# Revista de Microbiologia

SBM

Sociedade Brasileira de Microbiologia

São Paulo — Brasil

Volume 17 Número 1 Jan.-Mar. 1986

# ões aos autores

Microbiologia publica trabalhos originais em todos os campos da microbiologia e da protozoologia.
tualizações serão publicadas a convite do conselho diretor.

tos devem ser enviados em duplicata (original e uma cópia) para o Diretor Executivo da Revista.

RAIS — Todo manuscrito submetido à Revista deve representar pesquisa original inédita e que não será publicada
ão. Os trabalhos podem ser redigidos em português, espanhol ou inglês. Se aceitos pela Revista, não poderão ser re-
nesmo em partes, sem permissão oficial dos Diretores da Revista.

gue, essencialmente, o "Style Manual Biological Journals" (2.ª edição, AIBS, 1964). Os símbolos genéticos devem
cialmente, as recomendações de Demerec & col. (Genetics, 54:61, 1966). Abreviações bioquímicas devem seguir,
ıte, as regras de IUPAC-IUB (J. Biol. Chem., 241:527, 1966). Atividade enzimática deve ser expressa em termos de
rnacionais (Enzyme Nomenclature, Elsevier Publ. Co., 1965). Para pesos e volumes, devem ser usados os prefixos
co (p), ao invés de milimicro (m $\mu$ ) micromicro ($\mu\mu$). Comprimentos devem ser expressos em micrômetro ( $\mu$m;
nvés de micro ( $\mu$); nanômetro (nm; $10^{-9}$m), ao invés de milimicro (m $\mu$ ); e Angstroms ( Å ; $10^{-10}$m). Partes por
devem ser expressas como microgramas por milímetros ( $\mu$g/ml) ou microlitros por litro ( $\mu$litros/litro). A Revis-
o direito de adaptar os manuscritos ao estilo adotado.

URA DE MICRORGANISMOS — A combinação binomial, nome do gênero seguido do da espécie, é adotada e a no-
presentada no "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology" (8.ª ed., 1974) obedecida. Se o Autor divergir des-
ura, seu julgamento será respeitado, mas a classificação correspondente ao Manual de Bergey deverá ser mencona-
nteses, à primeira vez em que o nome figurar no texto e no resumo.
nome novo for proposto para um microrganismo, será solicitada a opinião de uma autoridade internacional em

MANUSCRITO — Os trabalhos devem ser datilografados em papel branco, comum, em espaço duplo ou triplo, dei-
ínimo de 3 cm de margens laterais, superior e inferior. Títulos de capítulos de primeira ordem e subcapítulos devem
junto à margem esquerda do manuscrito, incluídos essencialmente pela ordem: **Introdução, Material e Métodos,**
**iscussão, Agradecimentos, Referências Bibliográficas.**
o deverá conter apenas e tão somente: (i) o título do artigo, usando-se letras maiúsculas somente quando obri-
(s) nome(s) do(s) autor(es) com maiúsculas e minúsculas normalmente usadas e (iii) afiliação.
deverá ultrapassar 250 palavras. Os trabalhos redigidos em inglês devem ser acompanhados de um título e resumo
; os redigidos em português e espanhol, de um título e resumo em inglês. O resumo na língua do trabalho e o título
ıa outra língua devem ser datilografados em página separada do restante do texto.

S BIBLIOGRÁFICAS — No texto, as referências devem ser citadas por número. Os sobrenomes de dois autores de-
ados por &; quando houver mais de dois autores, a separação é feita por um ponto e vírgula e o último por &. Na
**ncias Bibliográficas** as citações devem ser por ordem alfabética de autor (ou da mesma combinação de autores) e,
ıo autor, em ordem cronológica, numeradas seqüencialmente. Os artigos em periódicos devem ser citados na se-
nome(s) do(s) autor(es) em maiúsculas e minúsculas, títulos do trabalho, nome do periódico (abreviado de acordo
Medical Periodicals), número do volume, número do fascículo (quando desejado; colocado entre parênteses), núme-
e da última página do artigo, e ano da publicação.

ser, O. L. & Emerson, J. S. — Selective screening for quantitative urine cultures.
r. J. clin. Path., 45:649-650, 1966.
ocorrer confusão com o título do periódico, o local da publicação deverá ser mencionado entre parênteses, após a
emplo: Publ. Hlth Rep. (Wash.).
ros devem ter a seguinte ordem: autor(es), título, edição, local, editores e data. Exemplo:
r, S. E. — A textbook of clinical pathology. 6th ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1960.
esumos", "dados não publicados", "comunicações pessoais" ou "no prelo" poderão ser adequadamente men-
xto, mas não serão aceitas como referências bibliográficas.

evem ser numeradas em arábico e datilografadas em páginas separadas. Os dados devem ser arranjados de manei-
de material idêntico sejam lidas perpendicular e não transversalmente. Cabeçalhos e legendas devem ser suficien-
e compreensíveis, sem necessidade de consulta ao texto. São permitidas notas explanativas de rodapé indicadas
mas não descrições pormenorizadas dos experimentos. Materiais e métodos utilizados para a obtenção dos resul-
er incluídos na secção correspondente.

— Cada uma das duas vias do manuscrito deverá ser acompanhada de um conjunto completo de ilustrações (pre-
ımo fotografias). Os gráficos e desenhos devem ser concluídos, não requerendo qualquer montagem ou rearranjo.
do gráfico deverá ser datilografada, devendo ser usado um e o mesmo normógrafo. As fotografias de ilustrações
ser feitas em papel de alto contraste apropriado. É recomendável submeter gráficos e desenhos no dobro da im-
a Revista, prevendo-se todos os elementos da figura para as escalas de redução. Fotografias com retículas devem
apel brilhante, com contrastes adequado para a reprodução na escala 1:1, observados os espaços máximos dis-
vista e seus submúltiplos, reservando-se espaço suficiente para a legenda. Sempre que houver escala de aumento
:a deverá ser superposta ou desenhada diretamente na fotografia ou figura. Ver instruções sobre legendas, notas
sob TABELAS. Proteja as ilustrações durante o trânsito, com uma folha de papelão.

Não devem exceder a 500 palavras e o respectivo resumo não mais do que 25. O(s) autor(es) deve(m) consul-
da Revista para familiarização com a forma e o estilo.

Serão fornecidas, gratuitamente 50 separatas por artigo. Para encomendas maiores, o(s) autor(es) deve(m) en-
mento com o Diretor Executivo, correndo as despesas por conta dos interessados.

# Revista de Microbiologia

**Publicação da Sociedade Brasileira de Microbiologia**

**São Paulo — Brasil**

Pertence à

REVISTA DE MICROBIOLOG
Av. Prof. Lineu Prestes
Cid. Universitária - U
05508-900 — São Paulo

**Conselho Diretor** Luiz Rachid Trabulsi, Italo Suassuna e Wilson Chagas de Araujo

**Diretor Executivo** João Salvador Furtado
Instituto de Ciências Biomédicas USP
Av. Prof. Lineu Prestes, 1374
Cidade Universitária USP
05508 São Paulo SP

**Diretor Associado** Flávio Alterthum
Instituto de Química — USP
Caixa Postal 20780
01000 São Paulo SP

**Assistente de Diretoria** Leila Vasconcellos
Sociedade Brasileira de Microbiologia
Av. Prof. Lineu Prestes, 1374
Cidade Universitária USP
05508 São Paulo SP

**Aquisição por não-membros** Assinatura anual para quatro números: 2 OTN's para o Brasil: US$ 2
marítima) ou US$ 30.00 (via aérea) para o Exterior. Cheques em nome da S
Brasileira de Microbiologia, para o endereço do Diretor Executivo da Revis
crobiologia.

