastroenteritis in childhood, accounting for over 450,000 deaths in children worldwide. The rotavirus genome consists of a 11 segment of double stranded RNA encoding six structural proteins (VPS) and five non-structural proteins (NSPS). Classification of rotavirus serotypes and genotypes is based on the epitopes of the glycoprotein VP7 neutralized, called G, and VP4 protease-sensitive protein called P, which generates a binary classification scheme G and P. Epidemiological studies of molecular characterization of genes encoding for proteins of rotavirus are essential for assessing the effectiveness of the vaccine rotarix (glaxosmithkline), introduced in Brazil since 2006, in addition to assessing the possible emergence of new viral genotypes. The aim of this study was to identify and characterize genes of rotavirus in feces of children with diarrhea in Manaus between the years 2007 and 2008.

**Materials and methods.** 1337 samples were collected from diarrheal children under 10 years old in the city of Manaus, between the years 2007 and 2008.

**Results.** There was a percentage of 5.4% of positive samples for rotavirus. Viral genotypes were identified through polymerase chain reactions preceded by reverse transcription. The genotype G2P[4] was found in 93% of cases, followed by G [nt-untyped] P4 in 6% and G2P[9] 1% of the samples. Among the 73 samples detected in this study, 58 were eligible for the current vaccine.

**Conclusions.** Phylogenetic analysis revealed a pattern of clustering of gene sequences into clusters that showed similarity with samples from Belém (Brazil) and China.

### TLP-840. Prevalencia de virus sincitial respiratorio (VSR), rinovirus (RHV), metapneumovirus (HMPV) y parainfluenza (HPIV) en la población infantil en un periodo estacional en el cantón quinindé por medio de PCR tiempo real

Pablo Espinosa V.\*, Andrea Arévalo\*, Yosselin Vicuña\*, M.E. Chico\*, Marta Vaca\*, Carlos Sandoval\*, C. Arias\*, Phil Cooper\*

\*Centro de Investigación de Enfermedades Infecciosas, CIEI-PUCE, Quito-Ecuador. Laboratorio de Investigaciones FEPIS, Quinindé-Ecuador. Consultoría 8, Hospital Pedro Alberto Buffoni, Quinindé, Provincia de Esmeraldas, Ecuador.

**Introducción.** Las infecciones respiratorias virales (VRIS) son la principal causa de morbilidad en niños menores de 6 años y han sido asociados con el desarrollo de asma. Hay pocos datos sobre le epidemiología de las VRIS en poblaciones rurales de América Latina. Objetivo: estimar la frecuencia relativa de VRIS en niños menor de 6 años en una área rural del Ecuador y analizar los cambios estacionales.

**Materiales y métodos.** Se realizó el estudio en una cohorte de niños que presentaron síntomas (s) de VRIS y asintomáticos (as), en el Hospital Cantonal del Cantón de Quinindé de la provincia de Esmeraldas, Ecuador. Se seleccionó aleatoriamente por mes 50 s y 20 as entre marzo del 2011 a febrero del 2012. Se tomó hisopados nasofaríngeos (HNF) que fueron analizados por PCR a tiempo real para la detección de infecciones con virus sincitial respiratorio (VSR), rinovirus (RHV), metapneumovirus (HMPV) y parainfluenza (PIV).



**Resultados.** Se evidenció una prevalencia (proporción de HNF positivas) para cada virus de VSR (12.4%), RHV (38.1%), HMPV (7.8%), PIV1 (4.8%), PIV2 (0%), PIV3 (5.5%) y PIV4 (2.6%). En el periodo estacional en pluviosidad VSR, PIV1, HMPV, PIV 3 y PIV4 se presentan con mayor frecuencia en lluvia que en sequía. VSR, PIV3 presentan casos al inicio del 2012. RHV presenta casos en todos los meses del año sin importar la pluviosidad.

**Conclusiones.** Se evidencia cambios en la frecuencia relativa de VRIS por meses y pluviosidad, además solo VSR y PIV3 muestra un comportamiento similar con el ciclo de lluvias, en el caso de PIV esta muestra diferencias en el comportamiento entre serotipos además RHV se mantiene constante lo largo de los meses.

### TLP-841. *Listeria monocytogenes* em linha de produção de salsicha suína tipo hot dog

Luciene Rodrigues Dos Santos Nery\*, Karyne Oliveira C.\*, Aracele Pinheiro Pales Dos S.\*, Cláudia Peixoto Bueno\*

\*Universidade Estadual de Goiás - São Luís de Montes Belos, Brasil.

**Introdução.** A listeria é um bacilo Gram positivo, mesófilo, não esporulado, anaeróbico facultativo e intracelular facultativo. O gênero está representado por seis espécies, mas somente, *L. monocytogenes* é considerada patogênica aos seres humanos, causadora da listeriose, doença que tem alto índice de letalidade em indivíduos imunocomprometidos e gestantes, podendo ocasionar meningite, encefalite, septicemia e abortos. Avaliar a presença de *Listeria monocytogenes*, nas fases de processamento no setor de embutido cozido, salsicha suína tipo hot dog, propondo ações de melhorias e ou adequação nos equipamentos e nas etapas de processamento.

**Materiais e métodos.** Foram coletadas 60 amostras, para avaliação da presença de listeria em diversas etapas da linha de produção de salsicha, em um frigorífico na região centro oeste do Brasil, sendo utilizados como metodologia os métodos oficiais para análise microbiológica para controle de produtos de origem animal e água. Os pontos de coleta foram: água no ponto de rede de abastecimento do setor; matéria prima; pele suína resfriada; massa após passagem pelo emulgador; água no ponto de abastecimento; água de circulação do túnel de cozimento; salsicha após atingir o cozimento com 74,2°C de temperatura; água utilizada no resfriamento do produto dentro do túnel de cozimento; água do tanque de tingimento antes e após circulação; salsicha após tingimento e salsicha após embalagem.

**Resultados.** Observou-se a presença de amostras positivas na etapa de resfriamento do produto, na matéria-prima e massa. Com as ações de revisão das boas práticas de fabricação não foi observada amostra positiva para listeria monocytogenes no terceiro ciclo de avaliação.

**Conclusões.** A presença de listeria monocytogenes nas instalações industriais sustenta a necessidade da existência e manutenção de programas de acompanhamento deste patógeno, por meio do monitoramento ambiental com frequência pré-estabelecida, especialmente, nas superfícies de contato direto com o produto após o cozimento, evitando a recontaminação após o tratamento térmico.

### TLP-842. Comparação da eficácia *in vitro* de antisépticos bucais em microrganismos da saliva humana

Marco Aurelio Benini\*, Luciana Sales\*, Marco Aurelio Benini\*, Luciana Sales\*, Hadda Leite\*, Camila Rego\*, Patricia de Maria Silva\*

\*Uniceuma Brasil.

**Introdução.** Este estudo avaliou, *in vitro*, a eficácia de diferentes anti-sépticos bucais, frente aos microrganismos presentes na saliva de humanos.

**Materiais e métodos.** Para a realização dos ensaios *in vitro*, foram coletadas alíquotas de saliva de alunos de odontologia antes ( fase 01) e após o uso (bochecho de 30 segundos, fase 02) de antisépticos bucais colgate plax, listerine, equate e cepacol extra forte. Nas duas fases, as alíquotas foram diluídas a 10-1 em solução fisiológica estéril e então semeadas em agar sangue com posterior incubação a 37 °C por 48 h.

**Resultados.** Constatou-se diferenças estatisticamente significantes no crescimento microbiano ao serem comparadas as médias dos grupos nas fases 1 (antes do uso de enxaguante) e 2 (após uso de enxaguante) após 24-48 h de incubação. Entre os grupos da fase 01, não foram constatadas diferenças significativas. Entretanto observou-se na fase 2 que as soluções de cepacol e colgate plax tiveram a mesma ação antimicro-

biana reduzindo em aproximadamente 90% a população microbiana da saliva dos indivíduo em comparação aos anti-sépticos equate e listerine que apresentaram redução da população microbiana de 50% e 10%, respectivamente.

**Conclusões.** A composição dos enxaguantes interfere diretamente na eficácia na população microbiana da saliva.

### TLP-843. Desarrollo y optimización de un protocolo para el tamizaje de tuberculosis bovina postmortem "El poder de lo convencional"

Augusto Miguel Torres J.\*, Alex Peña G.\*, Miguel Baquero\*

\*Universidad Popular Del Cesar, Colombia.

**Introducción.** La optimización de un protocolo de tamizaje para tuberculosis bovina de bajo costo y oportuno se hace necesario en regiones sin vigilancia eficiente, pues el diagnóstico antemortem es impreciso, el cultivo postmortem es inoportuno y el diagnóstico molecular es sensible y específico pero costoso.

**Materiales y métodos.** Muestra: ganglios linfáticos bovinos inoculados con *Mycobacterium bovis*. Inoculación: por triplicado a una concentración entre 1x10<sup>5</sup> y 3.3x10<sup>5</sup> bacterias/ 0.1 mL con 10, 20, 40, o 100 µl / gr, igual se procedió con diluciones de la vacuna de 1/8, 1/16, 1/32 1/64 y 1/128. Homogenizado: con arena, vidrio o sin ellos, se utilizaron dos detergentes iónicos (a y b) a cuatro concentraciones y tres tiempos de exposición. Controles sin centrifugación: tinción a cada homogenizado por triplicado. Concentración de inoculos: tres ciclos ensayados para concentrar, primero se utilizo una única rpm con tres tiempos de centrifugado; posteriormente se ensayo un segundo y un tercer ciclo con tres distintas rpm y tres tiempos; se hizo tinción de sobrenadantes y pellets de cada uno de los ciclos. Cuando se optimizo los ciclos se hicieron ensayos con inoculos diluidos.

**Resultados.** 92.6% de los controles no diluidos en los primeros volúmenes fueron negativos para BAAR, mientras que para 100 µl resultaron positivos un 41.6%. 83.3% de pellet fueron positivos para BAAR en inoculos no diluidos, mientras la dilución 1/8 fue positiva en un 66.6%; al aumentar la dilución el porcentaje de pellet positivos se redujo hasta en un 91.6%. 16.6% de controles de dilución 1/8 fueron positivos para BAAR, al aumentar la dilución el porcentaje de pellet positivos se redujo hasta en un 100%.

**Conclusiones.** El detergente a, provocó lisis celular ganglionar y mantuvo las bacterias intactas además conservo la ácido alcohol resistencia. Existen diferencias significativas de detección entre el protocolo optimizado y la tinción directa.

### TLP-844. Análisis de riesgo, herramienta para la selección de un biomodelo felino menos susceptible a *Toxoplasma gondii*

Raiden Grandía G.\*, Ángel Entrena G.\*, Jeddú Cruz H.\*, Dora Ginorio G.\*, Ingrid Domenech C.\*, Abdulahi Alfonso M.\*, Loreley Perdomo R.\*, Lourdes Chi Ramírez\*, Miriam\*

\*Centro Nacional Para La Producción de Animales de Laboratorio (Cenp-lab), Instituto Nacional de Endocrinología (INEN), Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK), Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Dirección Provincial Cuba.

**Introducción.** *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), protozoo que parasita a mamíferos y aves con fines experimentales, incluyendo al *Felis catus*, su hospedero definitivo. Existen factores de riesgo que hacen que este felino sea más vulnerable a la infección con *T. gondii*, que al ser generalizada afecta muchos sistemas de órganos. Con frecuencia se han obtenido resultados no atribuibles a investigaciones por infecciones silentes con *T. gondii* en gatos, evidenciándose en estudios neurológicos, oftalmológicos y retrovirales. Por otra parte, la eliminación de oquistes en las heces contribuye a la contaminación del personal e instalaciones. Por ello, se trazó como objetivo identificar los factores de riesgo asociados con la presencia de anticuerpos anti-*T. gondii* para la selección de un biomodelo felino menos susceptible a *T. gondii*.

**Materiales y métodos.** Para ello se emplearon 300 sueros de gatos domésticos, recopiladas de los 15 municipios de la Habana. Se analizaron como factores de riesgo: categoría (adulto y joven), edad por rangos (0-4 meses, 5 meses-1 año, 2-4 años y ≥ 5 años), raza (establecidas en el país), sexo (hembra y macho) y depredación (aves, roedores y anfi-

bios). Otros como el consumo de carne cruda y la presencia de vectores (insectos y roedores). Se consideró asociación significativa en la prueba chi-cuadrado una  $p < 0.05$ . Se utilizó el ODDS ratio y el análisis multifactorial de correspondencia.

**Resultados.** Se identificaron como factores de riesgo asociados: categoría adulto (75%), edades  $\geq 5$  años (89%) y de 2-4 años (73%), depredación de roedores, aves y anfibios (76%), consumo de carne cruda (75%) y la presencia de insectos y roedores en las viviendas (75%).

**Conclusiones.** El biomodelo felino menos susceptible a *T. gondii* tuvo una edad de hasta 1 año, categoría joven, cualquier sexo, raza pelocorto cubano, una alimentación controlada sin presas vivas, carne cruda y estuvo alojado en ausencia de vectores.

### TLP-845. Bacterias que afectan al humano aisladas de heces de mascotas domésticas

Rocío Pérez-Y-Terrón\*, Samuel Machorro-Báez\*

\*Benemérita Universidad Autónoma de Puebla México.

**Introducción.** La sociedad actual ha incrementando la adquisición de algún tipo de animal como mascota, y aunque se ha demostrado que ofrece algunos beneficios contribuyendo al desarrollo social y emocional de su dueño, posibilita adquirir algún tipo de microorganismo ajeno que pudiera ser potencialmente patógeno para el humano. Objetivo: aislar y caracterizar mediante pruebas de identificación fenotípica y bioquímica, a bacterias obtenidas de heces de mascotas y evaluar el tipo de contacto con su propietario.

**Materiales y métodos.** Se realizó la colecta de heces de mascotas y se aplicó un cuestionario sobre hábitos particulares de interacción entre dueño-mascota. Las muestras aisladas fueron sembradas en medios de cultivo agar *Luria bertani*, agar Mac Conkey, *Salmonella-shigella*, eosina-azul de metileno y chromagar. Se realizaron análisis microscópicos para tinción de Gram y movilidad. Se realizaron las pruebas bioquímicas en tubo: caldo urea, citrato, agar hierro triple azúcar, agar hierro lisina, movilidad sulfuro indol, movilidad indol ornitina y oxidación fermentación. Para identificación más confiable, se realizaron las pruebas bioquímicas utilizando galerías api. 20e de biomérieux.

**Resultados.** De un total de 50 cepas aisladas se identificaron 12 géneros de la familia *Enterobacteriaceae*, siendo vibrio el más común con 26% del total; seguido de *Klebsiella* con 12%, *Serratia* y *Photobacterium* con 10%, *Hafnia*, *Morganella* y *Pseudomonas* 8% cada una, *Pantoea* 6%, *Salmonella* 4% y *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Cryseobacterium* y *Plesiomonas* 2% respectivamente. De la asociación género- mascota se obtuvo que la de vibrio- perro fue mayor con 8 cepas. El tipo de interacción mascota-dueño con mayor frecuencia fue el de abrazos y caricias con 48%.

**Conclusiones.** El género más frecuente aislado fue vibrio en heces de perro y la interacción abrazos y caricias la más predominante. La interacción dueño-mascota es importante, como una forma de contagio al hombre llegando a ser un problema de salud pública.

### TLP-846. Analysis of results obtained by culture and real-time PCR in the national reference laboratory for pertussis, Brazil

Daniela Leite\*, Luciano Moura M.\*, Roberta Morozetti B.\*, Leyva Cecilia Vieira de M.\*, Sueli Aparecida F.\*, Juliana Cristina Pereira\*, Marcelo Paladini G.\*, Luis Fernando Dos Santos\*

\*National Reference Laboratory For Pertussis, Instituto Adolfo Lutz Brasil.

**Introducción.** Pertussis occurs worldwide, and despite the introduction of the primary immunization and the good coverage of the programs, bordetella pertussis still continues to circulate. In Brazil, laboratory diagnosis of pertussis is based on culture. Although this method is highly specific, its sensitivity is variable and more sensitive diagnostic methods are needed. In 2010, adolfo lutz institute são paulo, Brazil was introduced real-time PCR (rt-PCR) as an additional method for laboratory diagnosis. The aim of this study was to describe the results obtained by these two techniques on samples collected from patients/contacts reported with suspected pertussis.

**Materiales y métodos.** From January/2010 to June/2014, 18,272 nasopharyngeal secretions were collected using alginate swabs. The samples were cultured on charcoal agar with 10% sterile defibrinated sheep blood and cephalixin, and incubated at 35-37°C for ten days. Species were identified using standard methods. Rt-PCR was performed in the

thermocycler lightcycler®480 software release 1.5.0 sp3 - roche®, using specific primers/probes for detection of the toxin gene *ptxS1* and the insertion element *is481*. The results were obtained within 20 days for culture and 24/48 h for rt-PCR.

**Results.** During the period studied there was a progressive increase in the number of samples analyzed: 905, 3,490, 4,384, 4,481 and 5,012 in the years 2010, 2011, 2012, 2013 and 2014, respectively. Among the 18,272 samples processed, 3,283 (18%) were positive for b. Pertussis by rt-PCR as 929 (5%) were positive by culture.

**Conclusions.** The introduction of rt-PCR in laboratory diagnosis of pertussis was an excellent additional method, demonstrating a high sensitivity and positivity in relation to culture and the rapid achievement of results. Thus, it was concluded that rt-PCR should be performed simultaneously with growth culture to improve the knowledge of the distribution of pertussis in our country and to monitor strain variations.

### TLP-847. Vancomycin-resistant enterococcus harboring vana gene in southern Brazil: history repeats itself, first as tragedy, second as farce?

Leandro Pérez\*, Fábio Knapp\*, Ana Sandri\*, Afonso Barth\*

\*Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul (UFRGS) Brasil.

**Introduction.** Since the rise of vancomycin-resistant enterococcus (vre) in porto alegre, southern Brazil, two major outbreaks (first one in 2000 and the other ten years after) occurred in hospitals from this city. The objective of this study is to describe microbiological and epidemiological features of these two cases of outbreak.

**Materials and methods.** Three hundred fourteen and one hundred eight-seven isolates of enterococcus species were collected in the years 2000 (outbreak #1) and 2010 (outbreak #2) from hospitalized patients in hospital from porto alegre city. Isolates were identified and characterized for their susceptibility profile, van gene characterization, and vre strain types were determined by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE).

**Results.** Among enterococcus recovered during the outbreaks #1 and #2, 34.1% (107/314) and 14.4% (27/187) of the isolates were characterized as vre. In all of these cases, vana was detected. However, enterococcus faecalis was the most prevalent specie in outbreak #1 while enterococcus faecium was the most prevalent in outbreak #2. In both cases, it was established a clonal spread of vre species involved.

**Conclusions.** Unlike what occurred in other countries, we observed an epidemiological replacement of the causative agent of outbreaks, changing the "owner" of vana gene (*E. faecalis* first and then *E. faecium*), with important reflection on the therapeutic management.

### TLP-848. Epidemiología de los aislamientos de Streptococcus pyogenes en población pediátrica de atención primaria

Antonio Andrés Quesada S.\*, Soledad Sánchez M.\*, Marta Calatayud\*, Wilber Romero F.\*

\*Grupo de Investigación, Desarrollo E Innovación Biomédica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Técnica de Ambato, Ecuador.

**Introducción.** La faringoamigdalitis aguda constituye una de las principales causas de consulta en atención primaria siendo responsable de la prescripción de un alto porcentaje de antibióticos en la infancia. Documentar la prevalencia, distribución por edad y fenotipos de resistencia de los aislamientos de *Streptococcus pyogenes* en población pediátrica procedentes de centros de atención primaria en Santa Cruz de Tenerife, es el objetivo propuesto.

**Materiales y métodos.** La población a estudio estuvo compuesta por niños entre 6 meses y 14 años con diagnóstico clínico de faringitis aguda durante un año. Se excluyeron pacientes con tratamiento antibiótico previo, así como, los que tuviesen patologías asociadas que justificasen el uso de antibióticos. Se realizó un test rápido de *S. pyogenes* (osom ultra) además de una toma de exudado faríngeo para cultivo y antibiograma.

**Resultados.** Se procesaron 349 exudados faríngeos, aislándose por cultivo *S. pyogenes* en 103 pacientes, con una prevalencia del 29.51%. El test rápido obtuvo una sensibilidad del 96% y una especificidad del 98%. El 70% de los pacientes no requirió tratamiento antibiótico. La distribución por edad fue la siguiente: 0-3 años (18), 4-11 años (79), 12-15 años (6). El 88.3% de las cepas fueron sensibles a todos los antibióticos

testados (penicilina, clindamicina, eritromicina), el 11.9% de las cepas fueron resistentes a macrólidos, siendo resistentes a eritromicina un 6.8 % con fenotipo m y resistencia a eritromicina y clindamicina el 4.8 % con fenotipo MLSB constitutivo.

**Conclusiones.** La resistencia global a macrólidos resultó inferior a otros estudios nacionales, siendo los porcentajes de fenotipo m y fenotipo MLSB constitutivo similares entre sí. El test rápido es una buena herramienta diagnóstica que puede servir para evitar un uso indebido de antibióticos y que conllevaría una disminución de resistencias.

### TLP-849. Utilidad de una prueba de reacción en cadena de la polimerasa para la detección de *Clostridium difficile*

Gabriela Becerra\*, Sigifredo Ospina\*, Santiago Atehortua\*,  
Andres Londoño\*, Julian Bustamante\*, Carolina Atehortua\*,  
Noris Alarcon\*

\*Hospital Universitario de San Vicente Fundación Colombia.

**Introducción.** *Clostridium difficile* es un microorganismo que causa con frecuencia infección asociada al cuidado de la salud, y cuyo diagnóstico no es fácil dado que presenta manifestaciones clínicas muy variadas. El propósito de este estudio es evaluar la utilidad de una técnica de biología molecular tipo reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR) en comparación con una prueba de inmunoensayo enzimático, para la detección de toxina de *C. difficile*, en pacientes hospitalizados en un hospital universitario.

**Materiales y métodos.** Estudio descriptivo prospectivo en 151 pacientes, a quienes el médico tratante, por factores clínicos y epidemiológicos consideró el diagnóstico y le solicitó estudio microbiológico para *Clostridium difficile* a los cuales además de la prueba de detección de toxinas a y/o b por inmunoensayo enzimático, *C. difficile* toxin a & b vidas® de bioMérieux, se les realizó prueba molecular tipo reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR), xpert *C. difficile* de Cepheid®, para la detección de los genes de la toxina B, la toxina binaria y del TCDC con la delección TCDC 117 de *Clostridium difficile*.

**Resultados.** La PCR detectó 32 casos mientras que el inmunoensayo solo detectó 20. El 11.3%(17) de las muestras fueron positivas tanto por inmunoensayo como por PCR y el 74.8%(113) fueron negativas por ambas pruebas, para una concordancia del 86% (130/151). de las pruebas positivas por PCR se encontró que el 18.7% (6/32) tenían resultados probablemente correspondientes a la cepa hipervirulenta 027/nap/b1 de *Clostridium difficile*.

**Conclusiones.** La prueba de PCR en tiempo real evaluada presentó un mejor desempeño que la prueba de rutina, tuvo una mayor positividad que el inmunoensayo enzimático y adicionalmente permitió identificar cepas presuntamente hipervirulentas, que es de gran importancia para tomar medidas de control epidemiológico y manejo dirigido de la infección.

### TLP-850. Prevalencia de *Chlamydia trachomatis* en población femenina asintomática que acude a los servicios de citología de tres instituciones prestadoras de servicios de salud de la ciudad de Medellín, Colombia

Nataly Orozco\*, Elkin Hernández\*, Armando Baena\*,  
Gloria Sánchez\*, Eliana Restrepo\*

\*Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

**Introducción.** La infección de transmisión sexual causada por *Chlamydia trachomatis* es la más frecuente de etiología bacteriana en el mundo. Se estima que al año ocurren 102 millones de casos nuevos. El objetivo principal de este estudio fue determinar la prevalencia de *C. trachomatis* y su relación con factores demográficos, infecciosos, factores de conducta sexual, reproductiva, consumo de cigarrillo y resultado de la citología en mujeres asintomáticas que asistieron a los servicios de citología de tres IPS de Medellín entre 2008-2010.

**Materiales y métodos.** La población de estudio fueron 1282 mujeres. Se estandarizó una PCR casera para la detección de *C. trachomatis* que amplifica un fragmento de 495 pb del plásmido críptico. El total de muestras positivas y 10% de las muestras negativas por esta PCR, fueron procesadas por el sistema Lightmix 480 ht ng/ ct (tibmolbiol). Se realizó la evaluación del nivel de correspondencia, sensibilidad y especificidad de ambas PCR. Los análisis estadísticos se realizaron en el programa estadístico r.

**Resultados.** La prevalencia total de la infección por *C. trachomatis* entre las mujeres incluidas en el estudio fue de 4.1% (ic 95%, 2.9-5.3). Encontramos una relación significativa entre las variables edad, uso de anticonceptivos hormonales, consumo de cigarrillo y resultado de la citología con la infección por *C. trachomatis*. La concordancia entre ambas PCR fue de 88%, índice Kappa de 0.7 (valor p < 0.001); la sensibilidad y especificidad de la PCR estandarizada fue 94.1% y 87.1% respectivamente. No se encontró asociación entre las variables de conducta sexual, factores infecciosos, resultado de la citología ni con edad del primer embarazo y uso de condón con el riesgo de infección por *C. trachomatis* en la población estudiada.

**Conclusiones.** La prevalencia de *C. trachomatis* en la población de estudio utilizando la técnica de PCR fue de 4.1%, lo cual es acorde con lo reportado por la literatura mundial.

### TLP-851. Contaminación fecal por aves silvestres en espacios urbanos – potencial fuente de infección por *Campylobacter* y organismos relacionados

Luis Collado\*, Ivo Muñoz\*, Susana González\*, Leslie Valdés\*

\*Universidad austral de Chile, Chile.

