

Embrapa Amazônia Ocidental
SIN - BIBLIOTECA

XX Congreso Latinoamericano de Microbiología

IX Encuentro Nacional de Microbiólogos

Hotel Radisson Montevideo del 27 al 30 de setiembre de 2010
Montevideo - Uruguay

alam2010

SUM / SOCIEDAD URUGUAYA DE
Microbiología



Atividade anti-protozoários ...
2010 SP-PP-S8744



CPAA-22996-1

alam2010.org.uy

S
8744

Libro de Resúmenes

J 057 ATIVIDADE ANTI-PROTOZOÁRIOS DE *Croton cajucara* BENTH. E DO 7-HIDROXI-CALAMENENORodrigues, Igor¹; Azevedo, Mariana¹; Rosa, Maria¹; Chaves, Francisco²; Bizzo, Humberto³; Alviano, Daniela¹; Alviano, Celuta¹¹ Brasil - ¹ Universidade Federal do Rio de Janeiro; ² EMBRAPA Amazônia Ocidental/AM; ³ EMBRAPA Agroindústria de Alimentos/RJ

A quimioterapia utilizada atualmente para o tratamento das leishmanioses e da doença de Chagas está frequentemente associada a sérios efeitos colaterais. Óleos essenciais são misturas de compostos naturais voláteis derivadas do metabolismo secundário de plantas conhecidos desde a antiguidade por possuírem propriedades antibacterianas e antifúngicas.

Previamente, nosso grupo descreveu a atividade leishmanicida do óleo essencial de *Croton cajucara* (sacaca) contra *Leishmania amazonensis*. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade anti-protozoários de óleos essenciais obtidos de 5 diferentes acessos de sacaca e do 7-hidroxi-calameneno isolado desses óleos contra parasitas do gênero *Leishmania* e *Trypanosoma*.

Formas promastigotas de *L. amazonensis* e *L. chagasi* e epimastigotas de *T. cruzi* foram incubadas na presença de diferentes concentrações dos óleos essenciais e do 7-hidroxi-calameneno para o estabelecimento da concentração mínima inibitória (CMI). A viabilidade das células foi determinada por microscopia óptica e pela técnica em microplaca baseada na redução da resazurina. Também foi avaliada a toxicidade dos óleos essenciais e do 7-hidroxi-calameneno frente a células de mamíferos utilizando macrófagos murinos. Os acessos de *C. cajucara* ricos em 7-hidroxi-calameneno apresentaram CMI de 62,5 µg/ml para *L. amazonensis*, 125 µg/ml para *L. chagasi* e 500 µg/ml para *T. cruzi* após 48h de incubação. A CMI do 7-hidroxi-calameneno foi de 14 µg/ml para formas promastigotas de *L. amazonensis* e *L. chagasi*, e de 7,8 µg/ml para formas epimastigotas de *T. cruzi*. Nenhuma das substâncias testadas apresentou toxicidade para macrófagos murinos nas maiores concentrações utilizadas nas CMIs neste estudo.

Os resultados aqui apresentados reafirmam a importância dos óleos essenciais como fonte de compostos promissores no combate a essas doenças bem como a utilização do 7-hidroxi-calameneno como um potente agente anti-protozoários.

Apoio financeiro: FAPERJ, CAPES e CNPq.

J 058 EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Ocimum basilicum* L. SOBRE O CRESCIMENTO DO FUNGO PATOGENICO *Fonsecaea pedrosoi*V.F. Palmeira¹; B. G. Da Silva¹; F.R.V. Goulart¹; A.F. Blank²; D.S., Alviano¹; C.S., Alviano¹¹ Brasil - ¹ UFRJ; ² UFS