**Acquisition by non-members** Annual subscription: US$ 25.00 (surface mail) or US$ 30.00 (air mail). C
Sociedade Brasileira de Microbiologia, addressed to the Director's office.

**Impressão** Gráfica Editora Hamburg Ltda.

## Sociedade Brasileira de Microbiologia

**Diretoria**

Presidente
Marcelo Magalhães
Universidade Federal de Pernambuco
Cidade Universitária
50000 Recife PE

Vice-Presidente
João Salvador Furtado
Av. Prof. Lineu Prestes,
Cidade Universitária US
05508 São Paulo

Secretário Geral
Milton de Uzeda
Instituto de Microbiologia UFRJ
Centro de Ciências da Saúde
Bloco I — Ilha do Fundão
21941 Rio de Janeiro RJ

Tesoureiro
Walderez Gambale
Instituto de Ciências Bi
Dept.º de Microbiologia
Av. Prof. Lineu Prestes,
Cidade Universitária US
05508 São Paulo SP

**Objetivos** A Sociedade Brasileira de Microbiologia, fundada em 28 de setembro de 1
ciedade civil, sem fins lucrativos, dedicada a agremiar microbiologistas br
promover o desenvolvimento da microbiologia através do estímulo à
científica e suas aplicações, melhorar as qualificações profissionais dos
gistas; e manter intercâmbio e fazer aproximação com entidades que viser
semelhantes.
Organiza, a cada dois anos, na última semana do mês de julho, o Congres
ro de Microbiologia e edita a Revista de Microbiologia, com distribuição
Para informações sobre a SBM, escrever para qualquer membro da Diret

## ADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA

ciedade Brasileira de Microbiologia recomenda que seus associados prestigiem
ios patrocinadores da Revista de Microbiologia:

Indústrias Químicas S.A.
ola Indústrias Ltda.
hia Industrial e Comercial Brasileira de Produtos Alimentares
io - Empresa Brasileira de Biotecnologia Ltda.
S.A. Indústrias Químicas
rias Químicas e Farmacêuticas Schering S.A.
Sharp & Dohme Ind. Quim. Farmacêutica Ltda.

REVISTA DE MICROBIOLOGIA
Depto. de Microbiologia – ICB II – USP
Av. Prof. Lineu Prestes, 1374 – Cid. Universitária
CEP 05508-900 – São Paulo - SP - BRASIL
Site: www.revmicro.cjb.net

REVISTA DE MICROBIOLOGIA
PUBLICAÇÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MICROBIOLOGIA
VOLUME 17 JANEIRO-MARÇO 1986 NÚMERO 1
REV. MICROBIOL. (S. PAULO), 17(1)

CONTEÚDO

Peres, C.S.; Figueiredo, M. da G.; Vitoratto, E.; & Perego Jr., L. — 1 Crescimento de bactéria fotossintetizante (BF) anaeróbia em meio constituído de vinhaça

Sant'Anna, E.S.; Teixeira, E.; & Moretto, E. — 10 Crescimento de *Morchella crassipes* (Vent) Pers. em meio sintético e vinhaça

Ferraz, C.A.M.; Balloni, W.; & Florenzano, G. — 15 Utilização de sub-produtos da indústria alcooleira na obtenção de biomassa de *Spirulina maxima*. Parte II - Emprego do resíduo da destilação do mosto fermentado (vinhaça)

Almeida, P.F. de; Oliveira, J.V. de; & Hayashi, C.M. — 22 Tipificação de *Rhodococcus* (*Corynebacterium*) *equi* de origem bovina, ovina e caprina

Yasuda, P.H.; Sulzer, C.R.; Giorgi, W.; & Soares, M.E.G. — 25 *Leptospira biflexa* sorotipo *ranarum* isolado de feto abortado de equino

Calixto, S.; Baldassi, L.; Moulin, A.A.P.; & Hipolito, M. — 28 *Pseudomonas aeruginosa* como agente causal de abcesso em serpente (Bothrops neuwiedi)

Serafim, M.B.; Castro, A.F.P. de; Colli, I.A.G.; & Brito, J.R.F. — 31 Detecção de antitoxina contra a enterotoxina termo lábil (LT) de *Escherichia coli* em soro de suínos, através de reações de imuno hemólise

Sargoni, A.E.; Franco, M.A.; & Torres, R.A. de — 39 Viabilidad y multiplication de *Listeria monocytogenes* cepa Murray frente a antimicrobianos de uso en medios selectivos

CONTENTS

*Growth of anaerob photosynthetic ba in vinasse medium*

*Morchella crassip growth in synthet vinasse media*

*Utilization of by-products from alcoholic ferment industry to bioma production of Spi maxima. Part II - molasses alcohol distillate waste*

*Typification of Rhodococcus (Corynebacterium) from bovine, ovin caprine sources*

*Leptospira biflex serovar ranarum i from aborted equi foetus*

*Pseudomonas aerug as a causal agent snake abscess*

*Detection of anti against thermolab (LT) enterotoxin Escherichia coli porcine sera, by haemolysis reacti*

*Effects of antim agents of potenti utilization in s media on viabili growth rate of L monocytogenes*

PUBLICADA COM APOIO FINEP/CNPq

| | | | |
|---|---|---|---|
| ng, J.F. | 47 | Mecanismos de infecções mistas por microrganismos anaeróbios da cavidade oral | *Mechanisms in polymicrobial oral infections* |
| de, J.R.C.; a, M.R. de S. | 53 | Aderência e penetração intracelular de *Escherichia coli* enteropatogênica clássica em células Hep-2 | *Attachment and intracellular penetration of classic enteropathogenic Escherichia coli into Hep-2 cells* |
| l, M.D.; er, E. | 58 | Pesquisa de *Yersinia enterocolitica* em pacientes reumáticos. II - Sorologia | *Investigation of Yersinia enterocolitica in rheumatic human patients. II - Serology* |
| ıça, C.P.; 'ernin, C.; ıeira, M.Z.; | 64 | Estreptococos beta-hemolíticos e níveis séricos de antiestreptolisina "O" em comunidade rural, Américo Brasiliense SP, 1981 | *Beta hemolytic streptococci and serum levels of ASO in a rual community, Américo Brasiliense SP, 1981* |
| ação o-Científica SBM | 71 | | |
| , E. | 95 | Biogás: Pesquisa ou aplicação - perspectivas | |

# CRESCIMENTO DE BACTÉRIA FOTOSSINTETIZANTE (BF) ANAERÓBIA EM MEIO CONSTITUÍDO DE VINHAÇA

Clarita S. Peres

Agrupamento de Biotecnologia
Divisão de Química e Engenharia Química/IPT
Caixa Postal 7141
01000 São Paulo SP, Brasil

Maria da Glória Figueiredo

Gerência de Pesquisa de Tratamento de Resíduos
Cetesb
Av. Prof. Frederico Hermann Jr., 345
05459 São Paulo SP, Brasil

Elso Vitoratto

Agrupamento de Biotecnologia
Divisão de Química e Engenharia Química/IPT

& Leonardo Perego Junior

Deptº de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica
Faculdade de Ciências Farmacêuticas USP
Caixa Postal 30786
01051 São Paulo SP, Brasil

**Resumo**

Verifica-se o crescimento de *Rhodopseudomonas palustris* (BF) em meio constituído de vinhaça de caldo misto diluída, suplementado unicamente com 0,5g/l de extrato de levedura. Constatou-se que, ao se atingir a concentração de DQO equivalente a 10.000mg $O_2/\ell$, cessa o desenvolvimento da BF. Em valores inferiores de DQO a cepa desenvolveu-se satisfatoriamente.