**Introducción.** *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* son agentes habituales de enterocolitis en humanos. Sin embargo, últimamente otras especies del género *Campylobacter*, así como de *Arcobacter* y *Helicobacter* están tomando protagonismo como agentes de gastroenteritis. A diferencia de las especies mencionadas, cuyo principal reservorio es la microbiota intestinal de aves de corral, no se conoce con exactitud cuáles serían las vías de transmisión y reservorios de las *Campylobacterias* emergentes. Diversos estudios han demostrado que las aves silvestres pueden ser huéspedes de *C. jejuni*, *C. coli* y *C. lari*. Sin embargo, se desconoce si pudiesen portar especies emergentes. Nuestro principal objetivo fue determinar la prevalencia y diversidad de *Campylobacterias* en muestras fecales de aves silvestres excretadas en ambientes urbanos.

**Materiales y métodos.** Se analizaron 92 muestras, tomadas en plazas, paseos y parques de Valdivia-Chile entre agosto 2013 y agosto 2014. Las muestras fueron procesadas mediante enriquecimiento y siembra en medios de cultivos selectivos e incubadas en microaerofilia a 28, 37 y 42°C. Las colonias sospechosas fueron identificadas fenotípicamente y mediante métodos moleculares.

**Resultados.** El 70% de las muestras presentó una o más *Campylobacterias*. Dentro de las especies aisladas se identificaron las siguientes taxones: *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* Subsp *Lari*, *C. lari* Subsp. *Concheus*, *C. peloridis*, *C. volucris*, *C. hyointestinalis*, *Arcobacter butzleri* y *A. cryaerophilus*. Además, se encontraron dos taxones desconocidos, uno de los cuales fue descrito como la nueva especie *Helicobacter valdiviensis*, mientras el otro esta en proceso de descripción.

**Conclusiones.** A diferencia de estudios anteriores, se observó una gran diversidad de *Campylobacterias*, probablemente debido al esquema ampliado de aislamiento y las diversas temperaturas de cultivo utilizadas. Varias de estas especies han sido asociadas a infecciones emergentes en el hombre y en animales de granja. Por lo cual, las aves silvestres podrían tener un rol importante en la preservación y diseminación de estas especies.

### TLP-852. Species prevalence and biofilm formation of clinical isolates of *Candida* spp. obtained from patients with candidemia in tertiary hospitals in natal city, Brazil

Mariana Araújo Paulo de M.\*, Ana Patrícia Vieira de M.\*,  
Luciana Magalhães P.\*, Guilherme Maranhão C.\*

\*Universidade Federal Do Rio Grande Do Norte Brasil.

**Introduction.** The occurrence of candidemia in tertiary care hospitals has significantly increased in recent decades, accounting for about 80% of nosocomial fungal infections. Some factors, such as intravenous catheters and parenteral nutrition, contribute to the establishment of these infections. The epidemiology of candidemia has been changing over the past two decades, with an increase in the number of infections caused by non-*Candida albicans* *Candida* species (NCAC). This study aims to evaluate the distribution of species and the ability of biofilm formation of clinical isolates of *Candida* spp. Obtained from blood cultures of patients with candidemia.

**Materials and methods.** We analyzed 23 isolates of *Candida* spp. Obtained from blood cultures of hospitalized patients seen at the university hospital onofre lopes and hospital Luiz antônio, between august 2011 and may 2013. Yeasts were identified by chromagar *Candida*®, microculture in cornmeal agar added tween 80 and classical methods (assimilation and fermentation of carbohydrates) and were phenotypically characterized for their ability to form biofilm on polyethylene microplates. **Results.** *C. albicans* was the most prevalent species (n = 11, 47.8%), followed by *Candida tropicalis* (n = 5, 21.7%) and the *Candida parapsilosis* species complex (n = 4, 17.4%). We obtained a single isolate each of *Candida krusei*, *Candida glabrata* and *Candida lusitanae* (4.35%). The average of biofilm formation readings was  $0.362 \pm 0.471$ .

**Conclusions.** It was observed that *C. tropicalis* strains showed a greater ability to form biofilm ( $0.803 \pm 0.274$ ), followed by the *C. parapsilosis* species complex and *C. albicans*. Ncsc strains showed a significantly greater ability to form biofilm compared to *C. albicans*. Our data suggest that, despite the increase in the frequency of isolation of ncsc, *C. albicans* is still the most prevalent species. Nevertheless, ncsc species showed its pathogenic potential through high capacity of biofilm formation.

### TLP-853. Caracterización de cepas de *Escherichiacoli* aisladas desde biopsias intestinales de pacientes con enfermedad de Crohn

Waleska Saitz R.\*, Sandra Céspedes\*, Paz Orellana\*, Daniela Araya\*, Marjorie de La Fuente\*, Felipe Del Canto\*, Marcela Hermoso\*, Ramón Rosselló-Móra\*, Roberto Vidal\*

\*Universidad de Chile, Chile.

**Introducción.** *Escherichia coli* es un microorganismo que se ha asociado fuertemente con la patogénesis de la Enfermedad de Crohn (EC), patología que se caracteriza por una inflamación crónica del tracto gastrointestinal y cuya etiología exacta se desconoce. Gran parte de las cepas de *E. coli* aisladas desde pacientes con EC pueden adherirse e invadir células epiteliales, sobrevivir en el interior de macrófagos y no poseen factores de virulencia clásicos de patotipos de *E. coli* diarreogénicas, siendo denominadas como *Escherichiacoli* adherente invasivas (ECAIS). El objetivo de este estudio fue caracterizar una colección de cepas de *E. coli* aisladas desde pacientes con Enfermedad de Crohn.

**Materiales y métodos.** Para ello se analizó la clonalidad de estas cepas mediante electroforesis de campo pulsado (PFGE), se determinó el grupo filogenético y la distribución de factores de virulencia propios de *E. coli* extraintestinales (EXPEC) y otros enteropatógenos, mediante PCR. Además, se secuenció fimh con el fin de detectar mutaciones descritas en ECAI que se asocian con una mayor capacidad de adhesión al receptor CEACAM6 de células epiteliales intestinales.

**Resultados.** En el dendrograma obtenido a partir del PFGE se observa una alta variabilidad genética entre las cepas estudiadas (similitud ~ 55%), las cuales pertenecen mayoritariamente al filogrupo B2 (43%) y d (43%). En cuanto a los factores de virulencia, los más frecuentes fueron FHU2 (21/21), IRP2 (18/21), CHUA (18/21) (asociados con la captación de hierro) y FIMH (21/21) (adhesina del pili tipo I). Al analizar la secuencia de FIMH se detectaron sustituciones (por ej. V27A, N70S, S78N y R166H) que se ha visto afectan la virulencia de ECAI.

**Conclusiones.** A pesar de la alta diversidad genética de las cepas de *E. coli* obtenidas de pacientes con EC, gran parte de ellas presentan similitud en el contenido de genes que participan en la captación de hierro y mutaciones características en FIMH.

### TLP-854. Aislamiento y caracterización molecular de *Vibrio* spp. en cócteles de mariscos listos para consumo en Tabasco, México

Rosa Lilia Guzmán\*, Araceli Contreras\*, Ahide López\*, Rosa Margarita Hernández\*, Madahi Hernández\*, Iza Pérez\*, Teresa Estrada\*

\*Depto. de Biomedicina Molecular Del CINVESTAV-IPN Mexico.

**Introducción.** Las bacterias del género *Vibrio* son agentes causales de enfermedades transmitidas por alimentos, en particular con el consumo de pescados y mariscos crudos o parcialmente cocidos. Tabasco es uno de los principales estados productores de mariscos y el segundo productor de ostión en México. Objetivo general. Determinar la presen-

cia y realizar la caracterización molecular de *Vibrio* spp. En cócteles de mariscos listos para el consumo en Villahermosa, Tabasco.

**Materiales y métodos.** Durante las 4 estaciones del 2013 se recolectaron cócteles de ostión y camarón (natural y preparado) de dos puestos de venta callejera y de dos locales establecidos. El aislamiento de *Vibrio* spp. Se realizó por métodos descritos por la BAM y su identificación por oxidasa, crecimiento en NaCl (0%,3%, y 6%) y sistema API 20e. En las cepas de *V. cholerae* se realizó la identificación del serogrupo O1 y de los serotipos INABA y OGAWA. Todas las cepas se caracterizaron molecularmente por PCR para el gen RPOA y además los aislados de *V. cholerae* y *V. mimicus* para el gen CTXA.

**Resultados.** Se analizaron un total 45 muestras, de 29 (64%) se aislaron cepas de *Vibrio* (9 de ostión y 20 de camarón; 12 natural y 8 preparado) el porcentaje de muestras positivas fue similar entre los 2 tipos de locales. 16 muestras tuvieron *V. parahaemolyticus* (5 de ostión, 6 camarón natural y 5 de preparado). En 13 muestras se aisló *V. cholerae* no O1 las cuales se identificaron principalmente en verano y en otoño de una muestra de camarón natural un *V. cholerae* O1 serotipo inaba. De las 76 cepas aisladas 71 amplificaron al gen RPOA y ninguna al CTXA.

**Conclusiones.** La presencia de *Vibrio* en estos alimentos, representa un riesgo potencial para la salud de los consumidores y los datos sugieren una posible contaminación de origen.

### TLP-855. Análise microbiológica de caldos de cana comercializados em vias públicas no município de São Lourenço da Mata – PE / Brasil

Aurenice Pontes Loio V.\*, Laiza de Oliveira P.\*, Elisângela Ivone Da S.\*, Ana Carolina Barbosa\*

\*Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil.

**Introdução.** O caldo de cana ou garapa é uma bebida popular, nutritiva, saborosa e barata que é comercializada nas ruas por ambulantes que possuem moendas para a extração. Por ser um alimento rico em sacarose, de baixa acidez (5,0 a 5,5), favorece ao crescimento microbiano. Objetivo geral: avaliar a qualidade físico-química e microbiológica do caldo extraído de toletes de cana-de-açúcar.

**Materiais e métodos.** Foram coletadas 40 amostras de caldo de cana em cinco estabelecimentos ambulantes no centro da cidade de São Lourenço da Mata a 19,7 km da capital pernambucana, entre os meses de maio a julho de 2014. As análises microbiológicas realizadas, de acordo com Kornacki e Johnson (2001), foram o número mais provável (NMP) de coliformes a 35°C e a 45°C (nmp/mL). Para a determinação do pH foi usado o medidor de pH digital de bancada ITPH-2300 seguindo a metodologia proposta por carvalho (1990).

**Resultados.** Os dados preliminares constataram que 62,5% em relação a coliformes termotolerantes, em observância aos padrões legais vigentes, onde determina um limite de 102 para coliformes a 45°C. pesquisas revelam relatos de infecções alimentares causadas pelo consumo de caldo de cana. Constatou-se que dos 37,5% próprios ao consumo, 7,5% ficaram abaixo de < 3 nmp/mL em relação aos coliformes termotolerantes. Em relação à análise físico-química de pH foi observado amostras entre 4,5 e 5, por conter quantidades expressivas de nutrientes orgânicos e inorgânicos e alta atividade de água pode servir de substrato para o crescimento de microrganismos.

**Conclusões.** De acordo com os resultados encontrados observamos a presença expressiva de amostras com coliformes a 45°C em desacordo com a legislação Brasileira, evidenciando falhas de processamento para obtenção do caldo de cana nos locais pesquisados.

### TLP-856. Caracterização do perfil clonal de *Staphylococcus aureus* provenientes de detentos de uma penitenciária do interior do estado de São Paulo, Brasil

Daniilo Flávio Moraes R.\*, Camila Sena Martins de S.\*, Claudia de Lima W.\*, Carlos Magno Castelo Branco F.\*, Maria de Lourdes Ribeiro de Souza Da C.\*

\*UNESP-Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Departamento de Microbiologia E Imunologia, Instituto de Biociências, Botucatu/SP-Brasil. 2 FMB-Faculdade de Medicina, Departamento de Doenças Tropicais, Botucatu/SP-Brasil.

**Introdução.** *Staphylococcus aureus* pode ser um problema quando os indivíduos são mantidos muito próximos como em ambientes priso-

nais, tornando essencial práticas de controle da propagação de *S. aureus* resistente a metilicina (MRSA) objetivo. Detectar os isolados resistentes a metilicina, caracterizar o SCCmec e o perfil clonal em 50 isolados de swab nasal de *S. aureus* obtidos de presidiários do interior do estado de São Paulo, Brasil.

**Materiais e métodos.** O gene de resistência (meca) foi detectado através da polymerase chain reaction (PCR), SCCmec através da PCR multiplex, o perfil clonal dos isolados MSSA e MRSA foi caracterizado por pulsed field gel electrophoresis (PFGE) e a tipagem molecular dos MRSA por multilocus sequence typing (MLST) e spa typing.

**Resultados.** Apenas dois isolados carregavam o gene MECA e ambos albergavam o SCCmec tipo IV. A técnica de PFGE dos isolados sensíveis foi possível observar a presença de 4 clusters, agrupando amostras isoladas de presidiários que realizam trabalhos em conjunto, mesmo alojamento ou provenientes da mesma unidade prisional de origem. Porém, não houve agrupamentos entre os resistentes. Na técnica de MLST ambos isolados resistentes foram identificados como ST5 (CC5), característico da comunidade.

**Conclusões.** Conclusão. Apesar dos isolados resistentes apresentarem spa type distintos (t002 e t1062), é possível afirmar que são provenientes do mesmo clone já que a diferença entre ambos é apenas mutação em uma base de um repeat da sequência. A presença de agrupamentos de isolados sensíveis e um único clone originando ambos isolados resistentes demonstram a necessidade de estudos relacionados à colonização nasal de detentos a fim de criar novas estratégias para o controle e prevenção de infecções, uma vez que os detentos partilham objetos pessoais e vivem em ambientes com grande concentração de pessoas, favorecendo a transmissão de *S. aureus* podendo causar infecções na população carcerária que podem ser disseminadas para a comunidade.

### TLP-857. Caracterización de la tuberculosis en canarias: consideraciones epidemiológicas

Antonio Andrés Quesada S.\*, Soledad Sánchez M.\*, Wilber Romero F.\*, Marta Calatayud\*, Carmen Viteri\*

\*Grupo de Investigación, Desarrollo e Innovación Biomédica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Técnica de Ambato, Ecuador.

**Introducción.** La tuberculosis afecta a más de 10 millones de personas al año, produciéndose principalmente en países pobres y en colectivos de riesgo (desnutrición, hacinamiento, alcoholismo, drogadicción, reclusos). En España la incidencia es mayor que en otros países de su entorno, por tanto, si no se puede garantizar la curación de los enfermos tratados, se está asumiendo el riesgo de generar resistencias. El objetivo es documentar los casos de tuberculosis en los últimos 7 años en la población de Tenerife (Canarias), así como, conocer la tasa de resistencia a isoniácida y rifampicina en las cepas aisladas.

**Materiales y métodos.** Se realizó un estudio retrospectivo a partir de los casos de tuberculosis positivos. La identificación y micobiograma se hizo mediante técnicas de hibridación con sondas (gen-PROBE, Biomerieux, Francia), a partir del aislamiento de las micobacterias del medio sólido Lowenstein-Jensen. Los resultados fueron procesados por el sistema informático SPSS V15.

**Resultados.** Se identificaron 379 casos *Mycobacterium tuberculosis complex* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*), en una población mayoritariamente masculina (67.15%), con una media de edad de 50 años y una localización esencialmente pulmonar (97.8%), el porcentaje de baciloscopias positivas fue del 54.5%, siendo la resistencia a isoniácida del 2.7%, y la multiresistencia (isoniácida y rifampicina) del 3.52%.

**Conclusiones.** La prevalencia de tuberculosis se mantiene constante a lo largo del periodo de estudio, destacando la baja incidencia de multiresistencia y en consecuencia un adecuado tratamiento y seguimiento de la enfermedad. No obstante, los parámetros epidemiológicos nos indican que todavía nos hallamos lejos del nivel de otros países de nuestro entorno.

### TLP-858. Epidemiologia molecular da tuberculose pulmonar na região norte de Minas Gerais, Brazil

Hugo David\*, Karina Andrade de P.\*, Luçandra Ramos Espirito-Santo\*, Adolfo Carlos Barreto S.\*, Clarice Queico Fujimura L.\*

\*Faculdades de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, São Paulo, Brasil. Faculdades Integradas Pitágoras de Montes Claros, FIP-MOC, Minas Gerais, Brasil E Laboratório de Micobacteriologia.

**Introdução.** Ferramentas moleculares têm sido amplamente utilizadas para caracterizar isolados de *Mycobacterium tuberculosis*, com o objetivo de melhorar a compreensão da epidemiologia da tuberculose. Assim, o objetivo desse estudo foi estudar a epidemiologia molecular da tuberculose pulmonar na região norte de Minas Gerais, no período de janeiro de 2011 a dezembro de 2012.

**Materials and methods.** Foram analisados 33 isolados clínicos de *M. tuberculosis* provenientes de pacientes com tuberculose pulmonar, atendidos no hospital universitário Clemente de Faria. Estes foram submetidos a identificação molecular e, a genotipagem pelas técnicas de spoligotyping, rDRIO, eric-PCR e miru-vnr.

**Results.** A análise através da técnica de spoligotyping permitiu a identificação de 22 perfis genéticos distintos (66,7% diversidade genética). Dentre os perfis encontrados 15 (45,5%) pertencem a família Lam, 04 (18,2%) a família T, 01 (3,0%) a família Haarlen (h), 08 (24,2%) ao perfil undesignated (u) e 03 (9,1%) foram designados como perfis novos. Os isolados da família Lam foram avaliados quanto a deleção rDRIO e 10 (66,7%) apresentaram tal perfil de virulência. Em relação ao eric-PCR, 18 (54,5%) isolados foram agrupados em 09 grupos com mais de 96% de similaridade e no miru-VNTR 12-loci, 16 (48,5%) isolados foram agrupados em 08 grupos com mais de 90% de similaridade. Pela associação das técnicas de eric-PCR e de miru-VNTR, 12 isolados (26,4%) foram agrupados em 06 grupos com mais de 90% de similaridade. No entanto 2 grupos genéticos foram identificados por ambas as técnicas, sugerindo que estas apresentam sensibilidade semelhante na discriminação das diversidades genéticas.

**Conclusions.** Este estudo foi importante para traçar relações entre os isolados de *M. tuberculosis*, podendo assim, ajudar a interromper a cadeia de transmissão da tuberculose através da identificação dos perfis genéticos encontrados. Um período mais longo de estudo é fundamental para uma melhor compreensão da doença na região.

### TLP-859. Prevalencia de bacterias patógenas en vías altas respiratorias de alumnos con y sin práctica odontológica UAO/UAZ, México

Josè Jesùs Muñoz E. \*, Perla Zacil Cab O. \*, Kristian Miguel Márquez C. \*, Claudia Maldonado T. \*, María Alejandra Moreno G. \*

\*Universidad Autónoma de Zacatecas, México.

**Introducción.** Las infecciones de vías respiratorias altas en humano, se han incrementado con cambios bruscos de temperatura. En el área odontológica, el conocimiento de estas es de importancia, los alumnos están en contacto directo con los pacientes como parte de su formación. Objetivos: comparar la prevalencia y tipo de bacterias patógenas en vías altas respiratorias en alumnos con práctica odontológica (3°- 10° semestre), y sin práctica odontológica (1° y 2° semestre).

**Materiales y métodos.** Se procesaron aleatoriamente 536 muestras de exudados faríngeos (436, 65% de alumnos con práctica odontológica, y 100 35% sin ella). Las muestras se inocularon en tubos con caldo BHI e incubaron 24 h. A 37°C; se sembraron en agar sangre de borrego al 5%, agar eosina azul de metileno, agar Mac Conkey, agar *Salmonella*-shigella y agar sal manitol; se incubaron 24-48 h, a 37°C, se observó morfología colonial y en su caso hemólisis., a las colonias aisladas de cada medio de cultivo se les efectuó frotis, tinción al gram, observación de morfología celular, agrupación, afinidad al gram, y pruebas bioquímicas adicionales.

**Resultados.** En los alumnos con práctica odontológica se aislaron: *Staphylococcus aureus* un 20.8%, *Klebsiella* sp. 8.4%, *Streptococcus* β-hemolítico 7.6%, *S. α*-hemolíticos 7.6%, *Salmonella* sp. 5.6% y *Escherichiacoli* un 4%, a los alumnos sin práctica clínica, se les aisló *S. aureus* un 13.8%, *Klebsiella* sp. 2.6%, *S. β*-hemolítico un 15.7%, *S. α*-hemolíticos 7.6%, *Salmonella* sp. 6% y *E. coli* un 5%.

**Conclusiones.** Se identificaron diferentes bacterias patógenas, en alumnos con y sin práctica clínica lo cual es un riesgo para los pacientes con enfermedad crónica degenerativa e inmunosupresión. Se recomienda que todos los alumnos que ingresen a la unidad de odontología se les realicen este estudio para evitar infecciones cruzadas y mantener su propia salud.

## TLP-860. Conhecimento e atitudes dos trabalhadores que manuseiam resíduos em uma instituição pública de atenção odontológica

Cristina Vieira\*, Thaysa Tagliaferri\*, Maria Auxiliadora Carvalho\*, Camilla Oliveira\*, Paula Magalhães\*, Simone Santos\*, Luiz Farias\*

\*Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.

**Introdução.** Resíduos infectantes são definidos como aqueles que contêm patógenos em concentração ou quantidade suficientes para causar doença em hospedeiros susceptíveis. Os trabalhadores que entram em contato com estes resíduos, nos serviços de saúde, estão potencialmente expostos a este risco. O presente estudo objetiva avaliar o conhecimento e as práticas dos trabalhadores que manuseiam os resíduos infectantes em um serviço de saúde.

**Materiais e métodos.** Foi aplicado a todos os trabalhadores de um serviço público de atenção à odontológica um questionário contendo 34 questões, abordando aspectos sociodemográficos; embalagem, descarte e gerenciamento dos resíduos; participação em treinamentos sobre medidas de segurança, como o uso de equipamento de proteção individual e vacinação.

**Resultados.** A equipe era composta por 12 trabalhadores (um homem e 11 mulheres), com idade entre 30-57 anos, dos quais 66,6% possuíam ensino primário incompleto. Todos os trabalhadores afirmaram possuir conhecimento sobre a forma correta de embalagem para descarte dos resíduos infectantes e não infectantes e acreditar na existência de micro-organismos e na transmissão de doenças infecciosas a partir de sua prática laboral. Bactérias foram mencionadas por 33,3% dos profissionais como o agente envolvido no processo de adoecimento a partir do contato com resíduos. Todos os profissionais também afirmaram utilizar luvas de borracha, toucas, máscaras, óculos de proteção, botas de borracha e uniforme. Afirmaram, ainda, atender às normas de lavagem de mãos, realizando o procedimento antes e depois do trabalho, do uso das instalações sanitárias e antes de ingerir alimentos. Apesar de toda a equipe afirmar ter recebido vacinação contra tétano e hepatite B, apenas dois funcionários (16,7%) haviam realizado o exame anti-HBS.

**Conclusões.** O presente estudo revela a necessidade de intensificar a implementação de programas de treinamentos abordando a problemática do manuseio dos resíduos. Percebe-se, também, a necessidade de discutir o tema vacinação e suas implicações. Apoio financeiro: fapemig; CNPQ; capes; PRPQ/UFMG.

## TLP-861. Identificação molecular de espécies de *Candida* isoladas de pacientes com diferentes enfermidades em Alagoas, Brasil

Jacqueline Melo\*, Evyslayny Magalhães\*, Eurípedes Silva-Filho\*, Maria Anilda Araújo\*, Denise Silva\*, Fernanda Maranhão\*

\*Universidade Federal de Alagoas, Brasil.

**Introdução.** Leveduras do gênero *Candida* são responsáveis pela maioria das micoses oportunistas em seres humanos, sendo *C. albicans* a espécie mais frequente, causando infecções de leve a graves. Objetivamos identificar cepas de *Candida* spp. Obtidas de pacientes atendidos em hospitais e ambulatórios de Maceió (Alagoas, Brasil).

**Materiais e métodos.** Coleta de acordo com o sítio anatômico para cultivos em meio sabouraud, sendo as positivas subcultivadas em meio cromogênico hícrome *Candida*® (himedia). Foi feita extração do ADNA das amostras confirmadas com fenol-clorofórmio para a PCR com primers espécie-específicos e eletroforese em gel de agarose (100 volts por 60'; tbe 0,5x) dos amplicons.

**Resultados.** Obtivemos 243 cepas de *Candida* spp. Oriundas de secreção vaginal (37%), seguida de urocultura (32%) e hemocultura (7%). Até o momento, 121 cepas foram identificadas em meio cromogênico como *C. albicans* (49,8%), *C. tropicalis* 26 (10,7%), *C. glabrata* 21 (8,6%) e *C. krusei* 12 (4,9%), sendo que 58 (23,9%) não puderam ser identificados com colorações características. Após a amplificação de 78 isolados, foram confirmadas 57 cepas como *C. albicans* (73,1%), 16 *C. tropicalis* (20,5%), 3 como *C. krusei* (3,8%) e 2 sendo *C. glabrata* (2,6%). Houve concordância entre as identificações fenotípica e molecular para 76 dos 78 isolados avaliados, havendo continuidade para identificação de todas as amostras.

**Conclusões.** A PCR identificou cepas mais rapidamente que no meio cromogênico e com menos erros, inclusive de *C. glabrata*, espécie

emergente que vem adquirindo mais importância devido à resistência a antifúngicos, e que pode ter identificação duvidosa em meio. Embora haja maior gasto financeiro com PCR, sua aplicação na rotina seria recomendada para diagnóstico mais rápido e tratamento mais eficiente, havendo retorno financeiro pela economia de tempo para identificar mais amostras, beneficiando mais pacientes. A identificação molecular das cepas estão em curso e recebemos amostras continuamente.

## TLP-862. Yeasts prevalence in pigeon droppings obtained from hospital area and public square in natal city, Brazil

Luciana Magalhães P.\*, Mariana Araújo Paulo de M.\*, Walicyranison Plínio Da Silva R.\*, Guilherme Maranhão C.\*

\*Universidade Federal Do Rio Grande Do Norte Brasil.