Fonsecaea pedrosoi é o principal fungo dematiáceo causador da cromoblastomicose, considerada uma micose humana normalmente subcutânea crônica, comum em países tropicais e subtropicais. Esta doença é caracterizada por lesões nodulo-verrucosas que são notoriamente refratárias à terapêutica antifúngica. Nos últimos anos tem havido um interesse crescente no uso de substâncias naturais. Os óleos essenciais, produtos odoríferos e voláteis resultantes do metabolismo secundário das plantas, têm uma ampla aplicação, incluindo propriedades antimicrobianas que são conhecidas há séculos. Nos últimos anos, um grande número de óleos essenciais e seus constituintes têm sido investigados por suas propriedades antimicrobianas contra alguns fungos. No presente estudo, o óleo essencial obtido do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) foi avaliado sobre o crescimento de *F. pedrosoi*. Para isso, 1 x 10⁶ conídios por poço foram incubados a temperatura ambiente, por 5 dias, com óleo (786 mg/ml), linalol (865 mg/ml) (composto majoritário do óleo essencial) e anfotericina B nas concentrações de 5,4 mg/ml, 2,45 mg/ml e 6,25 mcg/ml, respectivamente. Para quantificação da inibição foram testadas algumas concentrações através de unidades formadoras de colônias (UFC). Os resultados mostraram que *Ocimum basilicum* L., linalol, e anfotericina B foram capazes de inibir o crescimento do fungo, em relação ao controle, em todas as concentrações testadas. Além disso, as características da cultura fúngica na presença das diferentes substâncias foram evidenciadas por microscopia óptica. A conclusão principal foi que nos sistemas incubados com anfotericina B e linalol, havia poucas células, tendo conídios e hifas. Porém, onde foi adicionado o óleo essencial havia apenas micélio apresentando muitos vacúolos, o que não foi observado no controle das células fúngicas. Óleos essenciais com potencial anti-*Fonsecaea* têm que ser mais bem estudados para que seja possível desvendar alvos fúngicos nos quais essas substâncias naturais sejam capazes de agir.

Embrapa Amazônia Ocidental
SIN - BIBLIOTECA

J 059 ESPECTRO DE AÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA TOXINA KILLER PRODUZIDA PELA LEVEDURA *Kodamaea ohmeri*Lages Andrade, Marina¹; Valadades Santos, Agenor¹; Augusto Rosa, Carlos¹; Matos Santoro, Marcelo¹; Silva Cisalpino, Patricia¹¹ Brasil - ¹ Universidade Federal de Minas Gerais

As toxinas *killer*, produzidas por leveduras, são moléculas extracelulares que exercem efeito deletério em células susceptíveis de mesma espécie, ou de espécie distinta, sem que ocorra o contato entre as células. Leveduras produtoras são denominadas *killer*. A levedura *Kodamaea ohmeri*, alvo deste estudo, foi isolada do cactus *Opuntia* sp. e previamente caracterizada como produtora de toxina *killer*. Objetivou-se determinar o espectro de ação da sua toxina bem como obter sua caracterização e purificação. Para determinação do espectro de ação da toxina foram utilizadas 208 linhagens pertencentes a diferentes espécies do gênero *Candida* e diferentes espécies de dermatófitos. Ensaios de co-cultura, em que a levedura *K. ohmeri* foi crescida em contato com o fungo a ser testado, foram utilizados para tanto. A caracterização da substância baseou-se na avaliação da sua resistência a variações de temperatura, pH, definição de sua natureza e investigação de seu determinante genético. Para estes ensaios utilizou-se a cultura de *K. ohmeri* livre de células, concentrada por ultrafiltração (membrana de 30kDa) e por liofilização. A resistência a mudanças de pH e temperatura foi determinada testando-se a atividade *killer* frente a uma levedura sensível em placas contendo meio de cultura com diferentes pHs e incubadas em diferentes temperaturas. Para investigar o determinante genético da toxina as colônias de *K. ohmeri* foram expostas por 100s a radiação UV (256nm) e incubadas na ausência de luz. Já para a purificação da toxina, utilizou-se as técnicas de cromatografia (HPLC) de gel filtração, eletroforese (SDS-PAGE) e filtração. Todas as espécies de *Candida* testadas apresentaram linhagens sensíveis à toxina de *K. ohmeri*. As linhagens de *C. albicans* (83%) e de *C. parapsilosis* (75%) mostraram maior sensibilidade à toxina. As linhagens de *C. glabrata* (63%), *C. tropicalis* (61,5%), *C. lusitanae* (57%) e *C. guilliermondii* (46,6%) foram sensíveis em diferentes proporções à toxina testada. Nenhuma das amostras de fungos filamentosos demonstrou sensibilidade à toxina. A toxina de *K. ohmeri* foi sensível à temperatura de 37°C e a pHs alcalinos, sendo que a maior atividade ficou na faixa de pH entre 3,5 a 4,5. A ação da toxina foi completamente inativada pela adição de proteases à amostra, o que indica que a toxina é de natureza proteica. Além disso, a fração de 1,7% das colônias obtidas após exposição à radiação perdeu o fenótipo *killer*, o que pode indicar origem plasmidial da proteína. Apesar do processo de purificação ainda não ter sido concluído, acredita-se que mais de uma proteína com atividade antifúngica pode estar presente no extrato. Os experimentos demonstram que estas possuem massa molecular acima de 30kDa. Para a conclusão do trabalho, porém, ainda são necessários outros ensaios.