**Summary**

*Growth of anaerobic photosynthetic bacteria in vinasse medium*

The growth of *Rhodopseudomonas palustris*, an anaerobic photosynthetic bacteria, in a medium made up with vinasse and yeast extract (0,5g/l), was verified. It was noticed that the bacteria development stopped when COD value reached 10.000mg$O_2/\ell$.

Rev. Microbiol., São Paulo, 17(1):1-9, Jan./Mar. 1986.

**a 1** - Composição do meio de cultura tico para *Rhodopseudomonas palus-*

| ınte | Quantidade (p/1 litro de meio) |
|---|---|
| $SO_4$ | 0,5g |
| $7H_2O$ | 0,4g |
| | 0,4g |
| $2H_2O$ | 0,05g |
| etato | 2,0g |
| de levedura | 0,5g |
| | 1,0g |
| de micro-elementos* | 10,0ml |
| 5 | |
| o de micro-elementos | |
| | 1,5g |
| $7H_2O$ | 200,0mg |
| $7H_2O$ | 100,0mg |
| $H_2O$ | 20,0mg |
| de Hoogland** | 6,0ml |
| ção de Hoogland | |
| | 1,0g |
| | 0,5g |
| | 0,5g |
| $H_2O$ | 7,0g |
| | 11,0g |
| | 1,0g |
| $5H_2O$ | 1,0g |
| | 1,0g |
| $2H_2O$ | 0,5g |
| | 0,5g |
| | 0,5g |
| $H_2O$ | 0,1g |

**Tabela 2** - Características físico químicas da solução estoque de vinhaça

| | |
|---|---|
| pH | 7,0 |
| DQO (mg/l) | 51.950 |
| $DBO_5$ (mg/l) | 29.800 |
| Sólidos totais (g/l) | 69,6 |
| Sólidos voláteis (g/l) | 48,8 |
| Carbono (C) (g/l) | 18,2 |
| Nitrogênio total (N) (mg/l) | 1.200 |
| Fósforo (P) (mg/l) | 164 |
| Potássio (K) (g/l) | 7,0 |
| Sulfato ($SO_4^{2-}$) (g/l) | 5,4 |
| Nitrogênio amoniacal (N) (mg/l) | 5 |
| Ferro (Fe) (mg/l) | 56 |
| Glicerol (g/l) | 8,6 |

## ıção

ários anos realizam-se intensos estudos, tanto na direção da produção de bio-
nicrobiana com vistas à sua utilização como ração animal e humana, quanto na
o da redução da carga orgânica poluente de rejeitos industriais, utilizan-
la oxidação biológica (2).
:e os estudos realizados que procuram associar essas intenções, ou seja,
ormar a carga orgânica poluente de rejeitos industriais em biomassa unicelu-
estacam-se por sua particularidade aqueles que se utilizam de microrganismos
ıntetizantes, com especial referência às bactérias fotossintetizantes (BF) em
ıo de anaerobiose, na medida em que são capazes de assimilar para seu desen-
ınto, matéria orgânica não facilmente metabolizável por microrganismos qui-
:icos (1, 3, 4, 6). Para se promover o crescimento de microrganismos em vi-
resultante da destilação do álcool etílico, quase sempre é necessário recor-
a correções e suplementações significativas da mesma, para se obter biomassa
ıentrações razoáveis.
balho realizado teve por objetivo estudar o crescimento de *Rhodopseudomonas*
*·is* em meio de cultura constituído de vinhaça. Tal crescimento se faz à custa
sumo da carga poluente do meio, constituindo-se portanto, também em um pro-
e depuração do rejeito. Esta carga poluente foi sempre expressa em termos de
Química de Oxigêncio (DQO).

## l e Métodos

*anismos* - Utilizou-se uma cultura com predominância de *Rhodopseudomonas pa-*
, gentilmente cedida pelo Centro di Studi dei Microrganismi Autotrofi di Fi-
Itália, mantida em frascos Erlenmeyers completamente preenchidos com meio de
sintético, vedados e estocados em estufa de 35°C, iluminada internamente.
a-se ao repique quinzenal da cultura.

*Meio de cultura - Meio sintético* - A composição do meio de cultura encontra-
Tabela 1 (1). As soluções são esterilizadas em autoclave a 121°C e 1 sobre-at
ra de pressão, por 20 minutos e misturados no momento do uso, conforme o in
na mesma tabela.

*Meio de cultura de vinhaça* - A vinhaça de caldo misto foi obtida junto à Usin
ta Elisa, Sertãozinho, SP, na forma concentrada (densidade relativa = 60°Brix
Após ser diluída 10 vezes em volume, procedia-se o ajuste do pH a 7,0 sendo
clarificada por aquecimento a 121°C e 1 sobre atmosfera de pressão por 30 mi
Desprezavam-se os sólidos decantados. A caracterização físico-química da s
estoque encontra-se na Tabela 2.