**Introduction.** Pigeons have been considered as one of the main reservoir for pathogenic yeasts, including *Cryptococcus neoformans*, an opportunistic yeast that mainly affects immunocompromised patients. This study aims to evaluate the prevalence of yeasts obtained from pigeon droppings collected in public urban areas of natal city, Brazil.

**Materials and methods.** We collected 13 samples of pigeon droppings from external areas of a university hospital between april 2012 and february 2014, while three samples of the same material were collected in a public square, in march 2014. Yeasts were isolated and identified by chromagar *Candida*®, microculture in cornmeal agar added tween 80, evaluation of capsule production using india ink, urease test and classical methods (assimilation and fermentation of carbohydrates), besides evaluation of melanin production in agar *Niger* by *Cryptococcus* spp. Strains.

**Results.** We obtained 191 yeast isolates from samples of the surroundings of the hospital, identified as *Trichosporon* spp. (n=46; 24.1%), *Rhodotorula* spp. (n=41; 21.5%), *Candida parapsilosis* species complex (n=23; 12%), *Candida tropicalis* (n=21; 11%), *Candida krusei* (n=17; 9.9%), *Candida* spp. (n=19; 9.9%), *Cryptococcus* spp. (n=13; 6.8%), isolates suggestive of *Sporobolomyces* spp. (n=3; 1.6%), *Exophiala* spp. (n=3; 1.6%), *Candida glabrata* (n=3; 1.6%), *Candida rugosa* (n=1; 0.5%), and *Geotrichum* spp. (n=1; 0.5%). Among the 74 yeast isolates obtained from the square samples, there were 17 isolates of *exophiala* spp. (23%), 13 isolates of *Cryptococcus* spp. (17.6%), 12 of *Trichosporon* spp. (16.2%), 12 isolates of *Candida* spp. (16.2%), 11 isolates of *rhodotorula* spp. (14.9%) and 9 isolates suggestive of *Sporobolomyces* spp. (12.2%).

**Conclusions.** The proportion of species and genera of yeasts varied greatly among the different sites evaluated, although strains of *Cryptococcus* spp. Were present in relatively high proportions in both locations. Our data confirm that pigeons are a source of several pathogenic yeasts.

## TLP-863. Incidência e perfil epidemiológico da dengue em Montes Claros, Minas Gerais, Brasil

Hugo David\*, Karina Andrade de Prince\*, Andrey Campos R.\*, Janine Andressa Costa\*, Franklin Rodrigues P.\*, Juliana Costa\*, Malu Flores F.\*, Jackson Andrade F.\*

\*Faculdades de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, São Paulo, Brasil. Faculdades Integradas Pitágoras de Montes Claros, FIP-MOC, Minas Gerais, Brasil E Laboratório de Micobacteriologia.

**Introdução.** A dengue é uma arbovirose que tem causado preocupação por ser um problema de saúde pública mundial. Os países tropicais são os mais atingidos em função de suas características ambientais, climáticas e sociais. O presente estudo teve por objetivo descrever a incidência e o perfil epidemiológico da dengue na cidade de montes claros, entre os anos de 2003 e 2012.

**Materiais e métodos.** Foi realizado um estudo de caráter observacional, retrospectivo e de delineamento quantitativo. A amostra foi composta por todas as notificações de dengue ocorridas no município, no período de janeiro de 2003 a dezembro de 2012. As informações foram obtidas a partir do site do departamento de informática do sus. As variáveis estudadas foram as sócio-demográficas e clínicas. Os dados foram analisados utilizando o programa statistical pockage for the social sciences para windows, versão 15.0.

**Resultados.** De acordo com os dados analisados foram notificados, 12095 casos de dengue no município. Assim, a incidência da doença va-

riou de 3,57 a 1884,95 casos por 100 mil habitantes. O pico da incidência foi no ano de 2010. Em relação à análise dos dados sócio-demográficos dos pacientes com dengue, 55,72%, pertenciam ao sexo feminino e 44,27%, ao sexo masculino. A faixa etária variou de 0 a > 60 anos de idade, com predominância de 46,33% dos pacientes com idade entre 20 a 39 anos. A etnia parda predominou em relação às demais com 51,23% dos pacientes notificados. Quanto aos critérios de confirmação e/ou descarte da dengue, 75,70% foram realizados mediante os critérios clínicos e epidemiológicos e, 15,83% por meio laboratorial.

**Conclusões.** Essas informações devem ser utilizadas para orientar as ações de controle, bem como a emissão de alertas precoces tanto para o sistema de vigilância como para a assistência aos pacientes com dengue e a população em geral.

### TLP-864. Evaluación serológica y bacteriológica posterior a un brote de brucelosis humana en una zona endémica de México

Ahidé López M.\*, Rosario Morales G.\*, Xani Morales O.\*, Eduardo Jiménez\*, Araceli Contreras R.\*

\*Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. México.

**Introducción.** La brucelosis, causada principalmente por *Brucella melitensis* y *B. abortus*, se encuentra distribuida en el ganado caprino y bovino en muchas entidades de México en las que genera pérdidas económicas de gran importancia para la ganadería y tiene impacto de consideración en la salud pública. El estado de Guanajuato ha sido, en la última década, uno de los que reporta mayor número de casos humanos. Por ello, el objetivo de este estudio, fue estudiar a la población humana de una localidad de Guanajuato, en la que previamente se había presentado un brote de brucelosis que enfermó a gran parte de la población.

**Materiales y métodos.** Se estudiaron 107 voluntarios que aceptaron participar en un estudio serológico para investigar la existencia de brucelosis empleando las técnicas de rosa de bengala (RB), aglutinación estándar (AEM) y con 2 mercaptoetanol (AMEM) y la prueba de Brucellacapt. Además se efectuaron 15 hemocultivos a aquellos individuos que no estuvieran bajo tratamiento antibiótico.

**Resultados.** Resultaron positivos tanto a la prueba de rb como a la de AEM 68/107 individuos, de los cuales 52 también resultaron positivos a la prueba de Amem. La prueba de Brucellacapt identificó a individuos crónicos que tenían títulos bajos en las pruebas convencionales. En 10/15 hemocultivos se aisló *B. melitensis* bv 1. El estudio efectuado reveló que 52/107 individuos presentaban enfermedad activa; se detectaron 15 individuos que cursaban brucelosis crónica y otros que recién se habían infectado.

**Conclusiones.** La prueba de Brucellacapt fue de utilidad para detectar a los individuos crónicos. El brote de brucelosis producido por *B. melitensis* no se pudo controlar, debido a que no se eliminó la fuente del problema, que era leche cruda y queso de cabra de tipo artesanal, llevado por vendedores ambulantes a la localidad para su venta.

### TLP-865. *Saccharomyces cerevisiae* UFMG A-905 enriquecida con selênio reduz os efeitos inflamatórios e melhora os aspectos clínicos da retocolite ulcerativa induzida por dss em camundongos

Bárbara Abranches de Araujo P.\*, Silvia Helena Sousa Pietra P.\*, Luciana Mara Costa-Moreira\*, Fabiana Da Conceição Pereira T.\*, Lorrana Thais Maximo Durville B.\*, Maria José Neves\*, Flaviano Dos Santos\*

\*Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) Brasil.

**Introdução.** O selênio (se) é um elemento traço que pode ser incorporado pelas células e formar compostos com propriedades antioxidantes, como as selenoproteínas. Esses compostos são relevantes na regulação/terapia de doenças em que a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) está aumentada, como é o caso das doenças inflamatórias intestinais, especialmente a retocolite ulcerativa (RCU). O objetivo desse trabalho foi avaliar se um potencial probiótico caracterizado por nosso grupo, *Saccharomyces cerevisiae* ufmg a-905, conseguiria incorporar o selênio e se ela poderia ser utilizada com segurança para tratar animais com rcu induzida por dextrano sulfato de sódio (DSS).

**Materiais e métodos.** Nós avaliamos a maior concentração de selênio que a levedura poderia incorporar sem causar prejuízo ao seu crescimento. Em seguida, administramos 108 ufc da levedura enriquecida com se a animais BALB/C por gavagem, durante 17 dias. No 10º dia, iniciou-se a indução da doença com a administração de DSS (3,5%) na água dos animais e seguiu-se a administração por sete dias. Os camundongos, então, foram anestesiados, eutanasiados e o cólon foi retirado para análises imunológicas

**Resultados.** Os resultados revelaram que a concentração de 0,1 mm de se não danifica a célula da levedura e que sc-905 com se causa diminuição dos danos causados pelo dss. O cólon dos animais que receberam sc-905 com selênio apresentou menor infiltrado eosinofílico e neutrofílico, medido a partir da atividade da peroxidase eosinofílica e mieloperoxidase, respectivamente, quando comparado aos animais que receberam apenas DSS (p<0,05). Além disso, os animais que receberam a levedura com se tiveram uma melhora clínica significativa quando comparados aos animais que não receberam a levedura (p<0,05).

**Conclusões.** Concluimos, portanto, que *Saccharomyces cerevisiae* UFMG a-905 enriquecida com se representa um agente terapêutico promissor para o tratamento da retocolite ulcerativa.

### TLP-866. Infecção pulmonar por *Pseudomonas aeruginosa* em pacientes com fibrose cística em um centro de referência no Brasil: monitoramento da resposta de anticorpos

Renan M. Mauch\*, Cláudio L. Rossi\*, Antônio F. Ribeiro\*, José D. Ribeiro\*, Marcos T.N. Da Silva\*, Carlos E. Levy\*

\*Universidade Estadual de Campinas Brasil.

**Introdução.** A fibrose cística é uma doença genética caracterizada pela desidratação das secreções de órgãos epiteliais, tendo como principal manifestação a infecção pulmonar por *Pseudomonas aeruginosa*. Porém, o diagnóstico desta infecção por meio da cultura microbiológica de material respiratório muitas vezes é difícil, devido à falta de um espécime clínico representativo. Nesse estudo, buscamos avaliar o valor diagnóstico e prognóstico de um método sorológico para detecção de anticorpos igg anti-*P. aeruginosa*, em um estudo longitudinal.

**Materiais e métodos.** 78 pacientes foram classificados de acordo com seus perfis de colonização/infecção por *P. aeruginosa* (Lee et al., 2003) e seus títulos de anticorpos foram avaliados em diferentes períodos de coleta de amostra, por meio de uma técnica de ELISA previamente padronizada com um pool de 64 antígenos de 17 diferentes sorotipos de *P. aeruginosa*.

**Resultados.** Houve aumento progressivo dos títulos de anticorpos nos pacientes com o passar do tempo, sendo possível detectar a presença da infecção até 15 meses antes do isolamento de *P. aeruginosa* em cultura microbiológica. Pacientes com títulos de anticorpos positivos no início do estudo apresentaram risco três vezes maior de evolução no perfil de colonização/infecção por *P. aeruginosa*. Pacientes com cultura positiva no início do estudo apresentaram títulos de anticorpos significativamente maiores em 2 de 4 períodos de coleta de amostras.

**Conclusões.** A pesquisa de anticorpos pode ser uma ferramenta diagnóstica útil para a detecção precoce da infecção pulmonar por *P. aeruginosa* na fibrose cística, complementando resultados microbiológicos, o que poderá permitir a intervenção precoce com antibióticos e prolongar a função pulmonar dos pacientes.

### TLP-867. Obtención de fracciones peptídicas con potencial actividad leishmanicida a partir de larvas de *Galleria mellonella*

Isabel Andrea Patiño M.\*, Edwin Patiño G.\*, Fabián Cotés M.\*, Marcela Manrique M.\*

\*Universidad de Antioquia Colombia.

**Introducción.** *Galleria mellonella* es un modelo biológico ampliamente utilizado para el estudio de agentes infecciosos. La larva de *Galleria* expresa un conjunto de péptidos y proteínas como respuesta a la invasión de un microorganismo patógeno. Se ha observado que las proteínas expresadas en la hemolinfa de las larvas luego de la inmunización con bacterias y hongos difieren en composición y actividad. Actualmente se estudia el uso de péptidos antimicrobianos para el tratamiento de enfermedades

como la *Leishmaniasis* que han desarrollado resistencia a los medicamentos actuales. Por esta razón, la hemolinfa de larvas de *Galleria* tomadas con promastigotes de leishmania ofrece la oportunidad de aislar péptidos o proteínas con actividad antiparasitarias. Objetivo general: implementar a *Galleria mellonella* como organismo modelo para la obtención de fracciones peptídicas con potencial actividad leishmanicida. **Materiales y métodos.** Las larvas fueron criadas con una dieta a base de miel, cera de abejas y trigo, a 30°C y en la *Escherichia coli*. Se usaron larvas de 250 mg de peso que fueron inoculadas con suspensión de parásitos de *Leishmania panamensis* a diferentes concentraciones. La hemolinfa recolectada fue analizada por SDS-page, electroforesis bidimensional y las fracciones peptídicas se obtuvieron por cromatografía líquida en fase reversa.

**Resultados.** Se pudo observar que luego de la inmunización de las larvas de *Galleria* con promastigotes de leishmania hay diferencias en la expresión de proteínas respecto a las larvas control (sin inmunizar con parásitos).

**Conclusiones.** La inmunización de larvas con promastigotes de leishmania indujo la expresión diferencial de proteínas que se generan como respuesta al reto inmunológico, estas proteínas que no están presentes en larvas control podrían tener actividad leishmanicida.

### TLP-868. Caracterización molecular de dos pacientes Colombianos con susceptibilidad mendeliana a infecciones por micobacterias (MSMD) con defectos en el IFNGR1 y el IL12RB1

Andrés Augusto Arias S.\*, Daniel González L.\*, José Luis Franco R.\*, Julio Cesar Orrego A.\*, Jacinta Bustamante\*, Jean-Laurent Casanova\*, Francesca Conti\*, Jessica Rojas\*, Claudia Milena Trujillo\*

\*Grupo de Inmunodeficiencias Primarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

**Introducción.** La susceptibilidad mendeliana a las infecciones por micobacterias (MSMD) se caracteriza por la presencia de infecciones causadas por micobacterias ambientales de baja virulencia o por el bacilo de Calmette-Guerin (BCG). No obstante, estos pacientes también sufren enfermedad diseminada por *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). Algunos pacientes también desarrollan infecciones por *Salmonella* no tifoidea y *Candida* sp. Este síndrome es genéticamente heterogéneo y se han identificado mutaciones en varios genes que controlan el circuito de IL-12 e IFN- $\gamma$ ; en otros casos se desconoce su genotipo. Las mutaciones más comunes se encuentran en los genes: IFNGR1, IFNGR2, STAT1, IL12B, IL12RB1, IRF8, NEMO y CYBB. En Colombia no se han realizado estudios que caractericen molecularmente este tipo de pacientes.

**Materiales y métodos.** A partir de sangre periférica de dos pacientes pediátricos (p1 y p2) con hallazgos clínicos compatibles con MSMD se obtuvo ADN genómico y células mononucleares de sangre periférica (PBMC). De los PBMC se obtuvieron líneas celulares inmortalizadas con el virus de Epstein-Barr. A partir del ADN, se buscaron mutaciones en los genes conocidos relacionados con MSMD mediante secuenciación del exoma (WES) y secuenciación dirigida convencional. El efecto de la mutación se validó mediante inmunoensayos y citometría de flujo (FACS).

**Resultados.** El p1 presentó enfermedad diseminada por *M. tuberculosis*, se encontraron niveles altos de IFN- $\gamma$  en el plasma y a nivel genómico se detectó la mutación I87T en el gen IFNGR1 que conduce a una forma autosómica recesiva de deficiencia parcial del receptor de IFN- $\gamma$ . El p2 presentó enfermedad diseminada por bcg y diarrea crónica, ausencia de la expresión de IL12RB1 por FACS y por secuenciación se detectó la mutación homocigótica g.872g>a (c291y) en el gen IL12RB1. Los padres de ambos pacientes fueron heterocigotos para estas mutaciones.

**Conclusiones.** En el presente trabajo se identificaron y caracterizaron dos pacientes Colombianos con MSMD con defectos en IFNGR1 e IL12RB1.

### TLP-869. Cloning and expression of phtd gene fragments from *Streptococcus pneumoniae* for evaluation as potential vaccine candidates

Greiciely André de Oliveira\*, Walter Rodrigo P.\*, Mayara Trindade B.\*, Michelle Darrieux Sampaio B.\*

\*Universidade São Francisco Brasil.

**Introducción.** *Streptococcus pneumoniae* is a leading cause of disease, especially in children and the elderly. Due to the increase in antibiotic-

resistant strains, vaccines play a major role in controlling pneumococcal diseases. The currently available formulations are based on capsular polysaccharides conjugated or not to protein carriers. However, the high variability among capsules limits coverage. Furthermore, the continuous increase in pneumococcal disease by serotypes not included in the vaccines reduces the effectiveness of these formulations, especially in high-risk groups. In this context, protein-based vaccines emerge as a promising alternative, since these conserved antigens could offer greater coverage, with lower production costs using recombinant expression techniques. Among the protein Candidates for inclusion in an alternative pneumococcal vaccine are pht. This family includes four closely-related proteins, which have been shown to be immunogenic and protective in mouse model of systemic infection. Our goal is to investigate the immunogenicity of phtd fragments encoding the n and c-terminus of the protein, alone or in fusion with other pneumococcal proteins.

**Materials and methods.** phtd gene fragments were amplified by PCR from genomic ADNA of *Streptococcus pneumoniae* d39 strain, cloned into topo vector and subcloned in pQE-30.

**Results.** The recombinant proteins were expressed in *E. coli* m15 by induction of bacterial cultures with iptg, and purified by nickel affinity chromatography. The cloning was confirmed by ADNA sequencing. Sds-page analysis of the induced *E. coli* cultures revealed expression of the recombinant proteins which was further confirmed by western blot analysis.

**Conclusions.** Recombinant phtd fragments were successfully cloned and expressed in *E. coli* strains, and will be used for immunological evaluation in mouse models of pneumococcal infection.

### TLP-870. Lactic acid bacteria as a vehicle for *in situ* delivery of antiviral cytokines in salmonids

Carlos Muñoz\*, Josue González\*, Rodrigo Leyton\*, Francisco Arriaza\*, Carolina Espinoza\*, Ana Maria Sandino\*, Mario Tello\*

\*Universidad de Santiago de Chile, Chile.

**Introduction.** In mammals and fishes, antiviral cytokines have a potent effect on viral replication. The antiviral cytokine administration in humans is used therapeutically against viruses and inflammatory pathologies. In aquaculture, large scale application of antiviral cytokines is hampered by the high their cost of purification. For this reason, it is necessary to develop alternative delivery systems. Lactic acid bacteria (LAB) are Gram-positive, gas, normally present in the gastrointestinal tract of salmonids. In mammals these bacteria have been used for *in situ* release of cytokines and immunizing peptides. The goal of this work is to assess if lactic acid bacteria can act as a vehicle for *in situ* release of antiviral cytokines in salmonids, producing a stimulation of the innate immune response.

**Materials and methods.** Using recombinant ADNA techniques, an antiviral cytokine producing strain of lab was generated. The immunostimulatory properties of this strain were studied *in vivo*, by administering oral doses of 1x10<sup>7</sup> UFC/day to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Immunostimulation was evaluated through quantification by qrt-PCR of mRNA of mx and pkr genes in spleen and kidney. 18s rRNA was used as an expression control. Mortality and morphological characteristics of the organs was recorded to assess toxicity.

**Results.** The administration of antiviral cytokines producing lab had no effects on survival of fish, showing null mortality. In spleen, mx and pkr expression was increased 3.5 and 4 times respectively. In kidney, the expression levels of these genes showed no changes. Immunological organs showed no changes in morphology after treatment.

**Conclusions.** Oral administration of lab strains producing antiviral cytokine is a non-invasive and low cost therapeutic alternative in the salmon industry for the prophylactic treatment of viral infections.

### TLP-871. Imunização de ruminantes com vacina recombinante trivalente contra infecções por *Clostridium perfringens*

Felipe Masiero S.\*, Fabricio Rochedo C.\*, Luciana Aramuni G.\*, Phriscylla Sadanã P.\*, Monique Silva N.\*, Carlos Eduardo Pouey C.\*, Gustavo Marçal Shimidt Garcia M.\*

\*Universidade Federal Do Oeste Do Pará Brasil.

**Introdução.** Etiologia das doenças causadas por *Clostridium perfringens* nos ruminantes pode ser atribuída principalmente às exotoxinas alfa,



beta e épsilon produzidas pela bactéria. Devido às características ecológicas do agente a erradicação dessas patologias é praticamente impossível. Todavia, o processo pode ser prevenido por meio da utilização de vacinas. Com o objetivo de obter altos títulos de toxinas, que induzam altos títulos de anticorpos neutralizantes, o uso da tecnologia do ADNA recombinante, vem sendo a estratégia de escolha. Diante disso o trabalho objetivou testar a imunização de ruminantes com uma vacina recombinante trivalente composta pelas toxinas alfa, beta e épsilon de *C. perfringens* sintetizadas em *Escherichia coli*.

**Materiais e métodos.** Os bovinos, caprinos e ovinos, sete animais por grupo, foram inoculados com uma vacina comercial e com uma vacina recombinante contendo 200µg de cada toxina recombinante por dose, com reforço 42 dias após a primeira dose. As amostras dos soros foram tituladas pelo método de soroneutralização em camundongos.

**Resultados.** As médias dos títulos de antitoxina alfa dos bovinos, caprinos e ovinos imunizados com a vacina recombinante e comercial foram de 5,2 e 2,4 ui/mL; 4,7 e 2,8 ui/mL; 4,3 e 2,5 ui/mL, respectivamente. Já as médias dos títulos de antitoxina beta dos bovinos, caprinos e ovinos imunizados com a vacina recombinante e comercial foram de 13,7 e 8,3 ui/mL; 13,7 e 10,7 ui/mL; 13,7 e 10,4 ui/mL, respectivamente. As médias dos títulos de antitoxina épsilon dos bovinos, caprinos e ovinos imunizados com a vacina recombinante e comercial foram de 12,7 e 5,7 ui/mL; 8,9 e 6,0 ui/mL; 7,6 e 5,1 ui/mL, respectivamente.

**Conclusões.** Diante desses resultados infere-se que a vacina recombinante desenvolvida demonstrou ser mais eficiente do que a vacina comercial, podendo vir a ser uma ferramenta utilizada na prevenção das infecções por *Clostridium perfringens* em ruminantes.

### TLP-872. Multifunctional T cell response to DosR latency antigens of *Mycobacterium tuberculosis* by Colombian individuals with latent and active tuberculosis infection

Leonar Arroyo\*, Mauricio Rojas\*, Luis Fernando García\*, Tom HM Ottenhoff†, Luis Fernando Barrera\*

\*Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética (GICIG), Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. †Leiden University Medical Center, Dept. of Infectious Diseases, Leiden, The Netherlands.

**Introduction.** The DosR regulon of *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) encodes 48 genes expressed in response to oxygen deprivation, acidic pH, starvation, and nitric oxide, conditions occurring inside macrophages during mycobacterial infection. The expression of DosR genes may allow Mtb to enter into a dormant state, a condition supposed to happen in latent tuberculosis (LTBI). The immunological importance of DosR proteins for clinical latency is focus of active investigation. Antigen-specific T cells simultaneously producing one or more cytokines (multifunctional T cells) may be associated with a protective or non-protective immune response. Objectives: to characterize the multifunctional T cell response to selected DosR antigens in individuals with LTBI (n=20) and PTB (n=20).

**Materials and methods.** PBMCs ( $2.5 \times 10^5$ ) were cultured in the absence or presence of 5 µg/mL of Rv1737c, Rv2029c, Rv2628 (DosR), the Esat6-Cfp10 fusion protein (E6-C10), and PPD, for 7 days. Then, the proportions of T CD4+ and CD8+ cells producing iFNy, iTNFα and/or iIL-2, alone (monofunctional) or in combination (multifunctional), and expressing a central (Tcm, CD45RO+CD27+), effector memory (Tem, CD45RO+CD27-), resting/naive (Tr/n, CD45RO-CD27+) or effector (Teff, CD45RO-CD27-) phenotypes were determined by flow cytometry.

**Results.** 1) LTBI produced a higher frequency of monofunctional T CD4+ (Rv1737c) and CD8+ cells (Rv2029c and Rv2628) compared to PTB. No significant differences were observed in response to control antigens; 2) higher frequency of monofunctional (TNFα) CD4+, and (IFNγ) CD8+ was found in LTBI compared to PTB. In response to control antigens, LTBI produced a higher frequency of both mono- and bifunctional CD4+ and CD8+ cells; 3) the LTBI response was characterized by a predominance of CD4+ and CD8+ with a Tcm phenotype while a tem phenotype was predominant in PTB.

**Conclusions.** LTBI response is characterized by a significant increase in monofunctional CD4+ and CD8+ response with a predominant TCM phenotype compared to PTB. Funding: This grant was funded by the Estrategia de Sostenibilidad Program (2011), from the Universidad de Antioquia, Grant E01554.

### TLP-873. The involvement of *Mycobacterium leprae* HLP-ADNA complex in bacterial recognition and airway epithelial activation

André Alves D.\*, Camila Oliveira Da S.\*, Carlos Adriano Matos S.\*, Luciana Silva R.\*, João Pedro Sousa S.\*, Geraldo Moura Batista P.\*, Maria Cristina Vidal P.\*

\*Fiocruz And UERJ, Brasil.

**Introduction.** Airways are considered the main site of entry of *Mycobacterium leprae* (ML), the causative agent of leprosy. The respiratory epithelial cells express toll-like receptors (TLRS). Previous work showed that the histone-ADNA complex is the TLR9-specific immunostimulatory component of plasmodium falciparum that activates dendritic cells. ML expresses a histone-like protein (HLP), present in the cell envelope, which has been implicated in the binding of mycobacteria to epithelial cells. So we investigated whether mycobacterial ADNA-HLP complexes were able to increase the alveolar epithelial a549 cell line responses to the ML.

**Materials and methods.** To achieve our goals, we employed ELISA, flow cytometry, immunoblotting and optical microscopy.