J 060 RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS E ATIVIDADE BETA-LACTAMÁSICA EM *Aeromonas* spp. ISOLADAS DE SUINOS.Delamare, Ana Paula L.¹; Lucena, Roberto Francisco²; de Carli, Adriana¹; Echeverrigaray, Sergio¹¹ Brasil - ¹ Universidade de Caxias do Sul; ² Ministério da Pesca e Aquicultura

Aeromonas são bactérias Gram negativas, pertencentes à família Aeromonadaceae, comumente encontradas em ambientes aquáticos. Algumas espécies deste gênero são patógenos oportunistas de animais de sangue frio e quente. No homem são agentes causais de gastroenterites e outras afecções, tais como otite, endocardite, infecções cutâneas e bacteremia. A contaminação gastroenterica humana por *Aeromonas* está associada à ingestão de água e alimentos contaminados. Estas bactérias são comensais de vários animais domésticos, destacando-se as aves e os suínos. O tratamento das infecções por *Aeromonas* é dificultado pela sua elevada resistência a antibióticos β-lactâmicos. Além disso, estas bactérias podem receber e transmitir genes de resistência para outras bactérias Gram-negativas de importância clínica. No presente trabalho foi avaliada a resistência a antibióticos de *Aeromonas* isoladas de carcaças suínas e determinada a atividade β-lactamásica. Um total de 60 linhagens de *Aeromonas* foram isoladas de carcaças suínas em meio M-Aer, e classificadas através de RFLP-PCR do gene 16sRNA como: *A. media* (25%), *A. hydrophila* (20%), *A. caviae* (15%), *A. salmonicida* (7%), além de representantes de *A. trota*, *A. veronii*, *A. sobria*, *A. schubertii* e *Aeromonas* sp. A maioria (90%) das amostras suínas foram positivas para *Aeromonas*. Estes isolados foram avaliados frente a um painel de 15 antibióticos, constatando-se resistência: 100% de resistência à ampicilina (100%), à amoxicilina (88%), à sulfametoxazol/trimetoprima (85%), à tetraciclina (67%), à ciprofloxacina (40%), cloranfenicol (23%), além de alta frequência de resistência a cefalosporinas de segunda e terceira geração. A alta frequência de isolados resistentes a tetraciclina e sulfas está associada à utilização destes antibióticos, apesar de não recomendados, no controle de diarreias infantis em suínos. Multiresistência (>5 antibióticos) foi constatada em 10% dos isolados. Elevada atividade β-lactamásica periplasmica sobre ampicilina foi evidenciada nos 10 isolados selecionados para teste. A atividade sobre cefalosporinas foi menor, mas em geral elevada. A maior parte da atividade β-lactamásica foi associada à metalolactamases.