**Tabela 3** - Resultados obtidos no ensaio 1

| Alimentação | Tempo | Composição | | | | Porcentagem de corte | Massa seca | DQO | pH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Vinhaça | Extrato de levedura | Água deionizada | Total | | | | |
| | (d) | (ml) | (ml) | (ml) | (ml) | (%) | (g/l) | (mg/l) | |
| | 0 | | | | | | 0,10 | 1.700 | 6,80 |
| | 1 | | | | | | 0,60 | - | 7,70 |
| | 2 | | | | | | 0,93 | - | 8,00 |
| | 3 | | | | | | 0,95 | - | 8,16 |
| | 4 | | | | | | 0,95 | - | 8,80 |
| | 5 | | | | | | 0,86 | - | 6,80 |
| | 6 | | | | | | 0,92 | 280 | 6,95 |
| | 6 | 111 | 26,3 | 282,7 | 420 | - | 0,82 | 2.850 | 6,87 |
| | 7 | | | | | | 1,53 | 1.700 | 6,87 |
| | 8 | | | | | | 1,70 | 1.050 | 6,86 |
| | 9 | | | | | | 1,65 | 970 | 7,01 |
| 1º | 11 | | | | | | 1,61 | 930 | 7,27 |
| | 12 | | | | | | 1,93 | 910 | 7,90 |
| | 13 | | | | | | 2,25 | - | - |
| | 14 | | | | | | 1,77 | 900 | 6,95 |
| | 14 | 132 | 31,3 | 636,7 | 800 | - | 1,51 | 3.300 | - |
| | 15 | | | | | | 1,77 | 2.700 | 6,68 |
| | 16 | | | | | | 2,12 | 1.300 | 6,85 |
| 2º | 17 | | | | | | 2,20 | 1.250 | 7,46 |
| | 18 | | | | | | 2,38 | 1.650 | 7,48 |
| | 19 | | | | | | 2,41 | 1.350 | 7,00 |
| | 21 | | | | | | 2.40 | 1.250 | 7.50 |
| | 21 | 148 | 35 | 617 | 800 | - | 2,16 | 3.550 | 7,37 |
| | 22 | | | | | | 2,20 | 3.150 | 7,05 |
| | 23 | | | | | | 2,73 | 2.600 | 6,75 |
| | 24 | | | | | | 2,90 | 1.850 | 7,23 |
| 3º | 25 | | | | | | 3,15 | 1.550 | 7,97 |
| | 26 | | | | | | 2,90 | 1.550 | 6,96 |
| | 27 | | | | | | 2,90 | 1.650 | 7.17 |
| | 27 | 148 | 35 | 377 | 560 | 20 | 2,60 | 3.600 | 7,17 |
| | 28 | | | | | | 3,18 | 2.500 | 7,96 |
| 4º | 29 | | | | | | 3,10 | 2.250 | 7,18 |
| | 30 | | | | | | 3,14 | 2.350 | 7,24 |
| | 31 | | | | | | 3,03 | 2.450 | 7,32 |
| | 32 | | | | | | 2,93 | 1.800 | 7,80 |
| | 32 | 221 | 35 | 304 | 560 | 20 | 2,82 | 5.500 | 7,48 |
| | 33 | | | | | | 2,84 | 3.850 | 6,60 |
| | 34 | | | | | | 2,83 | 4.200 | 6,95 |
| | 35 | | | | | | 3,35 | 3.450 | 7,60 |
| 5º | 36 | | | | | | 3,48 | 3.350 | 7,80 |
| | 37 | | | | | | 3,60 | 2.650 | 7,48 |
| | 38 | | | | | | 3,48 | 2.450 | 7,47 |
| | 39 | | | | | | 3,30 | 2.650 | 8,07 |
| | 40 | | | | | | 3,31 | 2.500 | 7.61 |
| | 40 | 148 | 35 | 937 | 1120 | 40 | 2,50 | 4.350 | 6,60 |
| | 41 | | | | | | 2,70 | 3.500 | 6,71 |
| 6º | 42 | | | | | | 2,85 | 2.750 | 6,85 |
| | 43 | | | | | | 2,90 | 2.650 | 7,76 |
| | 46 | | | | | | 2,74 | 2.000 | 7,30 |
| | 47 | | | | | | 2,82 | 2.450 | 7,50 |
| | 47 | 219 | 35 | 306 | 560 | 20 | 2,61 | 6.100 | 7,51 |
| | 48 | | | | | | 3,09 | 4.850 | 6,90 |
| 7º | 50 | | | | | | 3,26 | 2.800 | 7,40 |
| | 53 | | | | | | 3,21 | 2.650 | - |

**a 3 (continuação)** – Resultados obtidos no ensaio 1

| Tempo | Composição | | | | Porcentagem de corte | Massa seca | DQO | pH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Vinhaça | Extrato de levedura | Água deionizada | Total | | | | |
| (d) | (ml) | (ml) | (ml) | (ml) | (%) | (g/l) | (mg/l) | |
| 53 | 219 | 35 | 306 | 560 | 20 | 3,22 | 6.450 | 6,96 |
| 55 | | | | | | 3,32 | 5.700 | 6,94 |
| 56 | | | | | | 3,36 | 4.750 | 7,50 |
| 60 | | | | | | 3,85 | 3.250 | 7,70 |
| 61 | | | | | | 3,68 | 3.350 | 7,86 |
| 62 | | | | | | 3,77 | 3.400 | 7,40 |
| 62 | 215 | 35 | 870 | 1120 | 40 | 2,56 | 6.750 | 7,40 |
| 63 | | | | | | 2,77 | 5.500 | 6,70 |
| 64 | | | | | | 2,84 | 5.600 | 6,86 |
| 67 | | | | | | 3,30 | 3.200 | 7,54 |
| 68 | | | | | | 3,38 | 3.300 | 7,70 |
| 69 | | | | | | 3,19 | 3.300 | 7,56 |
| 70 | | | | | | 3,36 | 3.250 | 7,70 |
| 70 | 633 | 50 | 967 | 1650 | – | 3,06 | 10.000 | 6,97 |
| 71 | | | | | volume | 3,26 | 11.250 | 5,80 |
| 72 | | | | | de | 3,28 | 9.500 | 6,21 |
| 74 | | | | | meio | 3,17 | 11.350 | 6,80 |
| 76 | | | | | 4000ml | 3,08 | 10.350 | 6,83 |
| 78 | | | | | | 3,04 | – | 7,20 |
| 78 | 211 | 50 | 1739 | 2000 | 50 | 1,89 | – | 6,60 |
| 80 | | | | | volume | 1,78 | 8.450 | 6,55 |
| 81 | | | | | de | 1,88 | 8.600 | 7,04 |
| 82 | | | | | meio de | 1,81 | 7.050 | 7,06 |
| 84 | | | | | 4000ml | 1,86 | 7.650 | 7,17 |
| 85 | | | | | | 1,75 | 6.150 | 7,30 |
| 87 | | | | | | 2,25 | 6.500 | 7,28 |
| 89 | | | | | | 2,30 | 5.950 | 7,30 |
| 91 | | | | | | 2,49 | 6.950 | 7,60 |
| 92 | | | | | | – | 7.000 | 7,70 |
| 94 | | | | | | 2,64 | 7.550 | 7,77 |
| 96 | | | | | | 2,70 | 6.050 | 7,06 |

o de cultura de vinhaça era preparado por diluição de uma alíquota conveda solução estoque, com água deionizada, de acordo com o nível de DQO neo e suplementado com volume de suspensão de extrato de levedura a 40g/l, sue para se obter 0,5g/l no interior da dorna (Tabelas 3 e 4).

***o de ensaios*** - Foram realizados dois ensaios em paralelo, sendo um com meio aça (ensaio 1) e outro com meio sintético (ensaio 2), ambos em fermentadores cada New Brunswick (equipamento obtido com apoio financeiro da FAPESP - Fune Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), equipados com reatores de vidro de volume nominal, com frequência de agitação de 400rpm, temperatura de 35°C sidade de iluminação de 3 Klux ao nível da parede da dorna, proveniente de 4 s fluorescentes de 15W cada, simetricamente colocadas em posição vertical ao or. Estes fermentadores não dispõem de equipamento para limpeza intermitente interno de sua parede, como seria desejável num trabalho deste tipo (1).

tida de ambos os ensaios foi feita com um volume inicial de meio sintético 2,13ℓ e concentração inicial de bactérias igual a 0,10g/l. Este inóculo foi por simples centrifugação da suspensão de manutenção da BF. A DQO inicial do oi de 1.700mg/l. Decorridos 6 dias de experimentação iniciou-se a adição pe de meio de cultura aos fermentadores. Até o 21º dia, o volume dos reatores entado até 2,8ℓ, resultado de três alimentações, descontando-se o volume redos fermentadores para amostragem nesse período, sendo este o volume de traixado, exceto quando indicado (Tabelas 3 e 4). A partir do 27º dia a alimendos reatores foi feita pelo processo de cortes, cuja composição e volume esressos nas Tabelas 3 e 4.

Frisar que todas as alimentações, na forma de cortes ou não, foram feitas lo de vinhaça no ensaio 1 e meio sintético no ensaio 2, ambos sempre suples com extrato de leveduras, de modo a manter a concentração de 0,5g/l, no da dorna.