**Results.** ELISA results showed that ML and soluble CPG-HLP complexes increased IL-8 secretion in epithelial cells. Moreover, immunoblotting and ELISA assays revealed that ML induced the NF-κB nuclear translocation in a549 cells and the IL-8 production by these cells was dependent of that translocation. The antagonist of the nucleic acid prrs also affected the ML-induced IL-8 production by a549. Furthermore, the *M. smegmatis* wild-type (WT), but not the mutant strain for the gene HLP (ΔHLP), was able to form clumps in the presence of exogenous mycobacterial ADNA. The addition of CPG to *M. smegmatis* wt increased the production of IL-8 by A549 cells. Finally, flow cytometry demonstrated that conditioned medium from a549 cells pre-treated with ML was able to increase the CD40 and CD86 co-stimulatory molecules expression on plasmacytoid dendritic cells.

**Conclusions.** Altogether, these observations suggest a potential role for the nucleic acid-hlp complex in the bacterial recognition and airway epithelial activation.

### TLP-874. Las formación de bio-películas por aislados clínicos de *Mycobacterium tuberculosis* colombianos como posible biomarcador de virulencia

Andres Baena G.\*, Luis Fernando Barrera R.\*, Rafael Prados-Rosales\*

\*Universidad de Antioquia, Albert Einstein College of Medicine Colombia.

**Introducción.** En años recientes se ha visto que diferentes cepas de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) son capaces de formar bio-películas *in vitro*. Estas bio-películas son una matriz extracelular que contiene polisacáridos y ácidos micólicos. La idea de que las bio-películas son la forma fenotípica de la persistencia de Mtb tiene soporte en los hallazgos recientes que muestran a la latencia como un estado complejo y dinámico que se vería favorecido en esta condición. Más aún, se ha observado que la persistencia de ciertas cepas de Mtb se relaciona con la inducción de necrosis, así como de la dependencia de hierro por la síntesis de sideróforos, y con la producción de vesículas de membrana (MVS). Objetivos determinar si las cepas de Mtb que forman bio-películas se asocian con una mayor necrosis celular y con la producción de vesículas de membrana.

**Materiales y métodos.** Se obtuvieron aislados clínicos de una cohorte de alta incidencia de tuberculosis en Medellín. Se infectaron monocitos humanos y de ratón *in vitro* con los diferentes aislados clínicos, se determinaron los niveles de muerte celular y la actividad quinasa de p-38 y además se midió la cantidad de MVS.

**Resultados.** Observamos que las cepas que fueron capaces de formar bio-películas eran aquellas que inducían una mayor muerte por necrosis de monocitos humanos. Estas cepas que forman bio-películas son capaces de producir 22 veces más MVS que aquellas que no la formaron. Las cepas que forman bio-películas inducen una mayor inducción de pp-38 que aquellas que no forman bio-películas.

**Conclusiones.** Nuestros datos preliminares nos permiten hipotetizar que las cepas que inducen mayor muerte celular por necrosis son aquellas que son capaces de formar bio-películas y producir una mayor cantidad de mvs lo que pudiese estar relacionado con aquellos individuos con tuberculosis más severas y con la latencia.

### TLP-875. Evaluación de los cambios en el perfil de expresión de mirnas en macrófagos de sujetos sanos en respuesta a la infección con *Mycobacterium tuberculosis*

Mauricio Castañón A.\*, Olga Nohemí Hernández De La C.\*,  
Juan Antonio González B.\*

\*Universidad Autónoma de La Ciudad de México.

**Introducción.** Las mirnas son RNAs pequeños no codificantes que participan en la regulación de la expresión génica, siendo evidente su participación en la diferenciación y activación de la respuesta inmune tanto innata como adaptativa, por lo que los cambios en su expresión durante la infección de los macrófagos podría determinar el desenlace de la infección. El objetivo de este trabajo fue determinar las diferencias en el perfil de expresión de mirnas en macrófagos derivados de monocitos en respuesta a la infección con *M. tuberculosis*.

**Materiales y métodos.** Para determinar las diferencias en la expresión de mirnas en cultivos primarios de macrófagos derivados de PBMC infectados con *m. Tuberculosis* se reclutó un grupo de sujetos sanos y otro de sujetos con infección latente (TBL) de los cuales se obtuvieron monocitos de sangre periférica. Una vez diferenciados en macrófagos se realizaron ensayos de infección con *m. Tuberculosis* H37RV y se comparó el perfil de expresión de mirnas utilizando microarreglos taqman de baja densidad (tilda).

**Resultados.** Se obtuvo el perfil de expresión de mirnas de macrófagos de sujetos sanos con y sin infección latente en respuesta a la infección con *m. Tuberculosis*. En estos no se observaron diferencias asociadas al género. Tampoco se observaron diferencias significativas en el patrón de expresión entre los sujetos sanos y los sujetos con TBL. Algunos de las mirnas que se sobreexpresan, como el mirna-155 tienen blancos importantes en la respuesta inmune.

**Conclusiones.** La infección de macrófagos con *m. Tuberculosis* induce cambios en la expresión de mirnas, muchos de los cuales pertenecen a un grupo de respuesta común entre sujetos sanos y sujetos con TBL y tienen una participación directa sobre la respuesta inmune.

### TLP-876. Actividad antiinflamatoria de la resiniferatoxina en fase intestinal de la infección por *Trichinella spiralis* en modelo de rata Sprague-Dawley

José Luis Muñoz C.\*, María Alejandra Moreno G.\*

\*Universidad Autónoma de Zacatecas, México.

**Introducción.** Durante la infección por *Trichinella spiralis*, se activa la respuesta inmune del hospedero generando a nivel intestinal una respuesta inflamatoria, la cual juega un papel crucial para la expulsión y eliminación del parásito. Hoy en día la complejidad del proceso inflamatorio nos lleva a desarrollar nuevos modelos para obtener un sistema reproducible para realizar pruebas preliminares de agentes con potencial terapéutico, como lo es resiniferatoxina (RTX). Se sabe que la RTX posee actividad antiinflamatoria a través de la inhibición de la expresión del NF-KB e inos *in vitro*, así como la disminución de los niveles de NO, PGE2 y TNF- $\alpha$ , en plasma de ratón BALB/C. El objetivo de nuestro estudio es evaluar si la RTX posee actividad antiinflamatoria durante la fase intestinal de la infección por *T. spiralis* en ratas Sprague-Dawley (SD).

**Materiales y métodos.** Se infectaron las ratas con 500 L1 de *T. spiralis* vía oral y se administró RTX el día 1 y 7 de infección. Después del tratamiento se determinó cuantitativamente los niveles de PGE2, NO y TNF- $\alpha$  En suero por ELISA, y la eosinofilia periférica por conteo de eosinófilos en frotis sanguíneo con tinción wright.

**Resultados.** En nuestro estudio se observó que la RTX ejerció actividad antiinflamatoria a través de la disminución de los niveles de PGE2, NO y TNF- $\alpha$  En suero de rata SD. Además disminuyó la eosinofilia periférica acompañada de una reducción de la enteropatía durante la infección por *T. spiralis*.

**Conclusiones.** La RTX posee actividad antiinflamatoria a través de la disminución de los niveles en suero de TNF- $\alpha$ , NO y PGE2, reduciendo así la eosinofilia periférica y la enteropatía durante la fase intestinal en la infección por *T. spiralis* en ratas SD. Estos resultados sugieren que RTX puede ser una droga potencial en la inhibición de la respuesta inflamatoria.

### TLP-877. Distinct strains of *Staphylococcus aureus* lead to different inflammatory response patterns in a murine model of intradermal infection

Ximena Blanco C.\*, Eduardo Caturini\*,  
Osvaldo Degregorio\*, Adriana Bentancor\*

\*Universidade Federal Da Bahia, Brasil.

**Introduction.** Infection with *Staphylococcus aureus* can lead to the development of soft tissue damage. Studies have evaluated the inflammatory response developed by the host organism against this pathogen in different animal models. These studies have linked the immune response developed with neutrophils. In this study we aimed to compare the inflammatory response differences developed after the intradermal infection with a methicillin-resistant strain of *S. aureus* (MRSA) or a methicillin-susceptible strain of *S. aureus* (MSSA).

**Materials and methods.** After 6, 24, 48 and 96 h of infection, mice were euthanized and the cell number in the draining lymph nodes and the cytokine release were evaluated.

**Results.** Our results showed that infections with different strains lead to different patterns of inflammation in the infection site. Infection with the MRSA induces a higher neutrophil recruitment to the lesion site leading to a significant tissue necrosis, which has not occurred in animals infected with the MSSA. The higher inflammatory response of the MRSA also was observed in the draining lymph node, where was observed the organ hyperplasia. The production of tnf-alpha, ifn-gama11-6 and il-1 beta also was increased in this organ after 6 h of infection with the MSSA which was not observed in the MRSA infected mice.

**Conclusions.** These data suggest that different *S. aureus* strains induce to distinct cell recruitment to the infection site.

### TLP-878. Estudio de la respuesta inmune de macrófagos de salmón del Atlántico infectados con *Piscirickettsia salmonis*

María José González B.\*, Jonathan Morales\*,  
Paulina Bastías\*, Valentina Soto H.\*, Ana María Sandino\*,  
Eugenio Spencer\*, Sebastián Reyes C.\*

\*Ictiobiotechnologies Laboratorio de Patógenos de Peces, y  
Universidad de Santiago de Chile, Laboratorio de Virología Chile.

**Introducción.** *Piscirickettsia salmonis* es el patógeno de mayor incidencia en la salmonicultura Chilena. Es una bacteria Gram negativa de 0.2 a 1.5  $\mu$ m de diámetro, pleomórfica, intracelular facultativa, infecta macrófagos, reside en endosomas y evita su degradación lisosomal al interferir la unión del complejo fagosoma-lisosoma, logrando sobrevivir y replicar al interior de los macrófagos. Evaluar en cultivos primarios de macrófagos de riñón de salmón del atlántico infectados con *P. salmonis* la expresión de moléculas asociadas a la respuesta inmune.

**Materiales y métodos.** Cultivos primarios de macrófagos de riñón de salmón del atlántico fueron obtenidos mediante gradiente discontinuo de Percoll. Los macrófagos fueron caracterizados mediante microscopía óptica y microscopía confocal, para luego ser infectados con *P. salmonis* en una cinética de 7 días. Se evaluó la expresión de transcritos asociados a respuesta inmune como TGF- $\beta$ , IL-1 $\beta$ , IL-10, IL-12, IL-18, TNF- $\alpha$ , MHC II y CD86 mediante qrt-PCR. La expresión de transcritos frente a la bacteria fue comparada con la expresión de éstos en macrófagos estimulados con LPS y poli I:C.

**Resultados.** Frente a una infección por *P. salmonis* la expresión de transcritos de citoquinas relacionadas con la respuesta inflamatoria temprana como IL-1 $\beta$ , IL-18 y TNF- $\alpha$  aumenta levemente, siendo comparable a lo obtenido al estimular con Ips y poli I:C. de modo opuesto, la expresión de marcadores de activación de macrófagos como MHC-II y cd86 es levemente menor cuando se infecta con *P. salmonis* respecto a la inducción con LPS y poli I:C.

**Conclusiones.** La infección de *P. salmonis* en macrófagos si bien no disminuye la expresión de transcritos de respuesta inflamatoria temprana, si lo hace con aquellos marcadores asociados a la presentación antigénica, sugiriendo una inhibición en las funciones del macrófago.

### TLP-879. Effects of oral administration of *Escherichiacoli* NISSLE 1917 in dextran sulfate sodium-induced colitis in mice

Éricka L.S. Souza\*, Samir D.A. Elian\*, Spencer S. Santos\*, Angélica T. Vieira\*, Mauro M. Teixeira\*, Rosa M.E. Arantes\*, Laís M.R. Paula\*, Jacques R. Nicoli\*, Flaviano S. Martins\*

\*Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG, Brasil.

**Introduction.** Inflammatory bowel disease (IBD) is a group of inflammatory conditions of the large and small intestine, including mainly ulcerative colitis (UC) and crohn's disease (CD). Probiotics have been used to treat human gastrointestinal inflammations including ibd. The aim of this study was to evaluate the effect of *Escherichiacoli* nissle 1917 (ECN) in a murine model of uc induced by dextran sulfate sodium (DSS).

**Materials and methods.** For induction of colitis in female BALB/C mice, we replace the water by a 3.5% DSS solution for 7 days.

**Results.** There was an improvement between the groups treated and not treated with the probiotic in clinical signs of disease and in the inflammatory state generated by the disease. The histological analyzes showed a reduction of lesions in the animals, which could also be demonstrated through the intestinal permeability analysis, which showed a significant reduction after the treatment with ecn. In order to verify the role of probiotics in the modification of the intestinal microbiota, an assay was performed in germ-free mice. We observed a significant improvement in clinical aspects of mice colonized by microbiota of animals pretreated with probiotic when compared with the dss group that was colonized by microbiota of mice not treated with probiotic.

**Conclusions.** The analysss showed that the probiotic ecn model has beneficial effect in acute UC, however further analysis are necessary in order to investigate more mechanisms by which this effect is realized, especially in relation to the microbiota modification.

### TLP-880. Aspectos clínicos y microbiológicos periodontales en pacientes con espondiloartritis y su relación con marcadores de actividad

Consuelo Romero S.\*, Diana Marcela Castillo P.\*, John Londoño\*, Nathaly Delgadillos\*, Juan Manuel Bello G.\*, Cristhian Cárdenas\*, Juliette de Avila Q.\*, Gloria I. Lafaurie, Wilson Bautista\*, Rafael Val\*

\*Universidad El Bosque- Hospital Militar Colombia.

**Introducción.** Estudios sustentan el papel de la enfermedad periodontal (EP) y su contribución en los procesos sistémicos crónicos en una variedad de enfermedades como espondilitis anquilosante. Existe muy poca información a nivel general y no existe evidencia a nivel nacional. Objetivo: describir el estado clínico y microbiológico periodontal en pacientes con eas y establecer su relación con marcadores de actividad.

**Materiales y métodos.** Estudio de corte trasversal en 55 pacientes con EAS en tratamiento y 57 controles; índices clínicos periodontales y muestras de placa subgingival para la identificación de *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*, *A. actinomycetemcomitans* y *E. nodatum* por PCR convencional. Pacientes con tratamiento previo periodontal u ortodóntico, uso de antiTNF, uso de antibióticos, infección, edentulismo, lactancia, autoinmunidad o malignidad fueron excluidos. Se analizaron PCR, VSG y HLA B27. prueba de u mann whitney y chi2 para las comparaciones. Colciencias- código 31734 CT 402. Aprobación comité de ética.

**Resultados.** Frecuencias más altas en el grupo control. Frecuencias de *P. gingivalis* no mostraron diferencias significativas. los pacientes con PCR < 5 mg/L tienen menos del 30% de inflamación gingival (p= 0.028) y pacientes con HLA B 27 tienen inflamación entre el 30 al 50% (p=0.004). el índice de función BASFI se asoció significativamente con menor profundidad de bolsa periodontal. Los individuos que responden a terapia con AINES presentan menor porcentaje de pérdida del nivel de inserción y *P. gingivalis*.

**Conclusiones.** El grupo control muestra mayor frecuencia de bacterias periodontopáticas y algunos parámetros clínicos. Estado periodontal en EAS en tratamiento aceptable. La PCR y el HLA B27 podrían ser factores que influyen el estado periodontal.

### TLP-881. Biochemical characterization and antigenic profile of capsular components of *Ureaplasma diversum*

Maysa Santos B.\*, Izadora Souza R.\*, Hellen Braga M.\*, Melissa Buzinhani\*, Jorge Timenetsky\*, Lucas Miranda Márques\*

\*Universidade de São Paulo Brasil.

**Introduction.** *Ureaplasma diversum* is a bacterium (mollicute) that cause infections in cattle and interfere the economy invested in livestock. These microorganisms are associated with important diseases such as pneumonia, granular vulvovaginitis, endometritis, salpingitis, miscarriage, infertility and premature birth. Capsule has important role in the virulence of many pathogens. The aim of this study was characterize the biochemical composition and antigenicity of *U. diversum* capsule.

**Materials and methods.** Cultures of ureaplasma in ub medium in two liters of ATCC serogroup a (49782) and clinical isolates recovered from vaginal mucus of cows and bovine semen allowed obtain ureaplasmal purified capsule solutions. The analysis were performed by spectroscopic methods using nuclear magnetic resonance of hydrogen and carbon (NMR-1 h and NMR-13c). The purified capsular pellets were inoculated in macrophages lineage J774 and cytokines were measured using ELISA.

**Results.** The analysis of capsular monosaccharides predominantly showed mannose, galactose and glucose. A variation of sugars was observed among the isolates analyzed. All samples induced higher expression of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 cytokines showing a pro-inflammatory profile.

**Conclusions.** The capsular component of studied ureaplasma suggested to be an important structure in macrophage activation in the inflammatory process. Thereby, data that to help the understanding of the host-pathogen relationship are needed. It is expected that with the biochemical composition of this structure elucidated, more information about the immunopathogenesis of these infections are established.

### TLP-882. The importance of the protein BMFP on the intracellular fate of *Brucella abortus*

Job Alves de Souza F.\*, Priscila Carneiro C.\*, Vicente de Paulo M.\*, Silvio Lorenzo Cravero\*, Sergio Costa O.\*

\*Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.

**Introduction.** *Brucella* species can cause brucellosis, a zoonotic disease that is responsible for serious economic losses in livestock and represents a public health threat. *Brucella* virulence is dependent on its ability to survive and replicate within host cells, including phagocytic cells. Herein, we evaluated the role of the *Brucella* membrane fusogenic protein (BMFP) on the intracellular fate and persistence of *B. abortus*, using the mutant strain *B. abortus*  $\Delta$ BMFP.

**Materials and methods.** We analyzed the production of IL-12 and TNF- $\alpha$ , the bacterial persistence and if the *Brucella* containing vacuoles (BCVS) lose or retain the lysosomal-associated membrane protein-1 (LAMP-1) in murine bone marrow derived macrophages (BMDM) infected with *B. abortus*  $\Delta$ BMFP mutant strain. It was also investigated the IFN- $\gamma$  production by splenocytes of mice previously immunized with *B. abortus*  $\Delta$ BMFP in response to challenge with *B. abortus* S2308.

**Results.** In this study, we show that the strain *B. abortus*  $\Delta$ BMFP have impaired intracellular multiplication in BMDM. Moreover, in infected BMDM, most of the BCVS containing wild-type *B. abortus* S2308 lose the LAMP-1 marker, which suggest that there is formation of the replicative BCV. In contrast, over 80% of BCVs containing *B. abortus*  $\Delta$ BMFP retains the LAMP-1. As the formation of the replicative BCV is characterized by loss of lysosomal markers, our results allow us to hypothesize that the protein BMFP is involved in the formation of this organelle. Although the *B. abortus*  $\Delta$ BMFP is an attenuated strain, previous immunization with this strain induces the production of IFN- $\gamma$  In splenocytes and IL-12 and TNF- $\alpha$  in infected murine macrophages. This induction of cytokine production is similar to that induced to the vaccine strains RB51 and S19.

**Conclusions.** In conclusion, the protein BMFP is critical for full *B. abortus* virulence and the mutant strain *B. abortus*  $\Delta$ BMFP, although attenuated, is able to induce a robust immune response.

### TLP-883. Efecto del IFN- $\gamma$ En la inducción de trampas extracelulares de neutrófilos (nets) en pacientes con enfermedad granulomatosa crónica

Gabriel Vélez\*, Catalina Reyes\*, Yermis Rocha\*,  
Andres Arias\*, Juan Alvaro López\*

\*Universidad de Antioquia. Colombia.

**Introducción.** Las trampas extracelulares de neutrófilos (NETs) son estructuras compuestas de cromatina y proteínas granulares que cuando liberadas pueden atrapar y destruir microorganismos patógenos. Recientemente se demostró que los pacientes con enfermedad granulomatosa crónica (EGC) no liberan NETs, lo cual sugiere que esto podría contribuir a la susceptibilidad a infecciones severas por ciertos patógenos. El uso del IFN- $\gamma$  es usado como terapia estándar en estos pacientes. Con lo anterior se pretende determinar si el IFN- $\gamma$  tiene algún efecto sobre la producción de NETs en pacientes con EGC. Objetivo: determinar el efecto del IFN- $\gamma$  en la inducción de trampas extracelulares de los neutrófilos (NETs) en pacientes con enfermedad granulomatosa crónica.

**Materiales y métodos.** PMN de sangre periférica de controles sanos y un paciente con EGC, fueron cultivados en RPMI y pre-estimulados con IFN- $\gamma$ , posteriormente fueron estimulados con PMA, ionomicina y Ips para la determinación de especies reactivas del oxígeno (ROS) y NETs. La cuantificación de ROS se hizo a través de citometría de flujo con dihidrorodamina (DHR). La observación de las NETs se hizo mediante ensayo cualitativo a través de microscopía de fluorescencia convencional y la cuantificación mediante fluorimetría en un espectrofluorómetro. En ambos casos se utilizó SYTOX green para la tinción del ADN y para la microscopía de fluorescencia se marcaron las NETs con anticuerpos antielastasa.

**Resultados.** El estímulo con IFN- $\gamma$  No produjo por sí mismo un aumento en la producción de ROS, mientras que al hacer una pre-estimulo con IFN- $\gamma$  y posterior activación con PMA hay un incremento en la producción de NETs.

**Conclusiones.** Estos resultados preliminares indican que el IFN- $\gamma$  potencia tanto la producción de ROS como la producción de NETs en individuos sanos, así mismo se pudo determinar un incremento en la producción de NETs a través de un mecanismo independiente del oxígeno.

### TLP-884. Avaliação da infecção de *Ureaplasma urealyticum* e *Ureaplasma parvum* em queratinócitos primários humanos (PHK)

Aline Teixeira A.\*, Vanesca de Souza L.\*, Enrique Mario Boccardo P.\*, Veridiana Munford\*, Lucas Miranda M.\*, Jorge Timenetsky\*

\*Universidade de São Paulo Brasil.

**Introdução** Algumas espécies da classe mollicutes têm sido descritas como agentes causadores de distúrbios genitais em humanos. *Ureaplasmas* são encontrados com frequência em pacientes com vaginose bacteriana, cervicite e estão relacionados como um dos principais causadores de uretrites não-gonocócicas. Diversos estudos têm demonstrado a presença desses micro-organismos em casos de câncer cervical, mas ainda não se sabe qual seu papel no desenvolvimento das lesões. Objetivo: avaliar a infecção de *ureaplasma urealyticum* e *Ureaplasma parvum* em cultura primária de queratinócitos humano (PHK).

**Materiais e métodos.** Células PHK foram infectadas com 105 ccu/mL de *U. urealyticum* e *U. parvum*. As células infectadas foram avaliadas pelos períodos de 6, 12, 24, 48 e 72 h. A viabilidade celular foi analisada pelo ensaio de XTT. Além disso, foi realizada a dosagem da citocina il-6 durante o período da infecção. Também foi realizado o ensaio de invasão celular pelo teste da gentamicina.

**Resultados.** Foi observada uma taxa de invasão de 0,01% tanto para *U. urealyticum* quanto para *U. parvum*. A dosagem de IL-6, nas células infectadas por ambos micro-organismos, apresentou valores significativamente elevados logo após 6 h de infecção quando comparado com o grupo controle. No ensaio de XTT foi observado maior número de células viáveis nos grupos infectados.

**Conclusões.** Apesar dos dados apresentarem alterações celulares relevantes e também mostrar alterações quanto à viabilidade celular entre os grupos infectados, ensaios adicionais devem ser realizados para verificar com maior acurácia o perfil de morte celular, bem como, a liberação de outras citocinas pró-inflamatórias. Os dados obtidos poderão contribuir para melhor compreensão da infecção dos *ureaplasmas* em

queratinócitos e, posteriormente, seu papel nas principais desordens do trato genital em humanos.

### TLP-885. Caracterización de IGM secretora de *Salmo salar* y análisis de su expresión frente a bacterias de peces

Paulina Bastias-Riveros\*, Cristian Andrade\*, Natalia Valdes\*,  
Sebastian González-Catrilebun\*, María Jose González-Bown\*,  
Mario Tello\*, Eugenio Spencer\*, Ana María Sandino\*, Sebastian Reyes-Cerpa\*

\*Ictiobiotechnologies Laboratorio de Patógenos de Peces y  
Universidad de Santiago de Chile Laboratorio de Virología Chile.

**Introducción.** La inmunoglobulina M (IGM) de salmo salar (salmón del Atlántico) presenta una forma unida a membrana y otra secretora. La forma unida a membrana se relaciona con células inmunes no activadas y la secretora se relaciona con una respuesta inmune en desarrollo. En salmo salar se desconoce la secuencia nucleotídica completa que permita discriminar entre ambas formas de IGM con el fin de detectar una respuesta inmune activa. Objetivo: obtener la secuencia de IGM secretora y evaluar su expresión *in vivo* frente a *Piscirickettsia salmonis* y *Flavobacterium psychrophilum*.

**Materiales y métodos.** La secuencia variable de IGM de salmo salar fue obtenida de genbank. La secuencia constante de IGM secretora fue obtenida mediante race-PCR y análisis bioinformático. Obtenida la secuencia completa de *igm* fueron identificadas las diferencias entre ambas formas de IGM mediante alineamientos múltiples, apoyados con secuencias de IGM de otros salmónidos. Posteriormente, alevines de salmo salar fueron desafiados con *P. salmonis* y *F. psychrophilum*, con el propósito de evaluar la expresión de ambas formas de IGM mediante QRT-PCR.

**Resultados.** La secuencia de IGM secretora obtenida por race-PCR fue altamente idéntica a la obtenida por búsqueda bioinformática en el genoma no anotado de salmo salar. Se identificó las secuencias nucleotídicas de los exones  $\mu$ 1-4 y TM 1-2, determinándose la presencia del exón  $\mu$ 4 en la forma secretora y no en la unida a membrana. Al desafiar con *P. salmonis* y *F. psychrophilum* se observa un aumento en la expresión de *igm* secretora respecto al control no infectado.