Periodicamente eram retiradas amostras de 50 ou 100ml para execução das an
de acompanhamento. Na retirada de amostras tomou-se sempre a precaução de
fluir nitrogênio na cabeça do reator, para eliminação do oxigênio atmosférico
volumes de amostras eram computados por ocasião da execução dos cortes.

*Métodos analíticos* - A separação das células de BF do meio de cultura se fe
filtração em membrana Millipore (diâmetro de poro = 0,22μm). As células
eram então lavadas 2 vezes com água destilada e secas a 105°C, por 2h. No f
realizavam-se as determinações de pH e DQO (5).

## Resultados

Os resultados obtidos encontram-se nas Tabelas 3 e 4 e Figuras 1 e 2.

**Tabela 4** - Resultados obtidos no ensaio 2

| Alimentação | Tempo (d) | Composição: Meio Sintético (ml) | Composição: Extrato de levedura (ml) | Composição: Total (ml) | Porcentagem de corte (%) | Massa seca (g/l) | DQO (mg/l) | pH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | | | | | 0,09 | 1.650 | 6,80 |
| | 1 | | | | | 0,52 | - | 7,50 |
| | 2 | | | | | 0,95 | - | 7,87 |
| | 3 | | | | | 1,00 | - | 8,35 |
| | 4 | | | | | 0,99 | - | 8,77 |
| | 5 | | | | | 0,89 | - | 7,12 |
| | 6 | | | | | 1,00 | 210 | 7.26 |
| | 6 | 484 | 20 | 504 | - | 0,75 | 1.100 | 7,00 |
| | 7 | | | | | 1,09 | 220 | 7,46 |
| 1º | 8 | | | | | 1,16 | 220 | 6,92 |
| | 13 | | | | | 1,20 | 340 | - |
| | 14 | | | | | 1,13 | 310 | 6,55 |
| | 14 | 676 | 23 | 699 | - | 0,93 | 650 | 6,55 |
| | 16 | | | | | - | 240 | 7,06 |
| 2º | 18 | | | | | 1,29 | 350 | 7,80 |
| | 20 | | | | | 1,23 | - | 7,40 |
| | 21 | | | | | 1,25 | 240 | 7,28 |
| | 21 | 648 | 28 | 676 | - | 1,19 | 720 | 7,08 |
| | 23 | | | | | 1,33 | 380 | 7,04 |
| 3º | 25 | | | | | 1,42 | 340 | 7,77 |
| | 27 | | | | | 1,28 | - | 6,97 |
| | 27 | 504 | 28 | 532 | 20 | - | - | 6,90 |
| | 29 | | | | | 1,42 | 470 | 7,11 |
| 4º | 31 | | | | | 1,43 | 630 | 7,36 |
| | 32 | | | | | 1,38 | 490 | 7.50 |
| | 32 | 532 | 28 | 560 | 20 | 1,18 | 960 | 7,23 |
| 5º | 34 | | | | | 1,46 | 330 | 7,07 |
| | 36 | | | | | 1.41 | 490 | 7,48 |
| | 36 | 532 | 28 | 560 | 20 | 1,21 | 1.450 | 7,48 |
| | 37 | | | | | 1,52 | 930 | 7,07 |
| 6º | 40 | | | | | 1,70 | 370 | 7,28 |
| | 41 | | | | | 1,80 | 410 | 7,66 |
| | 41 | 532 | 28 | 560 | 20 | 1,50 | 1.400 | 7,10 |
| | 43 | | | | | 1,92 | 760 | 7,60 |
| 7º | 46 | | | | | 1,85 | 460 | 7,60 |
| | 47 | | | | | 2,05 | 630 | 7.70 |
| | 47 | 532 | 28 | 560 | 20 | 1,71 | 1.200 | 7,40 |
| 8º | 49 | | | | | 2,07 | 630 | 7,86 |
| | 50 | | | | | 2.10 | 420 | 7,67 |
| | 50 | 532 | 28 | 560 | 20 | 1,86 | 1.050 | 7,66 |
| | 51 | | | | | 1,97 | 700 | 7,53 |
| | 53 | | | | | 2,10 | 750 | 7,60 |
| 9º | 55 | | | | | 2,00 | 550 | 7,59 |
| | 56 | | | | | 1,85 | 510 | 7,86 |
| | 57 | | | | | 2,13 | 630 | 7.80 |
| | 57 | 532 | 28 | 560 | 20 | 1,76 | 810 | 7,80 |
| | 60 | | | | | 1,79 | - | 7,46 |
| 10º | 61 | | | | | 1,70 | 500 | 7,72 |
| | 62 | | | | | 1,85 | 520 | 7,50 |
| | 62 | 532 | 28 | 560 | 20 | 1,63 | 1.250 | 7,50 |
| 11º | | | | | | 1,64 | 630 | 7,47 |
| | | | | | | 1,76 | 450 | 7,40 |

**4 (continuação)** – Resultados obtidos no ensaio 2

| Tempo (d) | Composição: Meio Sintético (ml) | Composição: Extrato de levedura (ml) | Composição: Total (ml) | Porcentagem de corte (%) | Massa seca (g/l) | DQO (mg/l) | pH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 64 | 532 | 28 | 560 | 20 | 1,69 | 1.150 | 7,46 |
| 67 | | | | | 1,76 | 560 | 7,52 |
| 68 | | | | | 1,79 | 440 | 7,72 |
| 70 | | | | | 1,61 | 500 | 7,80 |
| 70 | 1019 | 31 | 1052 | – | 1,54 | 1.100 | 7,60 |
| 71 | | | | | 1,50 | 1.000 | 7,55 |
| 72 | | | | volume de meio de 3500 ml | 1,60 | 780 | 7,66 |
| 74 | | | | | 1,71 | 490 | 7,70 |
| 75 | | | | | 1,69 | 450 | 7,57 |
| 76 | | | | | 1,70 | 530 | 7,50 |
| 76 | 311 | 39 | 350 | – | 1,69 | 950 | 7,50 |
| 77 | | | | | 1,70 | 640 | 7,48 |
| 78 | | | | volume de meio de 3500ml | 1,84 | 540 | 7,76 |
| 80 | | | | | 1,84 | 560 | 7,40 |
| 81 | | | | | 1,77 | 520 | 7,60 |
| 82 | | | | | 1,71 | 720 | 7,68 |
| 83 | | | | | – | – | – |
| 83 | 881 | 19 | 900 | 79,4 | 0,89 | 1.250 | 7,30 |
| 85 | | | | | 1,33 | 270 | 7,94 |
| 87 | | | | volume de meio de 1550ml | 1,40 | 340 | 8,15 |
| 87 | 650 | – | 650 | – | 0,98 | 760 | 7,47 |
| 89 | | | | | 1,20 | 300 | 7,89 |
| 91 | | | | volume de meio de 2000ml | 1,10 | 380 | 8,03 |
| 92 | | | | | 1,05 | 330 | – |
| 92 | 779 | 21 | 800 | – | 0,85 | 1.100 | 8,11 |
| 94 | | | | | 1,26 | 480 | 7,73 |
| 96 | | | | volume de meio de 2500ml | 1,20 | 440 | 7,85 |

**io**

ir dos resultados obtidos, calculou-se o fator de conversão de substrato em lular (Yx/s). Considerou-se substrato a DQO consumida no intervalo de tempo ão e os dados foram obtidos, a partir da interpolação dos resultados ex- nas Figuras 1 e 2.

e dos resultados mostra que na fase inicial dos ensaios (até 6º dia), onde izou apenas meio sintético, ocorreu grande desenvolvimento celular propor- pela abundância de luz e existência de substrato facilmente assimilável pe- acetato de sódio). Este era o objetivo desta fase e, como esperado, ocorreu edução da DQO do meio.

ir do momento em que se iniciou a adição da vinhaça ao meio de ensaio 1 (1º ção) ocorreu uma queda significativa tanto no valor de Yx/s como no consumo isponível, o que é justificável, já que os componentes da vinhaça provavel- o são tão facilmente assimiláveis como o acetato de sódio. Em seguida, a cial de cada alimentação foi sendo gradativamente aumentada até atingir (21º dia). Concomitantemente observou-se aumento na concentração celular ocasionou a diminuição na penetração da luz no reator, tanto pela concen- lular de "per si", como principalmente pelo aumento da espessura da camada as aderidas à parede do reator.

r do 27º dia as alimentações, no ensaio 1, passaram a ser feitas por pro- cortes, sendo que a quantidade de vinhaça introduzida no sistema era de- pela DQO inicial que pretendia atingir.

5ª alimentações o volume de corte foi de 20%, mas a DQO inicial foi au- esta última para 5500mg/l. A concentração celular continuou aumentando e o e DQO cresceu com o aumento da DQO inicial, porém o decréscimo do fator de mostra que a eficiência da cultura estava diminuindo (Tabela 5).

**Tabela 5** - Dados interpolados e parâmetros calculados no ensaio 1.
**Símbolos:** Yx/s = $\frac{\text{Massa seca produzida}}{\text{DQO consumida}}$ (fator de conversão)

| Tempo (dias) | Massa seca final (g/l) | Massa seca inicial (g/l) | DQO inicial (g/l) | DQO final (g/l) | Yx/s |
|---|---|---|---|---|---|
| 0-6 | 0,95 | 0,10 | 1,70 | 0,30 | 0,61 |
| 6-14 | 1,75 | 0,80 | 2,90 | 0,90 | 0,48 |
| 14-21 | 2,40 | 1,50 | 3,30 | 1,30 | 0,45 |
| 21-27 | 3,00 | 2,15 | 3,55 | 1,50 | 0,42 |
| 27-32 | 3,15 | 2,65 | 3,60 | 1,85 | 0,36 |
| 32-40 | 3,45 | 2,80 | 5,50 | 2,40 | 0,21 |
| 40-47 | 2,80 | 2,50 | 4,30 | 2,25 | 0,15 |
| 47-53 | 3,25 | 2,60 | 6,10 | 2,55 | 0,18 |
| 53-62 | 3,75 | 3,20 | 6,45 | 3,30 | 0,17 |
| 62-70 | 3,35 | 2,60 | 6,75 | 3,20 | 0,21 |
| 70-78 | 3,05 | 3,05 | 10,40 | 10,40 | zero |
| 78-96 | 2,70 | 1,90 | 8,50 | 6,60 | 0,42 |

**Tabela 6** - Dados interpolados e par
calculados no ensaio 2.
**Símbolos:** Yx/s = Massa seca produzi
DQO consumida
tor de conversão); * = Valores não
polados porque o sistema não atingi
líbrio

| Tempo (dias) | Massa seca final (g/l) | Massa seca inicial (g/l) | DQO inicial (g/l) | DQO fina (g/l |
|---|---|---|---|---|
| 0-6 | 1,00 | 0,10 | 1,70 | 0,2 |
| 6-14 | 1,20 | 0,75 | 1,10 | 0,2 |
| 14-21 | 1,25 | 1,00 | 0,60 | 0,2 |
| 21-27 | 1,40 | 1,20 | 0,70 | 0,3 |
| 27-32 | 1,40 | 1,20 | - | 0,5 |
| 32-36 | 1,45 | 1,15 | 0,95 | 0,4 |
| 36-41 | 1,75 | 1,20 | 1,45 | 0,4 |
| 41-47 | 2,00 | 1,50 | 1,40 | 0,5 |
| 47-50 | 2,10 | 1,70 | * | * |
| 50-57 | 2,05 | 1,85 | 1,10 | 0,9 |
| 57-62 | 1,80 | 1,80 | 0,80 | 0,5 |
| 62-64 | * | * | * | * |
| 64-70 | 1,70 | 1,70 | 1,15 | 0,9 |
| 70-76 | 1,70 | 1,50 | 1,10 | 0,5 |
| 76-83 | 1,80 | 1,70 | 0,95 | 0,5 |
| 83-87 | 1,40 | 0,85 | 1,25 | 0, |
| 87-92 | 1,10 | 0,95 | 0,70 | 0, |
| 92-96 | 1,25 | 0,80 | 1,10 | 0, |

Verifica-se facilmente que até este estágio o valor da DQO final do meio lizou-se em valores sempre crescentes a cada alimentação, o que indica p componentes de vinhaça não eram assimilados pela BF e se acumulavam no reat tou-se corrigir este fato aumentando-se o volume de corte e diminuindo-se inicial (6ª alimentação) mas os resultados obtidos foram discretos, indican substituição de meio deverá ser maior que aquela realizada.

Entre 7ª e 9ª alimentações (47 a 70 dias) aumentou-se a DQO inicial para 6500mg/l $O_2$/ℓ e o sistema se estabilizou num valor médio de 53% de redução com fator médio de conversão de 0,19g cel/g DQO.

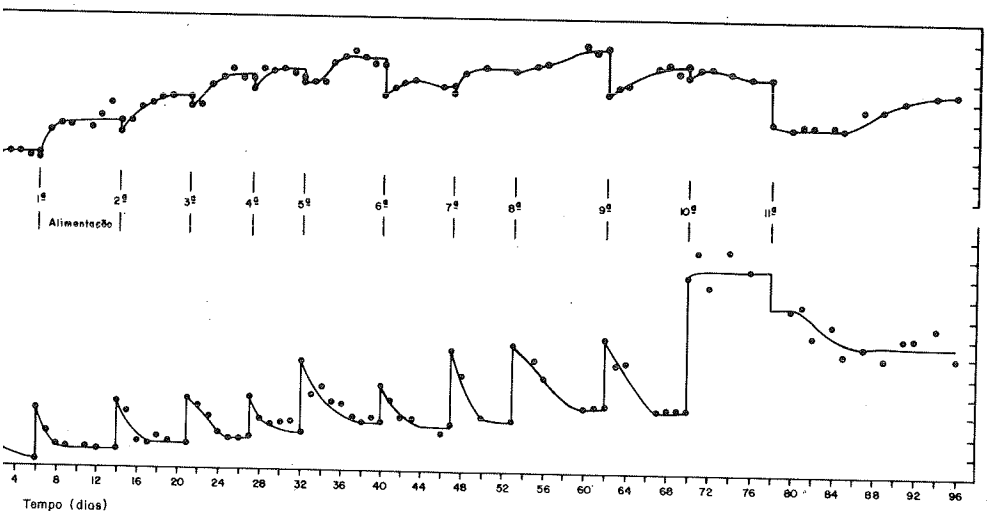
Na 10ª alimentação aumentou-se bastante a DQO inicial (10400mg/l) e o exame da Figura 1 mostra que as BF não conseguiram se desenvolver no meio tenham sobrevivido por 8 dias. Isto ficou demonstrado na 11ª alimentação q DQO inicial foi diminuída para 8500mg/l e a cultura voltou a se desenvolver dias de adaptação a este nível de DQO.