**Conclusiones.** Se obtuvo una secuencia nucleotídica para IGM secretora de salmo salar y se identificó la diferencias entre ambas IGM. Frente a un desafío bacteriano la IGM secretora tiene una expresión diferencial a la forma unida a membrana. Agradecimientos: proyecto-innova-corfo 09MCS56698 y proyecto-consorcio-corfo 13CTI-21527.

### TLP-886. Pangenome-wide and molecular evolution analyses in *Pseudomonas aeruginosa* strains

Alfonso Benítez P.\*

\*GABI Group. Centro de Investigación y  
Desarrollo en Biotecnología - Cidbio, Colombia.

**Introduction.** Humans are infected by opportunistic pathogens which take advantage of their compromised immunological status and causing persistent and chronic infections. The Gram-negative bacterium *Pseudomonas aeruginosa* is one of those pathogens. *Pseudomonas aeruginosa* species remains one of the most important pathogens in nosocomial infections and it is associated with urinary tract, skin, and lung infections. Treatments against *P. aeruginosa* often fail to clear infection before tissue deterioration occurs, particularly in cystic fibrosis patients. Major issues in development of a successful vaccine raise from the supposed genotypic variation of *Pseudomonas aeruginosa* at strain level, which remains elusive.

**Materials and methods.** More than 180 *Pseudomonas aeruginosa* genomes were accessed via patric database and analyzed in genome- and gene-oriented approaches to determine the *P. aeruginosa* pangenome and exploring genome variability in terms of synonymous and non-synonymous substitutions.

**Results.** The *Pseudomonas aeruginosa* pangenome was estimated to contain approximately 16,820 genes of which 4,796 (28.5%) were found to be uniquely present. This data roughly represent that every *P. aeruginosa* strain present 26 unique genes which can explain pathogenicity and virulence of certain strains. After massive sequence analyses, multiple gene families were studied to be under positive selection meaning a higher

non-synonymous substitution rate (DN) than synonymous one (DS). As a consequence, 623 gene families were detected to present omega values (dn/ds) higher than 2. Functional characterization showed that several virulence factors and antigenic proteins, classically used in vaccine development, are under positive selection in *P. aeruginosa* genome.

**Conclusiones.** The genetic information available has permitted estimate the genetic variability of certain human pathogens. At this concern, new strategies must be addressed to target *Pseudomonas aeruginosa* proteins with low variability regarding development of new Candidate vaccines.

### TLP-887. Cellular immune responses in the lungs of mice injected with pneumococcal vaccines

Dunia Rodrigues\*, Cibelly Goulart\*, Tanila Wood Dos S.\*, Greiciely André de Oliveira\*, José Aires Pereira\*, Carlos Augusto Real M.\*, Luciana Cezar de Cerqueira L.\*, Henrique Krambeck R.\*

\*Universidade São Francisco Brasil.

**Introduction.** PspA and pneumolysin are two important vaccine Candidates, able to elicit protection in different models of pneumococcal infection. The high immunogenic potential of PspA, combined with a possible adjuvant effect of pneumolysin (due to its ability to interact with tlr-4) could greatly improve the immunogenicity and coverage of a protein-based pneumococcal vaccine. The combination of PspA and the pneumolysin derivative PLD1 has been shown to induce the production of high antibody levels against each protein, and to protect mice against invasive challenge. The aim of the present study was to investigate the cellular response induced by such vaccine, and to evaluate protection in a model of focal pneumococcal pneumonia.

**Materials and methods.** A model of focal pneumococcal pneumonia was developed in balb/c mice by nasal instillation of a high dose of a serotype 14 strain with low virulence. Airway inflammation was confirmed by total and differential cell counts in bal and by histological analysis of the lungs, and bacterial loads were measured 7 days after challenge. Cytokine levels were determined in the bal and lungs of mice immunized with PspA-pld1 fusion after challenge, by flow cytometry and rt-PCR, respectively.

**Results.** After challenge, the mice developed lung inflammation with no invasion of other sites, as demonstrated by histological analysis of lung tissue and blood. We detected a significant production of TNF- $\alpha$  and IL-6 in the bal.

**Conclusions.** Immunization with pneumococcal protein-based vaccines induce a cellular response in mouse lungs, with increased production of TNF- $\alpha$  and IL-6.

### TLP-888. Utilización de bacterias ácido lácticas recombinantes como tratamiento preventivo contra la intoxicación por *Vibrio parahaemolyticus*: consideraciones en la modificación de bacterias inocuas

Ana Elola\*, Sebastián Beltrán\*, Cristian Bergmann\*, Annette Trombert\*

\*Universidad Mayor Chile.

**Introducción.** *Vibrio parahaemolyticus* (vp) corresponde a un patógeno Gram negativo que se encuentra principalmente en la zona de los estuarios al interior de moluscos y peces los cuales, cuando son consumidos por la población, suelen causar cuadros que varían desde una gastroenteritis autolimitada hasta disentería. En Chile la bacteria se encuentra a lo largo de toda su costa, provocando brote estacionales periódicos. De esta forma se hace necesaria la generación de nuevas herramientas de prevención y tratamiento. Las bacterias ácido lácticas corresponden a bacterias que agrupan especies del género *Lactobacillus* spp., muchas de ellas consideradas probióticas y por ende, beneficiosas para el organismo. En la actualidad, la manipulación genética de estas bacterias ha permitido generar vectores vivos de expresión antigénica que garantizan respuestas inmunológicas preventivas. El objetivo del presente trabajo es la generación de cepas de recombinantes (LBR) para que expresen una proteína de superficie de vp. *L. rhamnosus*

**Materiales y métodos.** Las cepas de LBR se generaron clonando el gen MAM-7 de vp en dos vectores: uno, para expresarla en la membrana del LBR y otro para que la secretara. Las cepas LBR se enfrentaron al patógeno en ensayos de competencia, desplazamiento y citotoxicidad en células CACO-2.

**Resultados.** En todos los casos *L. rhamnosus* silvestre se enfrentó significativamente mejor que los LBR. El ensayo de citotoxicidad determinó que la presencia de los vectores, ampliamente utilizados en la literatura (sistema NICE), generan citotoxicidad.

**Conclusiones.** La manipulación de bacterias probióticas depende de diversos factores a considerarse y que inciden directamente en la interpretación de resultados: la bacteria, los antígenos y la herramienta de expresión.

### TLP-889. Comparación del efecto protector del inmunógeno de 45 kda de *Trichinella spiralis* administrado por vía sublingual y vía convencional en murinos infectados con *Trichinella spiralis*

Francisca Chávez R.\*, María Isabel Chávez R.\*, María Porfiria Barrón G.\*, María Alejandra Moreno G.\*, José Jesús Muñoz E.\*

\*Universidad Autónoma de Zacatecas, Universidad Autónoma de Nuevo León. México.

**Introducción.** La *Trichinellosis* es una enfermedad parasitaria, endémica, zoonótica y cosmopolita que afecta al hombre y no cuenta con un tratamiento definitivo. Objetivos: comparación del efecto protector del inmunógeno de 45kda de *Trichinella spiralis*, administrado por la vía sublingual y el esquema convencional de inmunización, en modelo murino infectado con *T. spiralis*.

**Materiales y métodos.** 30 murinos hembras cepa long evans divididas en 6 grupos: 1.- control sano, 2.- control infectado, 3.- infectados e inmunizados vía convencional (intramuscular, subcutánea, muscular y peritoneal), 4.- inmunizados vía convencional e infectados, 5.- infectados e inmunizados vía sublingual y 6.- inmunizados vía sublingual e infectados; el inmunógeno se aplicó semanalmente por 4 ocasiones, se obtuvo suero y al sacrificio muestra de tejido para realizar técnicas directas de compresión en placa y de digestión artificial. El suero se utilizó para técnicas indirectas de microinmunodifusión doble (MIDD) y dot-ELISA.

**Resultados.** Por medio de la técnica de MIDD en los diferentes grupos y tiempos, fue positivo control infectado a 28 y 42 días posinfección, mientras que por dot-ELISA se observó positivo en el grupo 2 desde los 14 días post infección, los grupos 3, 4 y 6 desde la primera inmunización, el grupo 5 mostro interacción hasta la 4ta inmunización. Por la técnica de digestión artificial la larva infectante conservo su forma característica de espiral en el control infectado así como en los retados por *T. spiralis* y después inmunizados, los inmunizados por ambas vías muestras daño a la larva infectante, y se muestra disminución de larvas infectantes obtenidas respecto al control infectado.

**Conclusiones.** El antígeno de 45 kda de *T. spiralis* ejerce un mayor efecto protector aplicado vía convencional que vía sublingual.

### TLP-890. Utilidad de los tratamientos inmunológicos en *Trichinellosis* en modelo experimental murino

María Alejandra Moreno G.\*, Elsa Chávez G.\*, José Jesús Muñoz E.\*, Mario Morales V.\*, Porfiria Barrón G.\*, Claudia Herminia Maldonado T.\*

\*Universidad Autónoma de Zacatecas, Universidad Autónoma de Nuevo León. México.

**Introducción.** El ciclo vital de *Trichinella spiralis*: presenta 3 estadios, dificultando contar con un tratamiento efectivo en los 3 estadios. Objetivos: evaluar la utilidad de los tratamientos inmunológicos en *Trichinellosis* experimental.

**Materiales y métodos.** Se utilizó el modelo experimental de ratas long evans, 10 grupos de 5 animales cada uno, se dividieron en dos subgrupos de cinco (a y b) los cinco grupos de a: al inicio del experimento se infectaron con 500 li vía oral, a los 30 días de infección, el grupo a1 control sin aplicación de inmunógeno, a2 se utilizó el inmunógenos del antígeno soluble total (AST) y a3 el inmunógeno de 45 kda de *T. spiralis*. Se evaluó la inmunización una aplicación semanal de la proteína 10  $\mu$ g vías: intradérmica, subcutánea, intramuscular e intraperitoneal, y los grupos a4 y a5 inmunoterapia utilizando los 2 inmunógenos anteriores 5 aplicaciones, 10  $\mu$ g por vía intradérmica, 20  $\mu$ g subcutánea, 30  $\mu$ g intramuscular, 40  $\mu$ g intraperitoneal y 50  $\mu$ g subcutánea en días consecutivos. Subgrupo b: primero se aplicó los esquemas de inmunización e inmunoterapia con los 2 inmunógenos iguales a a y a los 30 días se retaron con 500 li de

*T. spiralis*. Todos los grupos fueron sangrados cada 15 días para obtener suero y realizar técnicas inmunológicas, al sacrificio se tomó tejido para técnicas directas de digestión artificial, viabilidad con azul tripano y técnica de hematoxilina-eosina, análisis estadístico por anova.

**Resultados.** El tratamiento inmunológico que presentó la mayor utilidad fue el de inmunización con el inmunógeno de 45 kda tanto previo a la infección como posterior a esta, y estadísticamente por anova tuvo una significancia de ( $p < 0.001$ ), modificando el implante de la célula nodriza de *T. spiralis*.

**Conclusiones:** conclusiones: el inmunógeno de 45 kda a través de la inmunización confiere un efecto protector contra la *Trichinellosis* en modelo experimental murino.

### TLP-891. Atividade citotóxica em células SF-295, OVCAR-8 e HCT-8 de *Paenebacillus* spp. endofítico isolado no bioma cerrado

Luis Henrique Romano\*, Ariane Garcia F.\*, Danyelle Toyama\*, Flávia Henrique Silva\*, Alberto Colli Badino J.\*, Cristina Paiva Sousa\*

\*Universidade Federal de São Carlos, Brasil.

**Introdução.** O cerrado ocupa cerca de 21% do território nacional Brasileiro. A *Tabebuia* spp., árvore símbolo nacional, popularmente conhecida como ipê é nativa desse bioma. Sendo os microrganismos ubíquos, os endófitos habitam o interior de plantas e podem estabelecer relação simbiótica. As dificuldades no tratamento dos carcinomas tornam necessárias prospecções de biomoléculas com atividade antitumoral buscando novos e mais eficazes compostos citotóxicos contra essas células cancerígenas, em especial as provenientes de fontes microbianas.

**Materiais e métodos.** Foram coletadas e desinfetadas (eliminando a população epifítica) 25g de folhas de *Tabebuia* spp., seguindo-se o maceramento, diluições decimais e incubação (ágar ISP2, 15 dias, 28°C). Identificou-se o isolado por rnar 16s e a cepa foi cultivada em shaker (ISP2, 200 rpm, 28°C por 72 h), gerando o caldo de cultivo. Estes foram submetidos à atividade citotóxica contra células HTC, SF295 e ovcar8 mensuradas pelo método de MTT.

**Resultados.** O caldo de cultivo apresentou inibição do crescimento de todas as linhagens celulares cancerígenas testadas. Ressalta-se que a inibição foi superior a 75%, percentual de limitante recomendado pelo método MTT (utilizado pelo programa de triagem do instituto nacional de cancro dos eua). Este método é baseado na conversão da 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-h-tetrazólio, brometo de sal de tetrazólio (MTT) a formazano azul, pelas mitocôndrias presentes apenas nas células metabolicamente ativas. As porcentagens de inibição dos bioensaios foram: 86,64% contra a linhagem sf-295 (sistema nervoso central), 94,37% ovcar-8 (ovários) e 97,36% contra as células HCT-8 (cólon).

**Conclusões.** Os resultados de inibição foram superiores a 75% contra as três linhagens celulares testadas, indicando o elevado potencial desta bactéria contra células tumorais. A atividade citotóxica antitumoral produzida por *Paenebacillus* spp. Indicou a viabilidade de mais estudos sobre seus metabólitos e potencial específico, inclusive o fracionamento do caldo e identificação das biomoléculas responsáveis pela atividade. Agradecimento ao cnpq pelo apoio financeiro.

### TLP-892. Efeito dos probióticos *Saccharomyces boulardii* e *Bacillus cereus* var. *toyoi* na peroxidação lipídica em camundongos

Suely Ribeiro B.\*, Patricia Diaz de O.\*, Lucimar Pinto\*, Fabricio Conceição\*, Lucielli Savegnago\*, Ângela Nunes M.\*

\*Universidade Federal de Pelotas Brasil.

**Introdução.** Probióticos são micro-organismos vivos que quando ingeridos em quantidades adequadas promovem benefícios ao seu hospedeiro. Dentre suas diversas vantagens, a capacidade de exercer atividade antioxidante vem sendo bem explorada. A bactéria *Bacillus cereus* var. *toyoi* (b.t.) e a levedura *Saccharomyces boulardii* (s.b.) são interessantes cepas probióticas. Em organismos vivos o estresse oxidativo surge quando o ero (espécies reativas de oxigênio) ultrapassa a capacidade de eliminação de sistemas antioxidantes. Todos os componentes celulares são suscetíveis a ação do ero, porém a membrana é uma das mais atingidas em decorrência da presença de ácidos graxos poliinsaturados, os

quais podem sofrer peroxidação lipídica. Com a peroxidação a membrana fica alterada em sua estrutura e na sua permeabilidade, consequentemente há perda da seletividade na troca iônica e formação de produtos citotóxicos (como o malondialdeído), culminando com morte celular. Determinar se o tratamento com os probióticos s.b. e b.t. por 60 dias altera a peroxidação lipídica no cérebro, fígado e rins de camundongos.

**Materiais e métodos.** Sessenta animais foram divididos em 4 grupos e receberam ração contendo probióticos: G1-controle; G2-S.B.; G3-B.T.; G4-S.B.+B.T., durante 60 dias. No 61º dia, procedeu-se a eutanásia por deslocamento cervical e retiraram-se os órgãos: cérebro, fígado e rim. Após isso, realizou-se o ensaio de tbars (ensaio das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico). As análises estatísticas foram feitas pelo programa graphpadprism 4.

**Resultados.** Os níveis de peroxidação lipídica nos rins dos animais que receberam b.t. diminuíram em relação ao grupo controle ( $p < 0,05$ ). Os tecidos dos demais grupos tratados não apresentaram resultados significativos.

**Conclusões.** O probiótico b.t. apresentou-se mais efetivo que s.b. para reduzir a peroxidação lipídica nos rins dos animais. Esse resultado sugere que o probiótico b.t. pode ser consumido diariamente para exercer seus efeitos benéficos.

### TLP-893. Desenvolvimento de ensaio quantitativo por meio de taqman PCR para a detecção de mollicutes na microbiota intestinal de mulheres obesas

Verena Macedo S.\*, Jorge Timenesky\*, Lucas Miranda Marques\*, Aline Teixeira Amorim\*, Antonio Carlos Ricardo Braga Junior\*

\*Universidade de São Paulo-USP. Brasil.

**Introdução.** A microbiota intestinal é um ecossistema complexo associado com o desenvolvimento das respostas imunológicas, além do estado nutricional do hospedeiro. Estudos que avaliam as implicações e relevância das respostas adaptativas da microbiota intestinal humana, assim como a ocorrência e participação dos mollicutes na microbiota intestinal são praticamente desconhecidos. Nesse contexto, métodos de biologia molecular têm sido práticos e amplamente utilizados em estudos da microbiota intestinal humana. Objetivo: desenvolver um ensaio quantitativo por meio de taqman PCR para a detecção de mollicutes na microbiota intestinal de mulheres obesas.

**Materiais e métodos.** Os iniciadores e sondas específicas para o gene 16s de rRNA de mollicutes foram desenvolvidos. A especificidade, limite de detecção, testes de repetibilidade intra e inter-ensaios para qPCR para detectar este micoplasma foi comparado com os resultados do ensaio de PCR convencional (cPCR). Amostras de fezes de 8 mulheres obesas foram testadas.

**Resultados.** Não foi observada nenhuma reatividade cruzada com outros mollicutes ou eubactérias. A concentração mediana de mollicutes foi de (~1,988 x 104 ufc/mililitro), tendo sido detectado em 5 amostras (62,5% %) por qPCR, e em 8 (100%) por cPCR.

**Conclusões.** O sistema de detecção aplicado no presente estudo comprovou ser específico, sensível, reprodutível e quantitativo para a detecção de mollicutes nas fezes humanas.

### TLP-894. Uso de exopolissacarídeo produzido por *Tremella fuciformis* berkeley em meio sólido

Erna E. Bach\*, Danilo Gomes de Brito\*, Victor Alves Francklin\*, Edgar Matias Bach Hi\*, Nilza S.Y. Wadt\*

\*Depto. Saúde, Uninove; 21C-Curso biomedicina Uninove, São Paulo, SP, Brasil.

**Introdução.** *Tremella fuciformis* tem sido encontrada em algumas regiões sendo conhecido como fungo neve ou gelatinoso de cor branca ou amarela. A cor branca é correspondente a *T. fuciformis* e encontrada primeiramente no Brasil e levada a China onde tem sido cultivado artificialmente. Como no Brasil não ocorre o cultivo, procurou-se produzir o exopolissacarídeo (EPS) do fungo em cultura envolvendo meio sólido, pois a molécula do eps tem sido descrito contendo atividades biológicas.

**Materiais e métodos.** Assim, isolados foram desenvolvidos em sacos de semente de sorgo em forma micelial e depois transferidos para erlenmeyers contendo meio sólido, feito com semente de sorgo (variedade embr-

pa 308) previamente cozida, filtrada, e acrescida de agar. Após 20 dias de crescimento o EPS foi removido com água gelada, e precipitado com etanol até 70% de volume final. O precipitado foi solubilizado em água e realizado o teste de beta-glucana, açúcar total e, teste de ELISA (duplo sanduíche) contra antissoro para xanthomonas axonopodis PV. Citri, patótipo *A. foram* induzidos ratos a diabetes com dieta hiperglicídica e tratados por via oral com 2 mmol de EPS sendo comparado com ratos controles.

**Resultados.** Resultados indicaram que o frasco com fungo desenvolvido em 20 dias apresentou maior quantidade de açúcar total bem como beta-glucana presente. Perante a sorologia pelo ELISA foi detectado que o antissoro para x.axonopodis PV. Citri foi sorologicamente relacionado com o antígeno EPS da *T. fuciformis*. Ratos com diabetes e tratados com eps controlaram a glicemia acompanhada de redução de colesterol, triglicérides e aumento de HDL.

**Conclusões.** Por conclusão o EPS tem estrutura semelhante a xanthomonas comprovando presença de glicoses ligação alfa e que pode controlar glicemia até 130 mg/dl. Suporte financeiro: CNPQ proc. 474681/2013-0.

### TLP-895. Comportamiento de la hepcidina sérica en donantes de sangre que asistan al banco de sangre y en pacientes con desórdenes relacionados con el metabolismo del hierro que acudan a la Clínica IPS Universitaria Sede León XIII, Medellín, Colombia, 2014

María Isabel Villa P.\*, Paola Andrea Acevedo T.\*, Alejandro Gómez Á.\*

\*Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia Colombia.

**Introducción.** La hepcidina es la proteína encargada de la homeostasis del hierro en el organismo, su función la ejerce sobre la ferroporfina regulando la exportación del hierro desde la célula. Su concentración es inversamente proporcional al hierro disponible en sangre; debido a que es un reactante de fase aguda puede estar involucrada con el desarrollo de anemias en pacientes con enfermedades crónicas. Objetivo determinar la relación entre la hepcidina y las moléculas implicadas en el metabolismo del hierro en donantes de sangre y pacientes con desórdenes del metabolismo del hierro.

**Materiales y métodos.** Estudio descriptivo transversal. La población de estudio está conformada por 100 donantes de sangre y 50 pacientes que se les tomará muestra de sangre en tubo seco para realización de ferritina, hierro total y transferrina determinadas por electro quimioluminiscencia y determinación de hepcidina por medio de una ELISA competitiva, así mismo tubo con EDTA para la realización del hemograma completo.

**Resultados.** Se han procesado 100 muestras correspondientes a donantes, el porcentaje es similar entre mujeres y hombres correspondientes al 50% cada uno. La edad promedio es de 34 y 35 años respectivamente. Los valores de hemoglobina (mediana h: 15,9 g/dl; m: 13,9 g/dl), ferritina (mediana h: 157,8 ng/mL; m: 41,2 ng/ml) y hepcidina (mediana h: 17,7 ng/mL; m: 11,1 ng/mL) son mayores en los hombres. En mujeres con menopausia, los valores de ferritina y hepcidina fueron similares a los encontrados en los donantes masculinos.

**Conclusiones.** Comparando los resultados de la hepcidina y la ferritina por género, se evidencia que las mujeres en edad fértil presentan niveles menores de estas proteínas, lo que puede deberse a la mayor demanda de hierro por situaciones como la pérdida de sangre debido al período menstrual, por el contrario en el período de la menopausia los valores aumentan, siendo similares a los de la población masculina.

### TLP-896. Análisis de metilación en los promotores de los genes *cdkn2b* y *dbc* en pacientes con LLA, LMA y LMC

Laura María Medina G.\*, Carlos Mario Muñetón P.\*

\*Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

**Introducción.** Determinar los porcentajes de metilación en los promotores de los genes *CDKN2B* y *DBC1* en muestras de médula ósea de pacientes con LLA, LMA y LMC mediante PCR específica de metilación y secuenciamiento directo.

**Materiales y métodos.** Se extrajo el ADN de 57 muestras de pacientes colombianos con LLA, LMA o LMC y de 86 pacientes españoles con LMA

de novo. Los ADN se convirtieron con bisulfito de sodio y se amplificaron con PCR específica de metilación. Las muestras que presentaron metilación, fueron secuenciadas para confirmar los resultados.

**Resultados.** Se incluyeron 24 pacientes colombianos con LLA, 16 con LMA y 17 con LMC y 86 pacientes españoles que fueron diagnosticados con LMA de novo y presentaban cariotipo normal. En los pacientes colombianos se encontró que el promotor del gen *DBC1* estaba metilado en el 96% de las muestras de LLA, el 94% de las muestras de LMA y en el 70% de LMC. En cuanto al promotor del gen *CDKN2B*, estaba metilado en el 75% de las muestras de LLA, el 62% de las LMA y el 70% de las LMC. En las muestras de los pacientes españoles, se encontró una hipermetilación del 70% en el promotor del gen *CDKN2B* y del 78% en el promotor de *DBC1*. La hipermetilación de *CDKN2B* se asoció con la metilación en los promotores de otros genes.

**Conclusiones.** La metilación en los promotores de los genes *DBC1* y *CDKN2B* es un evento frecuente en pacientes con LLA, LMA y LMC, y es independiente de las alteraciones genéticas descritas. Las alteraciones en el patrón de metilación de genes supresores de tumor son reversibles y pueden convertirse en un blanco terapéutico.

### TLP-897. Caracterización de Linfocitosis monoclonal de células B en familiares de pacientes con leucemia linfocítica crónica

José Domingo Torres H.\*, Catalina Franco A.\*, Javier Rendón H.\*, Patricia Elena Jaramillo A.\*, Rossana Villegas G.\*

\*Universidad de Antioquia-Universidad de Córdoba, Colombia.

**Introducción.** La leucemia linfocítica crónica (LLC) es una enfermedad neoplásica caracterizada por la acumulación de linfocitos b (LsB) de aspecto maduro pero inmunológicamente incompetentes en sangre periférica, médula ósea, ganglios linfáticos y otros tejidos. Familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con LLC tienen más de tres veces el riesgo que la población general de padecer esta enfermedad y en alrededor del 10% de estos es posible demostrar mediante citometría de flujo (CF) en sangre periférica, una población clonal con un inmunofenotipo idéntico al de la LLC, a esta entidad se le denomina linfocitosis monoclonal de células b (LMB). LMB es una condición asintomática caracterizada por la circulación de pequeñas poblaciones clonales de LsB en sangre periférica y supone menos de 5x10<sup>9</sup>/L LsB, sin signos clínicos o síntomas de un trastorno linfoproliferativo crónico. Caracterizar LMB en familiares de pacientes con LLC diagnosticados en instituciones de salud de Medellín.

**Materiales y métodos.** Estudio descriptivo transversal realizado en 51 familiares de pacientes con LLC. Se realizó cuadro hemático y análisis de CF utilizando dos de los tubos (1 y 2) del panel recomendado por euro flow para el diagnóstico de enfermedades linfoproliferativas crónicas de LsB (I) CD20 (V450), CD45 (V500C), SMIGλ (FITC), SMIGκ (PE), CD5 (PERCPY5.5), CD19 (PECY7), SMC3 (APC), CD38 (APCH7); (II) CD20 (V450), CD45 (V500C), CD23 (FITC), CD10 (PE), CD19 (PECY7), CD200 (APC), CD43 (APC H7).