No ensaio 2, onde se utilizou sempre meio sintético e volume de corte de sistema se mostrou mais estável com menor acúmulo de DQO residual e fatores versão em média superiores aos obtidos no meio de vinhaça. Deve-se levar e deração que as concentrações celulares obtidas foram sempre inferiores àqu ensaio 1 e a espessura da camada de células aderidas à parede do reator fo ficativamente menor, o que possibilitou melhores condições de aproveitam iluminação do sistema.

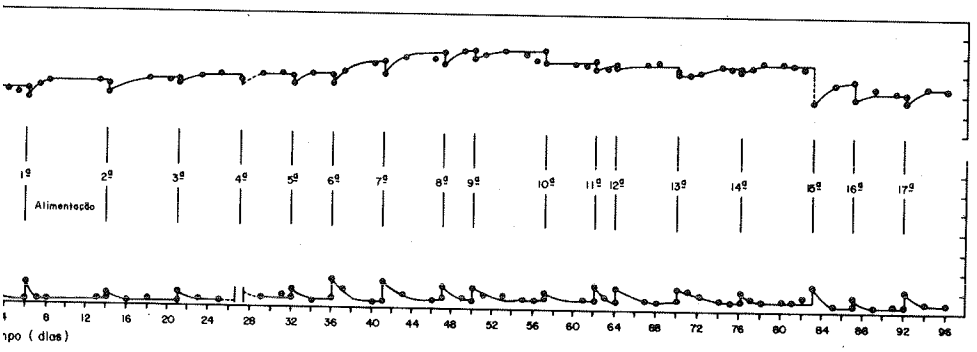
## Conclusões

Os resultados permitidos permitem constatar: 1. Nas condições adotadas a BF conseguiu se desenvolver em meio com até 8500mg/l de DQO. 2. Não se po até o momento o uso de vinhaça "in natura" (DQO entre 15000 e 70000mg/l) senvolvimento de BF, porém a vinhaça mostrou ser um bom constituinte d cultura e incomparavelmente mais econômico que o meio sintético. 3. O pro cortes se mostrou eficiente, indicando que há boas possibilidades de adoçã cessos contínuos de fermentação.

1 - Resultados obtidos no ensaio 1




2 - Resultados obtidos no ensaio 2




## mentos

rabalho contou com o apoio financeiro do Deptº de Ciências Exatas e Tecno- DCET da Secretaria de Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia do Estado aulo - SICCT. Agradecemos também a valiosa colaboração dos Profs. Flávio m do Instituto de Química da USP e Willibaldo Schmidell Netto da Escola Po- a da USP, e do técnico Nilton de Morais Bloisi da Faculdade de Ciências ticas da USP.

## ias Bibliográficas

ɔni, W.; Materassi, R.; Filpi, C.; Vincenzini, M.; Ena, A. & Florenzano, G. metodo di trattamento a batteri fotosintetici delle acque di scarico. ıze, CNR-AQ/2/21, 1982.

2. Carioca, J.O.B. & Arora, H.L. - Biomassa: fundamentos e apl tecnológicas. Fortaleza, Universidade Federal do Ceará, 1984.
3. Kobayashi, M.; Fujii, K.; Shimamoto, I. & Maki, T. - Treatment and re- industrial wastewater by phototrophic bacteria. Prog. Water Tech., 11:2 1978.
4. Kobayashi, M. & Kurata, S. - The mass culture and cell utilizat photosynthetic bacteria. Process Biochem. , 13:27-30, 1978.
5. Oxigen Demand (Chemical). In: - Standard methods for the examination of and wastewater. 14.ed. Washington, DC. American Public Health Assoc p.550-554, 1975.
6. Shelef, G.; Solder, C.J. - Algae biomass: production and use. Ams Elsevier/North Holland Biomedical Press, 1980.

# IMENTO DE MORCHELLA CRASSIPES (VENT) PERS. EM MEIO TICO E VINHAÇA

. Sebastião Sant'Anna
.da Teixeira
ıne Moretto

de Ciência e Tecnologia de Alimentos
de Ciências Agrárias UFSC
Postal 476
Florianópolis SC, Brasil

ente trabalho apresenta os resultados obtidos no comparativo do cultivo de micélio de *Morchella oes* (Vent) Pers. em meio sintético e vinhaça. No so fermentativo foi utilizado 1 litro de ar/litro de inuto, temperatura de 25°C, pH 4,5 e 5,0 para o meio ico e vinhaça, respectivamente, a vinhaça utilizada no so após a esterilização e resfriamento foi ntada com solução de uréia a 20% (15ml/litro de Verificou-se a relação entre o tempo de fermentação, ção do pH, o consumo de açúcares redutores totais g/100ml de meio) e o rendimento micelial (micélio seco de meio) nas fermentações realizadas em ambos os Observou-se que o rendimento em meio sintético o 5,0% de ART foi inferior ao obtido com a vinhaça desta apresentar, apenas 1,065%. Com relação ao o micélio obtido em meio sintético apresentou forte mofo e em meio de vinhaça odor à bagaço de cana ado.

## *la crassipes growth in synthetic and vinasse media*

rative study on *Morchella crassipes* growth in synthetic asse media was carried out. The experiments were at H 4,5 and 5,0, and aeration of 1 liter of air/1 liter .um/minute, and a 20% urea solution (15ml/liter of after sterilization and cooling, both to synthetic lasse medio. Time of fermentation, pH change, total sugar (TRS) consume (g/100ml of medium) and yelding relation were set up. Yelding from a 5% TRS c medium was less than that from vinasse with 1,065% avor from vinasse medium mycelium was better than m the synthetic on.

## ão

autores (2, 3, 10, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 24) têm discutido em palhos, a possibilidade do uso de micélio de cogumelos na alimentação humana como fonte de proteínas e vitaminas ou mesmo como complemento aromatizante

em sopas e alimentos desidratados. Dentre os microrganismos estudados para es encontram-se várias espécies de *Morchella* (*M. hortensis* B., *M. crassipes* Pers., *M. hibrida* Sow ex Fr., *M. esculenta* Fr.), de *Agaricus* (*A. campestris* Fr., *A. bisporus* (Lange) Sing, de *Tricholoma* (*T. nudum* (Bull. ex Fr.) Kumm *Boletus* (*B. granulatus* L. ex Fr., *B. luteus* L. ex Fr., *B. edulis* Bull. ex Fr 3, 4, 6, 7, 8, 10, 12, 13, 16, 17), cujas condições de crescimento é caracter de cada espécie.

O micélio desenvolvido em meio líquido aerado cresce de forma semelhante à nas esferas, cujo diâmetro varia dependendo da intensidade da agitação, aera concentração de açúcar do meio. Em frascos de agitação as esferas apresen diâmetro de aproximadamente 0,125 polegadas , semelhante à ova de peixes, frascos aerados sem agitação, os grumos são maiores e seu diâmetro fica em t 1,0 polegada. A cultura contém numerosos corpos semelhantes aos esporos secu que foram descritos por Kligman (12) e Humfeld (10). O crescimento rápido culturas parece ser resultado da germinação e crescimento dos esporos secun Após 48 horas o cordão micelial fragmenta-se e a 72 horas os fragmentos to abundantes no meio e cada fragmento individual serve como um novo núcleo de mento (24). A produção de esporos secundários está relacionada com a velocid agitação do meio (25). Humfeld & Sugihara (10) trabalhando com *A. campes* fermentador com 5% de inóculo, observaram intensa esporulação 15 horas após culação.