**Resultados.** Del total de participantes, 20 (39,2%) eran hombres y 31 (60,7%) mujeres, con una edad media de 47,5 años. LMB fue detectada en 1 (2%) de los 51 familiares analizados, este participante era una mujer de 59 años con un recuento total de leucocitos de 7,7x10<sup>9</sup>/L y un recuento de LB de 3,1x10<sup>9</sup>/L; de estos 1,1x10<sup>9</sup>/L eran células clonales con restricción de cadena Kappa.

**Conclusiones.** Se detectó LMB en el 2% de familiares de pacientes con LLC esporádica, similar a lo informado previamente.

### TLP-898. Perfil de metilación en pacientes con leucemia mieloide crónica: revisión sistemática

Juliana Pérez M.\*, Paola Andrea Acevedo T.\*

\*Universidad de Antioquia, Colombia.

**Introducción.** La epigenética se refiere a la aparición de cambios heredables en la expresión de genes sin alteración en la secuencia de ADN (ácido desoxirribonucleico). (1) mecanismos como la hipermetilación del ADN están implicados en la regulación transcripcional de genes supresores de tumores en diferentes tipos de neoplasias hematológicas incluyendo la leucemia mieloide crónica. (LMC) (2, 3) objetivo identificar los principales genes hipermetilados en pacientes con diagnóstico de LMC en las tres fases clínicas de la enfermedad de acuerdo con lo publicado en la literatura científica en los últimos 10 años (2003-2013).

**Materiales y métodos.** Se realizó una revisión sistemática siguiendo las indicaciones propuestas en la guía prima (preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses).

**Resultados.** Se obtuvo un total de 39 genes estudiados en los análisis de hipermetilación en pacientes con LMC los cuales se clasificaron como genes supresores de tumores, reguladores de ciclo circadiano, genes codificantes para factores de transcripción o receptores y genes involucrados en reparación del ADN, vías de señalización y metabolismo de nucleótidos entre otros. Además, se obtuvo un valor estadísticamente significativo ( $p=0,000$ ) en las comparaciones múltiples de la proporción de hipermetilación según la fase clínica de la enfermedad, estableciendo una posible relación entre la progresión de la enfermedad y el porcentaje de metilación de genes en pacientes con LMC.

**Conclusiones.** Nuestros resultados corroboran la ausencia de genes marcadores para progresión por hipermetilación en la LMC y sugieren la ejecución de estudios individuales de genes para establecer una relación causal entre la proporción de metilación y la progresión de la enfermedad.

### TLP-899. Role of IHF and RCSB in the transcriptional regulation of the ECP operon

Verónica Irazú Martínez S.\*, Abraham Medrano L.\*,  
Alejandra Vázquez R.\*, José Luis Puente G.\*

\*Instituto de Biotecnología, UNAM, México.

**Introduction.** The ECP operon codes for the *E. coli* common pilus (ECP), an important accessory adherence factor of several *Escherichiacoli* strains. The first gene, ECPR, codes for the regulator, ECPR, which contains a lux-like hth ADNA-binding domain important for its activity. Recently, we reported that this protein regulates positively the expression of ECP by binding to a direct repeat sequence, TTCCT, located around position -180. ECPR acts as an antagonist of the global regulator H-NS, which acts as a repressor. This activity requires the presence of another global regulator IHF, since in an IHF mutant ECPR cannot activate the expression of ECP. Aim. To analyze the interplay between ECPR, RCSB, IHF and H-NS in ECP regulation.

**Materials and methods.** *In vivo* footprinting, EMSAs, *in vitro* footprinting, bending studies using gel electrophoresis, cat activity assays, two-hybrid and pull-down assays were performed.

**Results.** Our experiments showed that ECPR is still able to bind to its ADNA sequence in the absence of IHF, suggesting that IHF is rather necessary to generate the appropriate local conformational changes that allow the ECPR-dependent activation of the ECP operon. They also showed that IHF binds to a 29 bp sequence centered at position -134. Mutations in this site caused a decrease of approximately 84% of the wt ECP promoter activity; accordingly, IHF binds less efficiently to the mutant fragment. IHF acts by bending the regulatory region of ECP, which likely brings ecpr bound to its binding site near the promoter. Moreover, the response regulator rcsb also regulates ECP expression by binding to a consensus sequence that overlaps with the distal ttccct box and by forming heterodimers with ECPR.

**Conclusions.** Our current working model proposes that the interplay between IHF, ecpr and rcsb counteracts H-NS repression and enhances ECP promoter accessibility in response to specific environmental cues. In209713(DGAPA) and154287(conacyt).

### TLP-900. Type three-secretion phenotypic diversity of clinical enteropathogenic *E. coli* (EPEC) strains isolated from children

Carmen Adriana Contreras\*, Victor H. Bustamante\*,  
Theresa J. Ochoa\*, Alejandra Vázquez\*,  
Francisco Javier Santana\*, José Luis Puente\*

\*Instituto de biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México.

**Introduction.** EPEC pathogenesis includes the production and translocation of bacterial effector proteins through the “needle complex” of its type III secretion (T3S) system encoded by the locus of enterocyte effacement (LEE). In the TEPEC prototype strain e2348/69, PERC (encoded by the peaf) and GRLA (encoded by the LEE) can independently activate ler expression and, in consequence, of lee genes depending on the growth conditions. In shaken dmem cultures ler expression is mediated primarily by grla, while in static cultures + co2 is under the control of

PERC. Aim. To determine the T3S phenotypic diversity of TEPEC (PEAF+) and AEPEC (peaf-) EPEC clinical strains.

**Materials and methods.** The espa and espb/d secretion profiles of 189 EPEC strains isolated from children less than 1-year of age living in Lima-Peru, grown under prototypical inducing (dmem shaken or static+co2) and repressing (lb medium) culture conditions at 37°C, were analyzed by SDS-page and western blot. The role of ler, PERC and GRLA in the regulation of lee genes was determined for selected strains through the generation of deletion mutants and complementation experiments.

**Results.** Secretion of the espb/d proteins varied between the different isolates grown under standard secretion inducing conditions. According to their secretion profile, the strains were classified in three groups: secreted in all conditions tested (g1), secreted more efficiently in shaken-dmem (g2) and didn't secrete (g3). Interestingly, some AEPEC strains showed a normal secretion profile under dmem-static+co2 growth conditions despite not having perc, while other strains didn't secrete under any condition despite having a functional LEE.

**Conclusions.** Clinical TEPEC and AEPEC strains showed variability in the production and secretion of lee-encoded proteins when compared with the EPEC prototype strain, suggesting underlying differences in gene regulation or T3S function, which are currently under investigation. This work was supported by grants in209713 from dgapa, 154287 from conacyt

### TLP-901. Presença de genes de resistência a virulência e formação de biofilme por isolados de *Klebsiella pneumoniae* multidroga-resistentes submetidos a beta-lactâmicos

Catarina Fernandes de Freitas F.\*, Dyana Leal Veras V.†, Grasielle Vaz da Silva S.‡, Fernanda Cristina Gomes de Lima L.\*, Carmelita de Lima Bezerra Cavalcanti C.\*, Eduarda Vanessa Cavalcante Mangueira M.\*, Ana Paula Sampaio Feitosa F.\*, Nairoberg Cavalcanti Portela Junior P.§, Elverson Soares de Melo M.§, José Ribeiro Padilha P.||, Luiz Carlos Alves†, Fabio André Brayner†

\*Departamento de Medicina Tropical - Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical Universidade Federal de Pernambuco - Brasil.

†Departamento de Parasitologia - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães / CPqAM-FIOCRUZ - Brasil. ‡Instituto de Ciências Biológicas - ICB/UPE - Brasil. §Programa de pós graduação de Biotecnologia e Biotecnologia do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/FIOCRUZ-PE - Brasil. ||Setor de Microscopia eletrônica/Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami- Universidade Federal de Pernambuco - LIKA/UFPE - Brasil.

**Introdução.** A crescente incidência de isolados de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a  $\beta$ -lactâmicos em infecções relacionadas a assistência a saúde, tem sido amplamente relacionada com a presença de genes codificantes de  $\beta$ -lactamases, além de fatores de virulência como cápsula polissacarídica e adesinas fimbriais, que podem contribuir para a formação de biofilme. O objetivo deste estudo foi detectar a presença dos genes de resistência BLASHV, BLATEM, BLACTX-M e BLAKPC e de virulência CPS, FIMH e MRKD e a capacidade de formação de biofilme por isolados de *K. pneumoniae* multidroga-resistente (MDR) na ausência e presença de ceftazidima e cefotaxima.

**Materiais e métodos.** Foram analisados nove isolados de *K. pneumoniae* oriundos de pacientes hospitalizados na cidade de Recife-PE. A detecção dos genes foi realizada por PCR convencional. A formação de biofilme foi analisada por microscopia eletrônica de varredura após incubação dos isolados em meio de cultura contendo fragmento de catéter, na presença e ausência de ceftazidima e cefotaxima, separadamente.

**Resultados.** Sete dos 9 isolados foram positivos para os genes BLATEM, BLASHV ou BLAKPC e seis para BLACTX-M. Todos os isolados possuem os genes CPS, MRKD e FIMH e formaram biofilme na ausência de antibióticos. A submissão dos isolados a ceftazidima acelerou a formação de biofilme em três isolados bacterianos e diminuiu em seis, caracterizado pelos diferentes estágios da formação do biofilme em relação ao controle, tornando possível observar diferenças no número de células aderidas e na formação de matriz extra-polissacarídica do biofilme bacteriano. de forma semelhante, a cefotaxima acelerou a formação do biofilme em dois isolados e diminuiu ou inibiu em sete.

**Conclusões.** Apesar do comportamento variável encontrado com a submissão dos isolados a ceftazidima e cefotaxima, pode-se demonstrar que a maioria dos isolados apresentou diminuição da formação do biofilme devido a submissão a pelo menos um antibiótico testado.



### TLP-902. Study of antibacterial and antibiofilm activity of bioactive molecules from marine microorganisms

Franciane Rios S.\*, Melissa Fontes L.\*, Tiana Tasca\*, Alexandre José Macedo\*

\*Universidade Federal do Rio Grande do Sul Brasil.

**Introduction.** Currently it is widely accepted that infectious diseases are the result of the bacterial colonization forming complex polymicrobial biofilms, being a major concern in medical environments difficulting the treatment. In this context, it is urgent the search for an effective alternative for treating these infections, and marine microorganisms are recognized as valuable source for biotechnological production of bioactive molecules with antibacterial and antibiofilm activity. The aim of this study was to contribute to the development of new alternatives with antibacterial and antibiofilm activity by discovering bioactive molecules from marine environments.

**Materials and methods.** Marine organisms were collected on the coast of Alagoas state, Brazil, and associated bacteria were isolated using techniques described elsewhere. Production of metabolites was performed using marine media under agitation at 25°C in different periods of incubation. The antibacterial and antibiofilm activity was evaluated crude extract of fermented against bacteria: *Gardnerella vaginalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa*. Assays were performed in triplicate.

**Results.** Ten fermented extract showed antibacterial and antibiofilm activity against three of the tested bacteria. Against *G. vaginalis*, *E. coli* and *S. epidermidis* showed antibiotic activity up to 82%, 25% and 25%, and, antibiofilm activity up to 77%, 42% and 53%, respectively. There was no activity against *P. aeruginosa*.

**Conclusions.** These promising results obtained proves the importance of the marine organisms possessing antibacterial and antibiofilm activity. Complementary studies in order to purify and identify active molecules are now under investigation.

### TLP-903. Resposta *in vivo* de camundongos C57BL/6 infectados com *Purpureocillium lilacinum*

Danielly Sequeira\*, Paula de Luca\*, Joseli Ferreira\*, Cintia Borba\*

\*Fiocruz, Brasil.

**Introdução.** *Purpureocillium lilacinum* é um fungo patogênico, emergente, resistente a diversos antifúngicos e agente causal da hialohifomicose. As manifestações clínicas dessa doença variam desde infecções cutâneas e subcutâneas a severa oculomicroscópica. Objetivos – analisar a resposta *in vivo* de camundongos C57BL/6 infectados com *P. lilacinum*.

**Materiais e métodos.** Foram utilizados 120 camundongos imunocompetentes e quimicamente imunossuprimidos, inoculados com dois isolados de *P. lilacinum* provenientes de lesões cutânea e subcutânea. O perfil de virulência dos isolados foi avaliado pelos seguintes parâmetros: sinais clínicos dos animais infectados, recuperação de células fúngicas a partir do baço e mortalidade dos camundongos. Adicionalmente, citometria de fluxo foi utilizada para imunofenotipagem de células envolvidas na resposta imune dos animais.

**Resultados.** Os camundongos imunocompetentes foram infectados, mas não desenvolveram a doença. Entretanto, os camundongos imunossuprimidos apresentaram sinais clínicos como perda de peso, lesões dermatológicas e nódulos repletos de estruturas fúngicas. A imunofenotipagem revelou que as células TCD4 e TCD8 dos animais inoculados com o isolado de lesão subcutânea sofreram ativação celular precoce/intermediária, enquanto que nos animais inoculados com o isolado de lesão cutânea essa ativação foi mais tardia.

**Conclusões.** O isolado proveniente de lesão cutânea foi considerado o mais virulento, segundo a progressão da infecção nos animais. A ativação mais tardia das células dos camundongos inoculados com o isolado de lesão cutânea pode estar relacionada a maior virulência desse isolado. A imunossupressão parece não alterar a expressão de marcadores de ativação e migração celular nos linfócitos avaliados, porém, essa ativação parece ser mais acentuada nas células dos camundongos imunossuprimidos.

### TLP-904. Avaliação da produção de pigmentos por *Penicillium mlioluteum* em diferentes meios de cultura sólido

Ariane Garcia F.\*, Luis Henrique Romano\*, Cristina Paiva de S.\*, Alberto Colli Badino J.\*, Álvaro Baptista N.\*

\*Universidade Federal de São Carlos Brasil.

**Introdução.** Corantes são utilizados industrialmente em algumas aplicações como na coloração de alimentos, visando melhorar as propriedades organoléptica e atraindo os consumidores. Os corantes naturais, como os derivados de fungos, são alternativas aos corantes sintéticos. Desta forma, o presente trabalho visou analisar a produção de pigmentos pelo fungo *Penicillium mlioluteum* isolado da planta *Hymenaea* sp. Em diferentes meios de cultura sólidos e pH (5 a 7).

**Materiais e métodos.** Os meios de cultura em estado sólido (todos contendo agar) avaliados foram: amido (MAA), malte 2% (MA2%), extrato de malte (MEA), DG18, extrato de levedura CZAPECK (CYA), sabouroud (SAB), batata dextrose (PDA) e CZAPEK e ISP2, sendo o pH do último ajustado em 5, 6 e 7. Transferiu o inóculo em três pontos das placas de petri para cada meio testado (triplicata, a 28°C por 4 dias), sendo monitorado o crescimento das colônias e a produção de pigmentos através da coloração do meio sólido.

**Resultados.** Os meios de cultura MAA, mea e MA2% não houve produção de pigmento e o crescimento das colônias foi, respectivamente, 1,00 cm; 2,10 cm e 1,77 cm. Nos demais meios houve a presença halo formado pelo pigmento e tamanho de colônia, respectivamente, pda 0,4 cm e 2,00 cm, CZAPEK 0,94 cm e 1,41 cm, SAB 0,23 cm e 2,11 cm, CYA 0,53 cm e 1,85 cm. Nos meios DG18 e todos ISP2 apenas houve “gotas” do pigmento e sem formação de halos, os crescimentos foram: DG18 1,81 cm; ISP2 pH 5 2,28 cm, pH 6 1,68 cm e pH 7 1,76 cm.

**Conclusões.** Os meios CZAPEK, cya possuem maior produção de pigmentos, porém o ISP2 não houve formação de halos, mas houve muitas produção de gotas sobre as colônias, com maior crescimento em pH 5.

### TLP-905. Bacterial structure shifts in a pristine Amazon lake transect

Fernando Mauro Pereira S.\*, Pedro Avelino Maia de A.\*, Fernando Dini Andreote\*

\*Universidade Federal do Amazonas, Brasil.

**Introduction.** The Amazon region is considered the biggest worldwide preserved forest, with few areas of anthropization, normally constituted by small human communities. Natural environments normally present their own microbial community structure, and this may vary according to the seasonal environmental conditions. However, little is known about the microbial community's dynamics, associated with pristine lake environment from this region. This work will highlight some insights in to the dynamic interaction between the bacterial community and physical and chemical characteristics in a preserved lake (mamiá lake), located in the coari county - along the Amazon forest territory.

**Materials and methods.** Water samples from the surface and subsurface were analyzed by multiparameter probe and collected along a transect comprising 4 sample points from the lakeside to the middle of it, over about 2 km distance. The bacterial community structure were assessed by DGGE.

**Results.** The results demonstrated that the bacterial community follow a gradient, showing that it may vary from the points near to the lake board, creating a gradient to the points sampled from the middle of the lake. Furthermore, this variance follows a shannon diversity variance where which was observed to have a higher diversity near to the shore and low diversity in the middle of the lake and this is positively correlated to the physical/chemical parameters, such as ph, dissolved oxygen and redox potential. The response curve analyses showed that this variation is a result of a bacterial group dynamic, where some groups may increase or decrease according to the variance of the parameters.

**Conclusions.** These results suggest that besides the low variation of the physical/chemical parameters, there is a many microbial niches, occurring then, the selection of specific bacterial groups, concluding that it would possibly be a result of microbial interactions as a way of adaptation to the environment conditions.

### TLP-906. Prevalência de *Escherichiacoli* diarreiogênica em crianças diarreicas menores de cinco anos de idade na cidade de Botucatu/SP, Brasil

Regiane C.B. Dias\*, Melissa A. Vieira\*, Luis F. Dos santos\*, Alessandro L. Mondelli\*, Ricardo S. Yamatogi\*, Terue Sadatsune\*, Tania A.T. Gomes\*, Rodrigo T. Hernandez\*

\*Departamento de Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biociências–UNESP–Botucatu/SP, Brasil.

**Introdução.** *Escherichiacoli* diarreiogênica (ECD) representa uma das principais causas da diarreia infantil. Com base em seus mecanismos de virulência, podemos classificá-la em seis patótipos distintos: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC), *E. coli* produtora da toxina shiga (STEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) e *E. coli* que adere difusamente (DAEC). O objetivo deste estudo foi investigar a prevalência de ecd, entre crianças diarreicas, menores de cinco anos de idade, na cidade de Botucatu/SP, Brasil.

**Materiais e métodos.** Foram analisadas amostras de fezes de 124 crianças, atendidas no hospital das clínicas-fmb, entre março de 2013 e janeiro de 2014. Isolados de *E. coli* foram classificados nos patótipos de ecd pela pesquisa de marcadores de virulência específicos e, posteriormente, foram caracterizados quanto ao padrão de aderência em células hela e determinação do grupo filogenético. Os isolados portadores da região lee foram submetidos ao teste de fas (fluorescence actin staining), para avaliar a capacidade de induzir lesão attaching and effacing (AE).

**Resultados.** Foram isoladas 662 cepas de *E. coli* de 75,8% das crianças estudadas. Ecd foi isolada de 19,35% das crianças, sendo o patótipo EAEC o mais frequente (11,29%), seguido de EPEC-atípica (7,26%), stec (0,81%) e ETEC (0,81%). Nos ensaios de interação com células epiteliais, 55,6% das EPEC apresentaram o padrão de aderência localizada-like, e todas mostraram habilidade em induzir lesão ae. Entre os isolados de EAEC, 78,6% produziram o padrão agregativo. Somente 22,3% das EPEC atípicas pertencem aos sorogrupos de EPEC (o55 e o119). A maioria dos isolados de ecd foi classificada como pertencente aos grupos filogenéticos a (52,0%) ou B1 (32,0%).

**Conclusões.** ECD ainda representa um importante agente da doença diarreica entre crianças no município de Botucatu/SP, sendo EAEC e EPEC-atípica os patótipos mais frequentes na população estudada. Financiamento-FAPESP-2013/05170-1.

### TLP-907. Estudio filogenético de aislamientos de *Fonsecaea pedrosoi* de pacientes con cromoblastomycosis de México y Venezuela

Olga Carolina Rojas G.\*, Rafael Baltazar Reyes León-Cachón\*, María Guadalupe Moreno-Treviño\*, Gloria María González G.\*

\*Universidad de Monterrey, México.

**Introducción.** La cromoblastomycosis es una micosis subcutánea crónica causada por hongos filamentosos dematiáceos que viven en el medio ambiente. Su mecanismo de transmisión es por inoculación traumática del hongo en la piel. El agente etiológico más aislado en el mundo es *Fonsecaea pedrosoi* en países tropicales y subtropicales. Nosotros identificamos 10 aislamientos de *F. pedrosoi* de pacientes mexicanos y venezolanos con cromoblastomycosis, a través de características fenotípicas y estudios moleculares. Estudiamos la diversidad genética de los aislamientos.

**Materiales y métodos.** Evaluamos la susceptibilidad *in vitro* de los aislamientos clínicos a diferentes drogas por el método de macrodilución en caldo. Mediante secuenciación de los espaciadores transcritos internos (ITS) de las secuencias ribosomales del ADN, se realizó la identificación molecular y por el método de máxima parsimonia el estudio filogenético

**Resultados.** Todos los aislamientos identificados como *F. pedrosoi* fueron susceptibles a itraconazol, terbinafina, voriconazol y posaconazol. La anfotericina B fue la droga menos eficaz. En el análisis de la secuenciación de las regiones ITS de ADN ribosomal, de los aislamientos, comparados con 50 cepas de referencia, depositadas en el genbank, de diferentes latitudes, nueve de nuestros aislamientos se agruparon dentro del subgrupo a2, junto con varias cepas Brasileñas, mientras que una cepa se agrupó por separado. A pesar del bajo número de aislamientos de pacientes mexicanos y venezolanos evaluados en este estudio, es importante destacar que los resultados no mostraron significativa diversidad genética entre aislamientos de diferentes orígenes geográficos (Brasil, México y Venezuela).

**Conclusiones.** El análisis de las secuencia, utilizando el método de máxima parsimonia, nos permitió identificar la diversidad entre especies y discriminar entre distintos grupos y subgrupos del género *Fonsecaea*. Nuestros resultados son consistentes con los reportados por otros investigadores.

### TLP-908. Endophytic fungi of *Begonia venosa* at Alcatrazes island

Ana María Lima C.\*, Simone Possedente de L.\*, Sérgio Birello S.\*, Andre Rodrigues\*

\*UNESP – Univ. Estadual Paulista, “Júlio de Mesquita Filho” Brasil.

**Introduction.** The Alcatrazes archipelago comprises five islands located on the northern coast of Sao Paulo state. The Alcatrazes island is the major formation in this archipelago. Several endemic species are found in the island including the plant *Begonia venosa*. Endophytic fungi found in this plant species can be considered an underexplored source in respect to biodiversity and production of natural compounds with biological activity. Using culture-dependent methods, we investigated the diversity of endophytic fungi associated with *B. venosa*.

**Materials and methods.** Leaves from one mature *B. venosa* specimen were collected, surface disinfected and cut into 8 mm fragments. We used eight different culture media which were inoculate with three fragments each and incubated at 28°C for up to forty days. After the incubation period, axenic cultures were obtained on mea 2% and grouped into morphotypes, that were further identified using barcode molecular marker (sequencing the its region).

**Results.** A total of 50 isolates were obtained comprehending 22 taxa. Although the majority of fungi were isolated using mea (n= 12 isolates) and pda (n= 11) media, some endophytes grew only on minimal media. Diaphorte and colletotrichum were the prevalent fungi representing 38% and 28% of the isolates, respectively. In addition, other genera with lower frequency (under 8%) were observed: oudemansiella (8%) Aspergillus, bartalina, Fusarium, phyllosticta (4%), trametes and trichoderma (2%). About 6% of the isolates could not be assigned to genus level, because sequences hit showed low similarity with homologous sequences in the genbank database, possibly indicating an undescribed species. Studies in progress will show if such fungi are also present in related plant counterparts found in the continent.

**Conclusions.** *Begonia venosa* harbors a variety of endophytic fungi. Future studies will be carried out to investigate the production of active biocompounds from such endophytic fungi.

### TLP-909. Microbial assessment of artisanal ‘cachaça’

Thaís Giraldezi Pozippe\*, Aline Marques Bortoletto\*, Arthur Paron\*, André Ricardo Alcarde\*

\*Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Brasil, Cauré Barbosa Portugal.

**Introdução.** Cachaça is the Brazilian icon spirit, traditionally produced by spontaneous fermentation of sugarcane juice, and subsequent distillation. This study analyzes microbiota dynamics during spontaneous fermentation, and the impact on the distillate’s chemical profile.

**Materiais e métodos.** Leaven’s formation was performed by gradually increasing concentration from 5 to 16 °bx during five days in a 30l vat, with the first fraction acidified with lemon juice to pH 3,9. Samples were taken daily until absence of activity, plated in wln and lysine-agar (total yeast and non-Saccharomyces population assessment), in mrs and mannitol-agar (lactic and acetic bacteria). Distillation was performed in a simple copper pot still, and the distillate analyzed by gas chromatograph.

**Resultados.** Acetic and lactic bacteria took part during the whole process, with populations of up to 107 cfu/mL. Wild yeast of the genera *Torulaspota*, *Hanseniaspora*, *Pichia* and *Hansenula* dominated the medium during leaven’s formation (first 5 days). *S. cerevisiae* emerged from the sixth day on and fulfilled the fermentation within six days. Chemical analysis of the distillate showed no methanol trail, and low levels of acetaldehyde (2.2 mg/100 mL anhydrous alcohol), ethyl acetate (88.9 mg/100 mL AA) and acetic acid (25.3 mg/100 mL AA). In contrast, the concentration of higher alcohols (528.4 mg/100 mL AA) exceeded the limits prescribed (360 mg/100 mL AA), especially by the contribution of isoamyl alcohol.

**Conclusões.** Higher alcohols originate from the metabolism of nitrogenous compounds and are strain dependent, but can also appear from hard bacterial spoiling. They play an important role on cachaça's flavor but present a low detection threshold, and may eventually become an off-flavor component. Cachaça's artisanal fermentations are traditionally made in batch system, implying in complex interactions of microbial communities. Diversity of microorganisms brings important organoleptic contributions but make a point on rigorous monitoring to ensure healthy and sensorial integrity of the product.

### TLP-910. Decolorization activity of an anthraquinone dye by an enzymatic extract of *Trametes hirsuta* cultivated in potato peel waste

Heidi Schalchli\*, Deisy Baeza\*,  
Gabriela Briceño\*, María Cristina Diez\*

\*Universidad De La Frontera Chile.

**Introduction.** The agro-industrial processing generates large amounts of wastes, representing a significant loss of biomass that could be reused for the production of added value products, such as ligninolytic enzymes. These enzymes are produced by white-rot fungi being useful for the degradation of a variety of environmental pollutants, including pesticides and synthetic dyes. The objective was to evaluate the use of potato peelings as nutritional support for producing ligninolytic enzymes by *Trametes hirsuta* which could be applied in bioremediation processes.

**Materials and methods.** Potatoes were peeled, dehydrated at 70°C and milled. Erlenmeyer flasks with 100-mL of potato peel broth (64 g L<sup>-1</sup> peel powder, initial pH 5.6) were inoculated with liquid inoculum and incubated during 24 days. The crude extract was concentrated using a cellulose membrane (30 kDa). Laccase (Lac) activity was assayed as peroxide-independent degradation of 2,6-dimethoxyphenol with sodium malonate. The reaction mixture for the dye decolorization test contained remazol brilliant blue (RBBR) (200 mg L<sup>-1</sup>), pH 5.0 acetate buffer (100 mM) and concentrated enzyme extract (Lac 0.05 U mL<sup>-1</sup>; mip 0.058 U mL<sup>-1</sup>). Heat-denatured enzyme was used as control. The decolorization was determined by the diminishing of absorbance according to the control.

**Results.** The *T. hirsuta* filtrate showed high lac and mip activity (15,108 ± 628 U L<sup>-1</sup> and 11,707 ± 1,564 U L<sup>-1</sup>, respectively). Manganese peroxidase and lignin peroxidase were not detected. The enzymatic extract was able to decolorize RBBR by 56.1% and 90.4% within 2 and 10 h, respectively.

**Conclusions.** The results obtained showed that the enzymatic extract of *T. hirsuta* cultivated in potato waste efficiently decolorize rbbbr without additional redox mediators. Therefore, potato peelings constitute a low cost nutritional support for the production of ligninolytic enzymes, including lac and peroxidases. Acknowledgements: fondecyt postdoctoral project N° 3130650, CIDGRO-UFRO and conicyt/fondap/15130015.

### TLP-911. Frequência de *Cryptococcus* sp. em excretas de pombos (*Columba livia*) na cidade de Maceió-AL

Juliana Carla Cavalcanti M.\*, Karla Patrícia Chaves Da S.\*,  
Viviane Melo Coelho B.\*, Artur Biabiano De Vasconcelos\*,  
Aline Saraiva De Oliveira\*, Edson Moura Da Silva\*

\*Universidade Federal de Alagoas Brasil.

**Introdução.** A criptococose é uma micose oportunista que exerce grande risco a saúde pública, ocasionada pelo microrganismo *Cryptococcus* sp., no qual os pombos são importantes hospedeiros; disseminando-os no ambiente através de suas secreções e excretas. Objetivou-se verificar em excretas de pombos habitantes da cidade de Maceió-AL a presença de *Cryptococcus* sp., além de avaliar o risco na transmissão desta zoonose nas áreas estudadas.

**Materiais e métodos.** Foram colhidas 30 amostras fecais de pombos, onde passaram pelo processo de maceração em tubos de ensaio contendo 9 mL de solução salina acrescida de antibiótico (amoxicilina 500 mg) e incubadas por 24 h a 37°C. Em seguida, inoculou-as em duplicata nas placas de petri contendo ágar sabouraud e ágar sangue de ovino para crescimento de *Cryptococcus* sp. Na forma filamentosa e leveduriforme, durante 14 dias (temperatura ambiente) e 48 h (37°C), respectivamente. Utilizou-se a técnica do imprint para identificar os fungos filamentosos corados com azul de metileno, para identificação das leveduras, confeccionou-se lâminas que foram coradas pela técnica

de gram; e visualizadas em microscopia óptica. A identificação do fungo baseou-se nas características morfológicas e fenotípicas através de provas bioquímicas.

**Resultados.** Identificou-se nas amostras fecais analisadas, seis colônias de *Cryptococcus* sp. Confirmadas através de características morfológicas, fenotípicas e tintoriais. A frequência da ocorrência deste fungo neste estudo foi de 20% (6/30).

**Conclusões.** O isolamento e identificação de *Cryptococcus* sp. na cidade de Maceió-AL especialmente nas proximidades de hospitais caracteriza a criptococose como um problema de saúde pública, no qual comprova a necessidade da realização de estudos epidemiológicos e implantação de medidas de controle nas áreas estudadas.

### TLP-912. Frequência de *Histoplasma* sp. em excretas de pombos na cidade de Maceió-AL

Juliana Carla Cavalcanti M.\*, Karla Patrícia Chaves Da D.\*,  
Viviane Melo Coelho B.\*, Artur Biabiano De Vasconcelos\*,  
Aline Saraiva De Oliveira\*, Edson Moura Da Silva\*

\*Universidade Federal De Alagoas, Brasil.

**Introdução.** A histoplasmose é uma afecção ocasionada pelo microrganismo *Histoplasma* sp. Encontrado frequentemente em fezes de pombos. Esta classifica-se como micose endêmica de caráter zoonótico com incidência significativa no Brasil. O estudo objetivou detectar a presença de *Histoplasma* sp. em excretas de pombos que habitam a cidade de Maceió-AL, assim como avaliar o risco na transmissão desta zoonose a população em diferentes áreas estudadas.

**Materiais e métodos.** Foram colhidas 30 amostras fecais de pombos, onde passaram pelo processo de maceração em tubos de ensaio contendo 9 mL de solução salina acrescida de antibiótico (amoxicilina 500 mg) e incubadas por 24 h a 37°C. Em seguida, inoculou-as em duplicata nas placas de petri contendo ágar sabouraud e ágar sangue de ovino para crescimento de *Histoplasma* sp. Na forma filamentosa e leveduriforme, durante 14 dias (temperatura ambiente) e 48 h (37°C), respectivamente. Utilizou-se a técnica do imprint para identificar os fungos filamentosos corados com azul de metileno, para identificação das leveduras, confeccionou-se lâminas que foram coradas pela técnica de gram; e visualizadas em microscopia óptica. A identificação do fungo baseou-se nas características morfológicas e fenotípicas através de provas bioquímicas.

**Resultados.** Após análise, identificou-se duas colônias de *Histoplasma* sp. Nas amostras, confirmadas a partir de suas características morfológicas e fenotípicas. A frequência de *Histoplasma* sp. na região estudada foi 6,67% (2/30), revelando risco a população humana potencializada devido a coabitação destes reservatórios em residências, praças e hospitais.

**Conclusões.** O isolamento e identificação deste fungo exige a implantação de medidas de controle de pombos na cidade de Maceió-AL, enfatizando as regiões estudadas.

### TLP-913. Influência do volume de inóculo e antiespumante na produção da enzima coagulante obtida em fermentação submersa pelo *Thermomucor indicae-seudaticae* N31

Bruna Lima da S.\*, Natália Rigueti R.\*, Cleidiane Samara M.\*,  
Eleni Gomes\*, Roberto da Silva\*

\*Universidade Estadual Paulista "Júlio De Mesquita Filho" -  
São José Do Rio Preto/SP Brasil.

**Introdução.** Enzimas coagulantes desempenham importante papel na indústria láctea para produção de queijos. O coalho tradicional bovino está cada vez mais escasso, portanto, alternativas de substituição vem sendo estudadas. Uma alternativa a este problema é através da obtenção de enzimas coagulantes microbianas que possuam características de coagulação satisfatórias e semelhantes ao coalho tradicional. Em estudo anterior obteve-se uma protease coagulante em fermentação submersa pelo fungo *Thermomucor indicae-seudaticae* N31, com características adequadas para coagular. Visando o aumento da produção em biorreator avaliou-se a influência dos parâmetros como volume do inóculo e a interferência de antiespumante na produção enzimática.

**Materiais e métodos.** Os experimentos foram realizados em duplicata. As condições de fermentação foram de 3% de farelo de trigo, 0,3% de solução salina (MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>), 45°C e 150 rpm. A

avaliação do volume de inóculo foi feita com 1, 3 e 5 mL de inóculo em 48, 72, 96 e 120 h sem antiespumante. O teste com antiespumante foi feito com 0; 0,18; 0,26; 0,34 e 0,42% de antiespumante em 72 e 96 h e 1 mL de inóculo.

**Resultados.** A melhor a atividade coagulante foi observada após 72 h de fermentação, independente dos volumes de inóculo e antiespumante, apresentando diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) em relação aos demais períodos de incubação. Não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) em relação às diferentes quantidades de inóculo e nem prejuízo quando uma maior quantidade de antiespumante foi empregada na produção.

**Conclusões.** Os resultados foram interessantes, porque mostraram uma produção eficiente mesmo empregando uma baixa quantidade de inóculo e que as quantidades de antiespumante testadas não interferiram negativamente na atividade enzimática, permitindo o processo fermentativo em biorreator.

### TLP-914. Selección de actinobacterias eficientes en la biodegradación de plaguicidas organofosforados para su uso en consorcios bacterianos

Gabriela Briceño\*, Viviana Lienlaff\*,  
Heidi Schalchli\*, Graciela Palma\*, Cristina Diez\*

\*Universidad De La Frontera, Chile.

**Introducción.** La biodegradación de plaguicidas organofosforados es de gran significancia debido a su elevada toxicidad y presencia de metabolitos persistentes. Por su parte, una mayor biodegradación podría obtenerse a través del uso de consorcios microbianos debido a que se incrementa el número de vías catabólicas. Seleccionar actinobacterias eficientes en la biodegradación de clorpirifos (CP) y diazinon (DZ) para su utilización en consorcios bacterianos.

**Materiales y métodos.** Diferentes cepas de actinobacterias se utilizaron para estudiar la biodegradación de los insecticidas CP y DZ. Para ello, medio mínimo líquido se contaminó con una concentración de 50 mg l<sup>-1</sup>. Posterior a la incubación, se determinó la biomasa, pH, la concentración del contaminante y de los metabolitos de degradación. La selección de las cepas eficientes en la degradación se realizó a través de un índice (degradación/biomasa).

**Resultados.** Las cepas estudiadas incrementan el pH de los medios, no evidenciándose un efecto de la degradación de los contaminantes sobre este parámetro. Se observó que las 7 cepas evaluadas presentaron sobre un 80% de degradación de CP, mientras que 4 de ellas presentaron un incremento de su biomasa. Por su parte, no se detectó el metabolito de degradación, lo que podría indicar que no hubo producción o que el metabolito fue re-asimilado. Respecto a DZ, se observó que 5 de 8 cepas presentaron sobre un 30% de degradación e incremento de su biomasa. Sobre un 15% de degradación de DZ, se observó la presencia del metabolito de degradación, el cual se presentó en su máxima concentración (1.2 mg l<sup>-1</sup>) en la cepa que más degradó.

**Conclusiones.** Cuatro y cinco cepas eficientes en la degradación de CP y dz fueron seleccionadas, respectivamente, para el futuro diseño de un consorcio actinobacteriano capaz de degradar plaguicidas organofosforados. Proyecto de iniciación fondecyt N° 11130716.

### TLP-915. Monitoring the bacterial community dynamics in a biological reactor in different salinity levels

Larissa Quartaroli\*, Lívia Carneiro Fidélis Silva\*, Helena Santiago Lima\*, Marlianede Cássia Soares da Silva\*, Valéria Maia de Oliveira\*, Sérgio Oliveira de Paula\*, Cláudio Mudado Silva\*, Cynthia Canêdoda Silva\*

\*Universidade Federal de Vicosa, Brasil.

**Introduction.** The process of petroleum extraction of marine platform generates a large amount of saline wastewater with high concentrations of pollutant, among them ammonium ion. When these ions are dumped in the environment, without proper treatment, offers negative effects to aquatic environments. The removal of the ammonium ion is made by use of microorganisms. However the salinity directly affects the metabolism of these microorganisms. Thus, the salinity acclimation of the microbial community is essential for the best performance of the biological process. The aim of this study was to characterize the microbial community present in nitrifying

bioreactors operated in sequencing batch acclimated in different salt concentrations.

**Materials and methods.** The bioreactors were enriched weekly with 5 g.l<sup>-1</sup> of salt to reach a final concentration of 125 g.l<sup>-1</sup> of NaCl. Microbial communities of the bacteria domain, the nitrifying betaproteobacteria subclass, and the archaea domain were monitoring during acclimation by PCR followed by denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). Multivariate analyzes were performed using the DGGE band profiles.

**Results.** Multivariate analyzes were performed using the DGGE band profiles. In all groups, the microbial community profile present in the 50 and 75 g.l<sup>-1</sup> of NaCl appeared as the most diverse compared to 25 and 100 g.l<sup>-1</sup>. In addition, the microbial community from 50 and 75 g.l<sup>-1</sup> of NaCl were more correlated with the removal of ammonia in all groups. In the 105, 115 and 125 g.l<sup>-1</sup> of NaCl, the microbial communities showed quite similar profile, and suffered greater interference of salinity, the ammonium ion removal decreased.

**Conclusions.** In spite of removal decreased above 105 g.l<sup>-1</sup>, the acclimation step of microbial community enabled the ion removal in high salinity condition, such as 75 and 100 g.l<sup>-1</sup> of NaCl.

### TLP-916. Acción descomponedora de hongos macro-micetos del genero *Pleurotus* spp. y *Lentinula* spp., sobre residuos de cultivo de café y plátano

Jose Rafael Rodríguez N.\*, Patricia Eugenia Vélez A.\*,  
Nelson Rodríguez V.\*, Juan Carlos López N.\*

\*Cenicafe Centro Nacional De Investigación En Café Colombia.

**Introducción.** En Colombia, la caficultura y la producción de plátano corresponden a renglones agro-industriales importantes, que generan grandes cantidades de residuos lignocelulósicos en su proceso de beneficio y de corte, durante la cosecha, respectivamente. Esta investigación, consistió en evaluar la acción descomponedora en condiciones de laboratorio de macromicetos del género *Pleurotus* spp. y *Lentinula* spp. de la materia orgánica y su regulación sanitaria en cultivos de importancia económica, con el fin de evitar que estos residuos no se constituyan en reservorio de la broca del café y de la bacteria *Ralstonia solanacearum*, agente causal del "moko en plátano".

**Materiales y métodos.** Se establecieron cuatro tratamientos (mezcla de especies de *Pleurotus*, *Lentinula*, mezcla de *Pleurotus* y *Lentinula* y testigo absoluto), se registraron las variables: relación carbono nitrógeno, pH y humedad del sustrato, porcentaje de reducción de la materia orgánica y contenido de lignina y celulosa, expresado en peso seco de material, durante un periodo de 30 días equivalente el desarrollo micelial de este tipo de hongos.

**Resultados.** El análisis de varianza mostró diferencias entre tratamientos y la prueba de comparación de promedios de duncan ( $\alpha=0,05$ ), que el tratamiento que causó mayor descomposición en este periodo fue el residuo de plátano con la aplicación de la mezcla de *Pleurotus* spp. debido posiblemente al mayor contenido de lignina y celulosa frente a los otros sustratos evaluados (pulpa de café y fruto caído de café, respectivamente).

**Conclusiones.** El posible efecto acelerante en la descomposición de la materia orgánica y su uso como herramienta sanitaria bajo las condiciones evaluadas, se debe al complejo enzimático de los hongos lignocelulósicos.

### TLP-917. Dormancia metabólica de *Sphingopyxis Chilensis* S37 y *Sphingopyxis alaskensis*, y su relación con el contenido de PHA intracitoplasmático

Boris Ignacio Parra V.\*, Miguel Antonio Martínez P.\*

\*Universidad De Concepción, Chile.

**Introducción y objetivos.** Los polihidroxialcanoatos (PHA) son gránulos de reserva intracitoplasmáticos presentes en numerosas especies bacterianas. Se ha observado que su biosíntesis y acumulación pueden ser incrementadas cuando las células se desarrollan en un exceso relativo de carbono y baja disponibilidad de nitrógeno. Además, en algunos casos se ha observado que células con mayor reserva de pha disminuyen su actividad metabólica, lo cual sugiere que éstas podrían ingresar a un estado de baja actividad metabólica conocido como dormancia. El objetivo de este trabajo fue determinar si el incremento del pha intracitoplasmático está relacionado con un

aumento en la proporción de células dormantes en *Sphingopyxis alaskensis* y *Sphingopyxis chilensis*.

**Materiales y métodos.** Ambas cepas fueron cultivadas en razones carbono:nitrógeno 100:10, 100:2 y 100:0; a 30°C por 48 h. Luego fueron teñidas con rojo de nilo, para estimar el contenido de pha intracitoplasmático. La proporción de células dormantes se determinó utilizando los fluorocromos iodo de propidio y redoxsensor, contenidos en el kit BACLIGHTTM redoxsensortm green vitality. Desde cada condición se analizaron alícuotas por citometría de flujo, considerando 20.000 eventos por muestra.

**Resultados.** Se observó que ambas cepas almacenaron mayor contenido de PHA en inanición de nitrógeno, suplementado con glucosa (condición c:n; 100:0). En esta misma condición *Sphingopyxis alaskensis* presento un 18% de células consideradas dormantes, 8% más respecto a la relación c:n; 100:10. En cambio, *Sphingopyxis chilensis* presento un 21% de células dormantes en inanición de nitrógeno (c:n;100:0), 10% más respecto de la condición c:n; 100:10.

**Conclusiones.** Se concluye que un mayor contenido de pha estaría relacionado con un aumento en la proporción de células dormantes de *Sphingopyxis alaskensis* y *Sphingopyxis chilensis*. Esto puede explicarse por el aumento intracitoplasmático de pha el cual disminuye el contenido relativo de citoplasma y con ello afectar su actividad metabólica.

### TLP-918. Identification of a pro-amyloidogenic region involved in microcin E492 amyloid formation *in vivo* and *in vitro*

Paulina Aguilera\*, Andrés Marcoleta\*, Pablo Lobos\*, José María Valpuesta\*, Rocío Arranz\*, Octavio Monasterio\*, Rosalba Lagos\*

\*Laboratorio De Biología Estructural Y Molecular BEM, Depto. De Biología, Universidad De Chile. Consejo Superior De Investigaciones Científicas, Madrid, España.

**Introducción y objetivos.** Amyloid fibrils are highly stable structures formed by  $\beta$ -sheet intermolecular interactions. It has been proposed that amyloid formation is promoted by specific regions of the protein, and that particular residues prevent uncontrolled aggregation. Microcin e492 (mce492) is a pore-forming bacteriocin with the ability to form amyloid fibrils, phenomenon that has been mainly studied *in vitro*. Recently, our group has demonstrated that mce492 forms intracellular amyloid aggregates *in vivo*. The main goal of this work was the identification of regions and residues that affect mce492 amyloidogenesis *in vivo* and *in vitro*.

**Materiales y métodos.** Mutants predicted as pro-amyloidogenic were designed. Their *in vivo* amyloidogenic behavior was assessed by staining *E. coli* cells with an amyloidophilic dye and analyzing the formation of intracellular amyloid aggregates by flow cytometry and confocal microscopy. *In vitro* amyloid fibrils formation kinetics were followed by congo red binding and the fibrils morphology was observed by transmission electron microscopy (TEM).

**Resultados.** A region of mce492 was strongly predicted as pro-amyloidogenic. Two point mutants located near to this region showed an increased amyloidogenic behavior *in vivo*. In addition, both mutants showed faster *in vitro* aggregation kinetics than wild-type mce492. Fibrils morphology formed by both mutants was found to be the same as the wild-type. A mutant lacking the predicted pro-amyloidogenic region was also designed. This mutant presented a strongly decreased amyloid formation kinetics followed by the congo red binding assay.

**Conclusiones.** We identified a specific group of amino acids controlling mce492 amyloid formation *in vivo* and *in vitro*. This region harbors two gatekeeper residues which prevent uncontrolled aggregation.

### TLP-919. How to produce strong and biodegradable plastics using a biopolymeric matrix, *Xantana pruni*, generated by bacteria

Claire Tondo Vendruscolo\*, Angelita Da Silveira Moreira\*, Angelita Da Silveira Moreira\*, Cleia De Asalles\*, Cleia De Asalles\*, Carmen Calcagno\*, Carmen Calcagno\*

\*Universidade Federal de Pelotas, Brasil.

**Introducción y objetivos.** Various research groups in the world are developing new materials, especially biodegradable and biocompatible materials, with the purpose to replace the use plastics of petrochemical origin, in order to minimize the pollution the conventional petrochemical

plastics are the major polluters due mainly to the way they are improperly discarded and their slow biodegradability. The flexible or rigid bioplastics produced using xanthan pruni "bacterial biopolymers" are easily degradable in a short period, when compared to the conventional plastics, so their use is a good alternative to reduce the pollution in the near future

**Materiales y métodos.** We use this xanthan, chemically modified or not, as a biodegradable polymeric matrix in the production of strong biocompatible and biodegradable plastics. To produce biodegradable plastics we used xanthan pruni as the only biopolymeric matrix or building a matrix that may be combined with plasticizers and/or dispersants and other additives; optionally, salts, emulgents, anti-humectants, thermal and dimensional stabilizers, preservatives, and coloring agents. We prepared the compounds using solubilization and/or dispersion in liquids. We obtained biodegradable plastic "films" through the casting method, in a laboratory scale.

**Resultados.** The results for MPA 0.35--5.51, stretching 11--23, "module" (MPA) 8.7--195.3, and thickness 0.119--0.155 mm, show that the biodegradable plastics we developed have properties that are equivalent to the conventional plastics that are widely used, such as PP.

**Conclusiones.** These bioplastics produced using "bacterial biopolymers" are strong but easily degradable in a short period of time, when compared to the conventional plastics. Consequently, as we start using these bioplastics in our daily lives, they will help reduce pollution in a very near future.

### TLP-920. Identificação de *Escherichia coli* diarreioagênica em bovinos e sua aderência em cultura de células Hela no Brasil

Juan Josue Puño S.\*, Leonardo Pinto M.\*, Luis Eduardo de Souza G.\*, Sergio Paulo Dejato Da R.\*, Jacinta Sanchez P.\*, Augusto José Sabioli de Almeida S.\*, Renata Katsuko Takayama K.\*, Gerson Nakazato\*

\*Universidade Estadual de Londrina, Brasil.

**Introdução.** O bovino é o nosso principal animal de produção no Brasil por ser um dos principais produtores, exportadores e consumidores de carne bovina. No entanto, a criação extensiva ainda é predominante em alguns setores, o que aumenta as possibilidades de transmissão de micro-organismos entre animais, ambiente, alimentos e o homem. Entre as doenças envolvidas nesta cadeia de transmissão, destacamos *Escherichia coli* diarreioagênica (DEC). Levando-se em conta a proximidade existente entre animais de fazenda e humanos, estudos envolvendo a patogenicidade destes micro-organismos são importantes sob o ponto de vista epidemiológico e preventivo. Objetivo. Isolar amostras de dec em fezes de bovinos, na região de Paraná-Brasil.

**Materiais e métodos.** O isolamento foi realizado após semeadura de material fecal em meio seletivo agar mac conkey. A identificação foi realizada utilizando-se testes bioquímicos. Através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) foram pesquisados os seguintes genes de virulência: EAE (EPEC), STX (STEC) e hly (hemolisina-EHEC), e foram realizados ensaios de aderência em células hela.

**Resultados.** Foram isoladas 182 colônias de *E. coli* de fezes de 46 bovinos de corte e leiteiros, de propriedades rurais particulares da região de paraná. Foram encontradas 40 (21.9%) cepas de dec. Três patótipos relacionados AOS genes antes mencionados foram encontrados (EPEC, stec e ehec), onde sete cepas pertenciam ao patótipo EHEC. A aderência agregativa foi observada na maioria dos isolados.

**Conclusiones.** Cepas de STEC e ehec são reconhecidas por causarem surtos de síndrome hemolítica urêmica (SHU). Neste estudo, a presença de fatores de virulência de *E. coli* humana em cepas de bovinos, mostrando o padrão de aderência agregativo representaria um risco zoonótico de DEC. Estes resultados sugerem que o bovino é um importante reservatório dos três patótipos, mostrando que é importante estudar a relação existente entre animais de produção e infecções causadas por DEC.

### TLP-921. Biotransformación de nanodispersiones de esteroides de madera, a través de fermentación por lotes con *Mycobacterium sp. B3805*

Rodrigo Alejandro Mancilla V.\*, Camila Ahumada\*, Karen Marquez\*, Cecilia Brañes\*, Rolando Chamy\*

\*Universidad Técnica Federico Santa María-Pontificia Universidad Católica De Valparaíso, Chile.

**Introducción y objetivos.** La industria farmacéutica de esteroides se centra principalmente, en la producción mediante síntesis química

del principio activo farmacéutico 4-androstene-3,17-diona (AD). Estrategias competitivas de biotransformación están siendo utilizadas cada vez más. El problema de estas fermentaciones están dadas por la baja solubilidad del sustrato (esteroles) en medios acuosos y la escasa transferencia de masa. Nuestro grupo mediante una tecnología patentada de nanodispersiones acuosas de fitoesteroles junto con el diseño de medios de fermentación logró superar estos problemas con una mayor solubilidad de fitoesteroles que lo reportado, logrando productividades volumétricas de hasta 2,3 g AD/d L. Objetivo general: desarrollar una metodología para la biotransformación de nanodispersiones de esteroles de madera, con el fin de lograr una productividad volumétrica superior a lo reportado en un proceso por lotes con *Mycobacterium* sp. B3805.

**Materiales y métodos.** *Mycobacterium* fue evaluado en su capacidad de biotransformación con diferentes dispersiones de fitoesteroles y en diferentes medios en matraces y reactores de 2 L, así mismo se estudiaron diferentes parámetros operacionales. Todas las muestras fueron analizadas mediante cromatografía gaseosa con detector de ionización por flama (GC-FID).

**Resultados.** Se comprobó la efectividad de la nanodispersión, siendo superior en al menos un 20% a otras tecnologías disponibles en todas las concentraciones ensayadas, con mayores niveles de conversión de fitoesteroles en AD como mayor rendimiento molar en AD. Además, el uso de un tensoactivo con alto HLB permitió hasta cuadruplicar la biodisponibilidad de la nanodispersión. Nuestros resultados permitieron producir hasta 9,2 y 3,5 g AD/L luego de biotransformar 20 y 10 g/L de esteroles en 4 días en matraces y reactores respectivamente.

**Conclusiones.** El uso de nanodispersiones de fitoesteroles y un medio de biotransformación adecuado permitieron producir AD con altas productividades volumétricas con un microorganismo conocido en el estado del arte y sin modificaciones genéticas dirigidas.

### TLP-922. Desarrollo de una plataforma antifouling basado en grafeno

Fernando Dorta\*, Carolina Parra\*, Ricardo Henríquez\*,  
Patricio Haberle\*, Saavedra, Edra Jimenez\*, Rodrigo Rojas\*,  
Claudio Miranda\*, Patricio Villalobos\*

\*Universidad Técnica Federico Santa María, Chile.

**Introducción y objetivos.** El biofouling es un fenómeno indeseable de adherencia biótica. El cobre es reconocido material anti-incrustante recientemente cuestionado por sus efectos sobre ambientes susceptibles. El grafeno, monocapa 2D de carbono, posee gran potencial para diversas aplicaciones, como mejorar el desempeño de superficies metálicas. En particular las capacidades antifouling del grafeno no han sido exploradas. Objetivo: evaluar propiedades de adherencia bacteriana del grafeno para el desarrollo de tecnologías antifouling basadas en grafeno.

**Materiales y métodos.** Grafeno crecido en capas sobre cobre fue transferido a superficies de sílice para evaluar propiedades antifouling. Se empleó SEM y microraman para caracterizar morfología y calidad de las superficies. Halomonas, produciendo biofilm y causante de epizootias en larvas de ostión, fueron empleadas en los ensayos antifouling. La densidad de biofilm fue evaluada mediante microscopía epifluorescente 72 h postcultivos. Se empleó QRT-PCR para evaluar expresión de genes de referencia ALGC, CSGA y FNBA en halomonas, comprometidos en adhesión de *Ps. aeruginosa*, *Staph. Aureus* y *E. coli*.

**Resultados.** Microraman dio cuenta de la calidad de los recubrimientos con grafeno indicando prevalencia de bandas G y 2D, sin significativas alteraciones bajo sumersión en agua de mar. Resultados parciales indican variación en el porcentaje de bacterias adheridas a superficies con grafeno respecto al control. Sin embargo la viabilidad bacteriana no muestra diferencias respecto a superficies sin grafeno. La naturaleza de fijación de halomonas no ha sido descrita. Se logró hacer uso de genes de adhesión descritos en otras cepas bacterianas. Se observó expresión diferencial en los genes relacionados con la adhesión en superficies bañadas con grafeno, indicando que el compuesto puede interferir el asentamiento bacteriano inhibiendo las capacidades de adhesión de la bacteria.

**Conclusiones.** La variación en la concentración de bacterias adheridas a superficies con grafeno es explicada por efectos sobre expresión de genes involucrados en adhesión, más que por las capacidades como biocida directo.

### TLP-923. Trayectoria de la colección nacional de cepas microbianas y cultivos celulares del CINVESTAV-IPN, México: pilar para el desarrollo de la biotecnología nacional

J. Martínez-Cruz\*, J.C. Estrada-Mora\*, D.A. Estrada-Bárceñas\*,  
A. Sánchez-Chavarría\*, S.V. Chapa-Vergara\*, J. Sergio Zepeda-Hernández\*, J.I. Piñones-Pozos\*, A.E. Llanas-Soto\*, J.M. Olivares-Ceja\*, C. García Hinojosa\*

\*Centro De Investigación Y Estudios Avanzados del I.P.N.  
Av. Instituto Politécnico Nacional, México

La colección mexicana de cultivos microbianos como parte del centro de investigación y de estudios avanzados del IPN (CINVESTAV) mantiene bajo custodia más de 2,000 cepas del grupo de hongos filamentosos, levaduras, bacterias y microalgas, aislamientos en nuestro país, obtenidos por intercambio con profesionales y de otras colecciones, dentro y fuera de nuestro país.

Considerada como la colección microbiana de importancia para la biotecnología en México, es miembro de la federación mundial de colecciones de cultivos (WFCC) desde 1980; reconocida como CDBB-500 ofrece material biológico y servicios como el aislamiento de cultivos, identificación, taxonomía, mantenimiento, distribución, asesoría e investigación y que se ofrece a la comunidad científica, instituciones de educación, centros de investigación e industria en México y el mundo.

La colección de microorganismos junto con el departamento de computación del CINVESTAV ha desarrollado un sistema de información, el sistema conocido como "micro 500" contiene la información de las cepas, el número de registro, acrónimo en otras colecciones, depositantes, usos y aplicaciones, condiciones óptimas de crecimiento e información bibliográfica y que está disponible en <http://micro500.cs.cinvestav.mx>.

Actualmente la información contenida en la base de datos es parte del nodo de la red mundial de información sobre biodiversidad en México, un sistema computarizado de información biológica compartido a nivel nacional y en el continente americano que incluye bases de datos especializadas de otros centros de educación superior, públicas y privadas, con información curatorial, taxonómica, ecológica, cartográfica, información etno-biológica y bibliográfica, información en constante actualización y cuyo acceso es abierto al público en general en todo el mundo.

### TLP-924. Micoteca del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel": 59 años preservando la biodiversidad fúngica de interés médico en Venezuela

María Mercedes Panizo\*, Vera Reviakina\*, Maribel Dolande\*,  
Giuseppe Ferrara\*, Nataly García\*, Víctor Alarcón\*, Gladys Cordero†

\*Depto. de Micología. †Gerencia De Docencia E Investigación.  
Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". Caracas,  
República Bolivariana De Venezuela.

La micoteca del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" (INHRR), fue creada en el año 1955, como una necesidad para el desarrollo de la sección de micología, fundada dos años antes. Es la colección de hongos autóctonos más grande y representativa del país, ya que conserva cepas fúngicas de interés médico, epidemiológico, industrial e histórico. Está localizada en el departamento de micología y desde el año 2003, forma parte de la colección de cultivos de hongos, virus y líneas celulares del INHRR. Con el apoyo del Ministerio de Ciencia y Tecnología (MCT), a través del Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FONACIT), y en acuerdo suscrito con el Centro Venezolano de Colecciones de Microorganismos (CVCM), se creó el primer nodo de servicio, denominado INHRR-CVCM, responsable de la preservación, manipulación y distribución de virus animales, hongos, levaduras y cultivos celulares preservados en sus colecciones, con independencia financiera y funcional. Los hongos se hallan preservados por duplicado bajo los métodos de agua por castellani y aceite mineral, lo que permite mantener prácticamente dos colecciones al mismo tiempo, *Escherichia coli* así su permanencia. Cuenta con aproximadamente 2.500 cepas pertenecientes a 68 géneros y 135 especies de hongos levaduriformes, filamentosos y actinomicetos. Posee un área totalmente equipada, procesos de preservación y mantenimiento optimizados, base de datos semi-automatizada, personal calificado y está en continuo crecimiento, ya que está ubicada en un centro de referencia nacional en diagnóstico micológico. La conservación de hongos microscópicos es fundamental, debido a su importancia en el funcio-

namiento de los ecosistemas y a su impacto en la vida del hombre. Esta micoteca garantiza la preservación *ex situ* de la biodiversidad fúngica; sus características la consolidan como una unidad cónsona con las exigencias de los ámbitos científico, tecnológico y docente, para el desarrollo de investigaciones científicas, particularmente en el área de medicina.

### TLP-925. Colección nacional de cepas de rizobios en Uruguay: caracterización y puesta en valor

Claudia Barlocco\*, María Mayans†, Natalia Mattos\*, Nora Altier\*, Elena Beyhaut\*

\*Laboratorio De Microbiología De Suelos-Plataforma Bioinsuomas-Inia. Uruguay. †Dirección General De Servicios Agrícolas-Ministerio De Ganadería Agricultura Y Pesca. Uruguay.

En la década del sesenta, el estado Uruguayo creó la colección nacional de cepas de rizobios. Inicialmente en el ámbito del plan agropecuario, y transferida luego al ministerio de ganadería, agricultura y pesca (MGAP), fue concebida como una colección abierta y sin fines de lucro. Esta colección constituyó, por muchos años, la base de los programas de selección de cepas para leguminosas de interés agronómico, de donde surgieron las recomendaciones oficiales para la industria nacional de inoculantes. Actualmente, la colección es manejada en el marco de un convenio de cooperación interinstitucional entre el MGAP y el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA). Por este convenio, el MGAP conserva la titularidad de la colección e INIA realiza la curaduría de la misma.

Del total de cepas que integran la colección, provenientes de instituciones internacionales y diversos proyectos de investigación, se prioriza el estudio de 20 cepas comerciales que se recomiendan anualmente a la industria de inoculantes y 431 identificadas con el código "U" (Uruguay). Las 20 cepas comerciales, con perfil genético determinado por box-PCR, se conservan liofilizadas y en glicerol (-20°C y -80°C). Anualmente se evalúan sus características simbióticas *in planta* en cámara de crecimiento e invernáculo. La colección "U" es mantenida en tubos con YEM-agar inclinado a 4°C y se ha iniciado su puesta en valor mediante la evaluación de viabilidad y pureza en placas con YEM-agar, TSA y AS. Adicionalmente, se han desarrollado herramientas informáticas para facilitar la comunicación interinstitucional y la gestión de la información.

### TLP-926. Calidad en colecciones de cultivos de microorganismos: una mirada desde la norma ISO 9001

Ingrid Natalia Ramirez C.\*

\*Pontificia Universidad Javeriana. Est. Microbiología Industrial.

La norma específica los requisitos para un sistema de gestión de calidad (SGS) que se utilizan para ser aplicadas internamente en las colecciones de microorganismos sin importar su tamaño o área de especialización. Dependiendo del país, la norma puede ser denominada de manera diferente teniendo en cuenta el nombre del organismo de certificación de cada país; lo importante es que siempre se indicará que es la norma iso 9001, acompañada del año de la última actualización de la norma; donde ésta protege la norma que está directamente relacionada con el mejoramiento y satisfacción del cliente, centrándose en el modelo de gestión de la organización.

Esta norma es universal y su uso es claro y específico, donde su aplicación cuenta con referencias normativas y requisitos generales para gestionar la documentación y definir las políticas del "proceso". Es importante reconocer que quienes deseen implementar esta norma en su colección deben centrar su trabajo de sistema de gestión de calidad, orientado a él cliente o clientes a quienes atiende; sin embargo la colección debe tener presente las recomendaciones que la norma sugiere en el enfoque basado en procesos, para lograr la satisfacción del cliente mediante el cumplimiento de los requisitos.

Un sistema de gestión con un enfoque orientado en "procesos" debe establecer los objetivos; una vez la colección defina sus objetivos y cómo los va a conseguir, debe tener claro que va a lograr con ello, es decir debe tener un esquema general específico de los resultados obtenidos al finalizar el proceso. Cuando uno o varios requisitos de esta norma internacional no se puedan aplicar debido a la naturaleza de la organización y de su producto, pueden considerarse para su exclusión, el objetivo declarado en la norma, es que la organización busque sin descanso la satisfacción del cliente a través del cumplimiento de los requisitos.

### TLP-927. Identificación fenotípica, molecular y conservación de *Clostridium perfringens* como cepa control en el monitoreo de las pruebas de indicador de aguas de Colombia

Marcela Rey Arévalo\*, Camilo Venegas\*, Claudia Campos\*, Alba Alicia Trespalacios\*

\*Profesor Asociado, Departamento De Microbiología. Pontificia Universidad Javeriana. Curadora, Colección De Microorganismo. Pontificia Universidad Javeriana. Investigador - Laboratorio De Indicadores De Aguas Y Lodos. Pontificia Universidad Javeriana.

Dentro de la evaluación de la calidad de aguas potable en Colombia, el laboratorio de indicadores de calidad de agua y lodos (LICAL) de la Pontificia Universidad Javeriana implementa en sus análisis el montaje de un control positivo para el medio SPS (Merck), utilizado para la detección de esporas sulfito reductor en aguas. La importancia de utilizar un control positivo como *Clostridium perfringens* para la producción de sulfito en el medio SPS (Bisson & Cabelli, 1980), permite la aceptación de la prueba montada dentro del laboratorio del Lical. El objetivo de este estudio fue comparar e identificar fenotípica y molecular la producción de sulfito de dos cepas de *Clostridium* sp. CMPUJ 262 y CMPUJ 431, como un primer acercamiento en la identificación de una cepa tipo control para la prueba y de referencia para la colección de microorganismos de la Pontificia Universidad Javeriana (CMPUJ).

Las dos cepas *Clostridium* sp. fueron identificadas por bioquímicas (crystal ANR) y producción de sulfito en el agar SPS (Merck), también se realizaron pruebas de amplificación molecular del gen 16S rRNA utilizando los marcadores universales 27F y 1492R. Los productos de PCR se secuenciaron en Macrogen (Corea) y los resultados obtenidos de las secuencias de cada aislamiento fueron comparados en la base de datos del genbank (Benson et al., 1999) usando el algoritmo Blast (basic local alignment search tool) (Altschul et al, 1990; Díaz, 2011). Los resultados obtenidos fueron similares en un 97% para la cepa CMPUJ 262 comparada con *Clostridium perfringens* ATCC 13124. Según los resultados obtenidos se puede decir que la cepa *Clostridium* CMPUJ 262 es de la especie *perfringens* y puede ser catalogada como una cepa tipo control para los análisis del LICAL y la CMPUJ.

Todos los microorganismos fueron conservados por el método de congelación y liofilización en glicerol y leche al 20% (v/v).

**Palabras claves.** *Clostridium perfringens*, conservación, sulfito reductor, identificación fenotípica y molecular.

### TLP-928. Perfil de la colección de microorganismos de la Pontificia Universidad Javeriana (CMPUJ) de Colombia

Marcela Rey Arévalo\*, Natalia Ramirez†, Alba Alicia Trespalacios\*‡

\*Curadora, colección de microorganismo Pontificia Universidad Javeriana. †Estudiante de microbiología industrial Pontificia Universidad Javeriana. ‡Grupo de enfermedades infecciosas, Departamento de Microbiología. Pontificia Universidad Javeriana, Colombia.

La colección de microorganismos de la Pontificia Universidad Javeriana (CMPUJ) nace en Bogotá, Colombia en el año 1970, de la necesidad de implementar métodos de conservación que permitieran garantizar la viabilidad de las cepas de importantes proyectos de investigación por largos periodos de tiempo. La CMPUJ apoya en la conservación microbiológica a grupos de investigación que trabajan en los campos de biotecnología, bioinformática, salud humana, biodiversidad y conservación. Gracias a esta diversidad de campos, los microorganismos han sido depositados según sus características potencialmente utilizables basados en los conocimientos y experiencia de los investigadores. Actualmente la CMPUJ es miembro de la federación mundial de colecciones de cultivos (WFCC) con el número WDCM - 857 y es una de las pocas colecciones que presta servicios de identificación fenotípica, caracterización molecular, depósito y mantenimiento de las cepas a otras instituciones de Colombia.

La colección cuenta con dos profesionales graduados en ciencias básicas quienes se encargan de las funciones de la curaduría de tiempo completo para la correcta identificación, conservación y determinación cuantitativa del proceso de guardería de bacterias y hongos. Posee dos laboratorios y tecnología adecuada para conservar según los requerimientos de cada ejemplar depositado. La CMPUJ custodia alrededor de 525 microor-

ganismos, clasificados según familia: (66) géneros con (203) especies de bacterias y (45) géneros con (38) especies de hongos, clasificados taxonómicamente con pruebas fenotípicas (API, CRYSTAL, RAPID) y molecular. Actualmente se trabaja en la investigación y diseño de protocolos de conservación de nuevos géneros de microorganismos pertenecientes al Centro Colombiano de Genética y Bioinformática de Ambientes Extremos (GEBIX) depositados en la colección como CMPUJ u833 *Caloramator quimbayensis* (Rubiano *et al.*, 2012), CMPUJ U855 *Tistlia consotensis* (Díaz *et al.*, 2012) y las levaduras transformadas genéticamente como CMPUJ H102 *Pichia pastoris* IDS nativa del Instituto de Errores Innatos. El interés de la colección de microorganismos de la Pontificia Universidad Javeriana siempre será el de seguir trabajando en la búsqueda de nuevas estrategias informativas y tecnológicas que permitan evitar la duplicación de esfuerzos a la hora de acceder, explorar, utilizar de manera mesurada y sostenible, este importante recurso natural de la biodiversidad Colombiana. Palabras claves: conservación, identificación fenotípica y molecular.

### TLP-929. MIRRI – Una red paneuropea de recursos microbianos y servicios relacionados

Aurora Zuzuarregui\*, Rosa Aznar\*, David R. Arahal\*  
 Consorcio MIRRI\*

\*Colección Española Cultivos Tipo, Universidad de Valencia, Paterna, España y Departamento de Microbiología y Ecología, Universidad de Valencia, Burjassot, España.

**Introducción.** Los microorganismos son recursos cruciales para la investigación y la industria, lo que obliga a optimizar su disponibilidad a través de servicios públicos. Actualmente, la diversidad microbiana conocida se encuentra dispersa, diversificada y a veces oculta, tanto en Colecciones de Cultivo como en laboratorios de investigación, lo que limita el enorme potencial que en su conjunto alberga.

**Objetivos.** Crear una infraestructura paneuropea distribuida que facilite el acceso a recursos y servicios de calidad y a la experiencia en diferentes ámbitos de la microbiología, a través de un portal único.

**Materiales y Métodos.** MIRRI (Microbial Resources Research Infrastructure), es un proyecto financiado por la Comisión Europea que comenzó en noviembre de 2012 y en el que participan 34 colecciones de cultivo y 2 centros de investigación. Para el diseño de la infraestructura se han consultado usuarios, proveedores y demás partes interesadas mediante reuniones y cuestionarios elaborados *ad hoc*.

**Resultados.** Se están estableciendo criterios comunes de calidad de los recursos y servicios y de cumplimiento con normativas y acuerdos internacionales como los derivados del Convenio de la Diversidad Biológica<sup>9</sup>, entre otros. Se están elaborando estrategias para promover la calidad, el aumento en cantidad y la interoperabilidad de los datos relacionados con los recursos, así como el acceso a los mismos. Se están planteando estructuras orientadas a facilitar la provisión de servicios (incluyendo material y experiencia) y la formación, tanto para usuarios como para el personal de los Centros de Recursos Microbianos (mBRCs). Se están diseñando los órganos que permitirán gobernar la infraestructura.

**Conclusiones.** A través del proyecto MIRRI ha comenzado el proceso de interconexión entre las colecciones de cultivo, A) a el estatus de nes de patente y s las partes intrasadas europeas para conseguir un acceso centralizado, armonizado y único a recursos, servicios y experiencia dentro del campo de la microbiología. aMIRRI (<http://www.mirri.org>) bCBD (<http://www.cbd.int>)

### TLP-930. La Colección Española de Cultivos Tipo (CECT): Centro de Recursos Microbianos con Proyección Internacional

Aurora Zuzuarregui\*†, David R. Arahal\*†, Patricia Elizaquível\*,  
 Jose Miguel López-Coronado\*, Laura López\*, Teresa Lucena\*,  
 Mari Carmen Macián\*, María A. Ruvira\*, Rosa Aznar\*†

\*Colección Española Cultivos Tipo, Universidad de Valencia, Paterna, España. †Departamento de Microbiología y Ecología, Universidad de Valencia, Burjassot, España.

**Introducción.** La Colección Española de Cultivos Tipo (CECT, [www.cect.org](http://www.cect.org)) es la única colección pública en España que mantiene y suministra

bacterias, arqueas, hongos filamentosos y levaduras. Es Autoridad Internacional para el depósito de microorganismos con fines de patente y miembro de redes internacionales de colecciones de cultivo (ECCO, WFCC). Además, participa en proyectos internacionales dedicados a la conservación microbiana (GBRCN, EMbaRC, MIRRI).

**Objetivos.** El objetivo de la CECT es dar un servicio de calidad a investigadores, laboratorios de salud pública y control de calidad, empresas biotecnológicas y centros educativos a través del alto nivel de cualificación de su personal y el seguimiento de normas internacionales para la gestión de Centros de Recursos Microbianos (mBRCs).

**Materiales y Métodos.** Aplicación de sistemas de gestión basados en la evaluación y la mejora continua. Utilización de las más novedosas técnicas de autenticación de microorganismos. Diálogo con los usuarios para conocer sus expectativas e intentar satisfacerlas.

**Resultados.** La CECT tiene certificado ISO 9001 para el depósito, preparación, venta y distribución de microorganismos y cumple con los criterios de la OECD para mBRCs<sup>9</sup>. Entre sus funciones cabe destacar: Mantener y suministrar recursos microbianos. Alberga unas 8000 cepas diferentes y suministra casi 4000 cultivos/año a países de los cinco continentes. Proporcionar información molecular, fisiológica y estructural de sus recursos a través de su catálogo público on-line. Ofrecer servicios relacionados con el depósito y la caracterización/identificación de microorganismos. Impartir cursos de formación y ofrecer asesoramiento sobre conservación, nomenclatura y taxonomía de microorganismos. Realizar investigación sobre los recursos que conserva gracias al personal experto cualificado que forma parte de su equipo.

**Conclusiones.** La CECT es un mBRC en expansión que interacciona con investigadores de diferentes partes del mundo, incluyendo países Latinoamericanos, a través de cursos de formación, colaboraciones científicas y provisión de servicios o recursos, entre otros. <sup>9</sup><http://www.oecd.org/science/biotech/38777417.pdf>

### TLP-931. Ocorrência e identificação molecular de *Vibrio parahaemolyticus* em mexilhões (*Perna perna*) produzidos em Santa Catarina, Brasil

Helen Silvestre da Silva\*, Clarissa Barretta\*, Karin de Medeiros\*,  
 Marília Miotto\*, Norton Komora Silva\*, Priscila Fernanda Cortina\*,  
 Cleide Rosana Werneck Vieira\*

\*Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina/Brasil.

**Introdução.** Entre as bactérias da microbiota indígena de ambientes costeiros, a família Vibrionaceae, especialmente a espécie *Vibrio parahaemolyticus* é considerada uma das espécies mais frequentemente relacionadas com doenças em humanos pelo consumo de moluscos. *Vibrio parahaemolyticus* encontra-se naturalmente presente em ambientes marinhos, costeiros e estuários, sendo algumas estirpes potencialmente patogênicas para o homem. No Brasil, a produção de moluscos bivalves ocorre principalmente no estado de Santa Catarina, na região sul do Brasil, devido às excelentes condições geográficas desta área para o cultivo de organismos marinhos. **Objetivos.** Enumerar e identificar por PCR em tempo real cepas de *Vibrio parahaemolyticus* em mexilhões (*Perna perna*) provenientes de diferentes regiões de cultivo de moluscos bivalves no Estado de Santa Catarina, Brasil.

**Materiais e métodos.** As amostras foram coletadas diretamente no ponto de cultivo e levadas ao laboratório para análise. Foram coletadas 215 amostras de mexilhões em diferentes regiões de cultivo no Estado de Santa Catarina. A enumeração de *Vibrio parahaemolyticus* foi realizada segundo o método descrito no Bacteriological Analytical Manual (BAM/FDA). A confirmação genotípica foi realizada utilizando-se o *Vibrio parahaemolyticus* Multiplex Real-time PCR Kit (Bioteccon) em equipamento PCR em tempo real Rotor Gene Q (Qiagen).

**Resultados.** Em 52 das 215 amostras a presença de *Vibrio parahaemolyticus* foi confirmada pela PCR. As contagens variaram entre <0,5 log<sub>10</sub> NMP g<sup>-1</sup> (não detectável) a 3,2 log<sub>10</sub> NMP g<sup>-1</sup> de amostra.

**Conclusiones.** Os resultados demonstram que, embora tenha-se encontrado nível baixo de contaminação por *Vibrio parahaemolyticus* nos mexilhões, essas bactérias podem incluir cepas com potencial patogênico ao homem. Dessa forma é necessário que se mantenha um monitoramento constante dos níveis de contaminação neste molusco, garantido assim, a segurança do consumidor.



## EDITORIAL / EDITORIAL

- Colombia, punto de encuentro de la Microbiología mundial en 2014: Un sueño que se cumple, progreso humano que se comparte y hermandades que se fortalecen

## RESÚMENES / ABSTRACTS

- Conferencias Magistrales / Central Conferences
- Simposios / Symposia
- Presentaciones Orales / Oral Presentations
- Presentaciones en Póster / Poster Presentations



**XXII CONGRESO LATINOAMERICANO  
DE MICROBIOLOGÍA - ALAM 2014**

**4 CONGRESO COLOMBIANO DE  
MICROBIOLOGÍA - 4 CCM 2014**

**CLÍNICA - BIOANÁLISIS  
INDUSTRIAL - AMBIENTAL**

**5 AL 8 DE NOVIEMBRE - CENTRO DE CONVENCIONES LAS AMÉRICAS - CARTAGENA, COLOMBIA**

**Revista HECHOS  
Microbiológicos**

**Escuela de Microbiología - Universidad de Antioquia  
Calle 70 # 52 - 72 - Piso 6 - Oficina 606 - Teléfono: 2198490  
revistahechosmicrobiologicos@udea.edu.co / www.udea.edu.co/hm  
Medellín - Colombia**