O maior problema , até o presente, é o desenvolvimento em cultura submersa aroma de cogumelos no micélio, de intensidade suficiente e boa aceitabilidad consumidores. Amostras de *A. campestris*, desenvolvidas em meio líquido fora dos e submetidas a um painel de teste. Os comentários mais favoráveis foram micélio possuía um aroma semelhante à noz, queijo ou apenas agradável (13). tros indivíduos preferiram amostras de cogumelos naturais às do micélio. O desenvolvido em meio sólido possui um odor característico que não é detect micélio desenvolvido em meio líquido (13).

O objetivo do presente trabalho é o de comparar o crescimento de micélio *crassipes* em fermentador utilizando como susbstrato meio sintético (10) e suplementada com uréia e definir possibilidades de utilização do mesmo.

## Material e Métodos

***Métodos microbiológicos*** - A cultura de *M. crassipes* foi cedida pelo Centraa Voor Schimmelcultures, sem codificação e mantida à 25°C em ágar extrato d com 5% de glicose. A composição do meio sintético foi a mesma utilizada por & Sugihara (10).

**Tabela 1** - Relação entre o tempo de fermentação (hora), a variação do pH, o de açúcares redutores totais (ART, g/100ml de meio) e o rendimento m (g/100ml de meio) na fermentação do meio sintético e vinhaça em fermentad *Morchella crassipes*

| Tempo de fermentação (hora) | pH (meio sintético) | pH (vinhaça) | ART (g/100ml de meio sintético) | ART (g/100ml de vinhaça) | Micélio seco (g/100ml de meio sintético) | Micélio seco (g/100ml de vinhaça) | Rendimento total % (meio sintético) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 4,5 | 5,0 | 1,065 | 1,065 | 0,0925 | 0,1985 | |
| 12 | 4,4 | 5,2 | 1,030 | 1,661 | | | |
| 24 | 4,1 | 5,2 | 0,990 | 0,330 | | | |
| 36 | 3,9 | 5,6 | 0,910 | 0,072 | | | |
| 48 | 3,6 | 5,7 | 0,563 | 0,000 | | | |
| 60 | 5,0 | 5,7 | 0,210 | 0,000 | | | |
| 72 | 6,6 | 5,7 | 0,000 | 0,000 | | | |
| 96 | 8,1 | 5,7 | 0,000 | 0,000 | 0,440 | 1,5242 | 41,35 |

a 2 - Composição centesimal
icélios de *Morchella cras-*
desenvolvidos em meio sin-
) (11) e vinhaça

| Composição centesimal (em peso seco) | Micélio desenvolvido em meio sintético % | Micélio desenvolvido em vinhaça % |
|---|---|---|
| Umidade | 7,64 | 8,46 |
| Cinzas | 25,42 | 18,79 |
| Lipídios | 7,94 | 9,40 |
| Fibra | 2,48 | 5,31 |
| Proteína | 43,84 | 26,34 |
| Fração Nifext | 12,68 | 31,70 |

icélio desenvolvido em meio sólido (tubos de ágar extrato de malte com 5% de
se inclinado, medindo 2x20cm de diâmetro), é raspado da superfície com uma es-
a estéril e levado a um desintegrador contendo água destilada estéril (100ml
ada 5 tubos). O material foi finamente triturado em alta rotação (3500rpm)
e dois minutos. Em seguida, com auxílio de uma pipeta estéril de ponta larga,
ere-se 10ml do micélio desintegrado para frascos aerados contendo 300ml de
sintético ou vinhaça. Uma intensa massa micelial é desenvolvida e esta é le-
o desintegrador de forma similar ao descrito anteriormente, a qual servirá de
o para o fermentador.

*tação* - A fermentação transcorreu nas seguintes condições: 1 litro de ar/li-
meio/minuto, temperatura de 25°C, agitação 800rpm, pH 4,5 para meio sintéti-
,0 para a vinhaça. A quantidade de inóculo utilizada neste experimento foi da
de 0,5% do volume total do meio (300ml/6000ml de meio). A vinhaça utilizada
terilizada a 121°C durante 15 minutos e resfriada à 25°C, quando então foi
entada com uma solução de uréia a 20% (15ml/litro de vinhaça). Os experimen-
ram realizados em fermentador construído na Universidade Federal de Santa Ca-
. O referido fermentador dispõe de controle de temperatura, de pH, de agita-
do volume de ar incorporado.

*s analíticos* - O pH foi determinado através de um potenciômetro Methrom Heri-
s açúcares redutores totais (expressos como glicose) segundo Somogy (23). Na
micelial desidratada foram feitas as seguintes análises: umidade, cinzas, fi-
ipídios, segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (11), o nitro-
total foi determinado pelo método da Association of Official Agricultural
ts (1), cuja multiplicação pelo fator 6,25 nos fornece a proteína. A fração
enada não protéica (NIFEXT) foi obtida pela diferença das demais frações em
) a 100g do produto.

**são dos Resultados**

abela 1 observa-se o comportamento do pH durante o crescimento do micélio de
*ussipes* em meio sintético e vinhaça. No meio sintético ocorre na queda do pH
(inicial) até 3,6 nas primeiras 48 horas de fermentação. Na vinhaça uma ca-
ística bem diferente foi observada, o pH apresentou um aumento constante de
5,7 onde a partir de 48 horas de fermentação não ocorre mais variação (for-
le platô). A queda do pH observado no crescimento do micélio em meio sintéti-
ser explicada devido à degradação da glicose à ácido glucônico pelas enzi-
sentes nesta espécie (9).
aumento pode ser explicado de duas formas distintas, quando a uréia apresen-
omo a única fonte de nitrogênio: a primeira refere-se à capacidade do micé-
transformar a uréia excedente de suas necessidades nutricionais em amônia, a
está relacionada com a autólise do micélio e consequente liberação de pro-
aminoácidos básicos e amônia (16, 17).
elação ao consumo de açúcares redutores totais, o comportamento foi similar
os os meios, diferindo apenas no tempo em que houve o esgotamento do mesmo.
sintético os açúcares redutores totais foram totalmente consumidos em 72
e fermentação, enquanto que na vinhaça demorou apenas 48 horas.

Analisando os dados apresentados na Tabela 1, observa-se que o micélio pro em vinhaça apresentou um rendimento de 61,98% (pelo seco), enquanto que o obt meio sintético foi apenas 41,31%. Com base nos resultados citados na literatu diversas espécies de fungos superiores (2, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 12, 13, 16, 17) re-se que o principal fator que influencia na produção de micélio é a relaçã bono:nitrogênio presente no meio de cultura. A relação utilizada neste trabal 8,7:1 em meio sintético e 12,4:1 na vinhaça. O micélio desenvolvido em v apresentou melhor rendimento embora a quantidade inicial de inóculo ter sido rente. Isto provavelmente deve-se a uma relação C:N mais adequada.

A Tabela 2 apresenta a composição centesimal (peso seco) do micélio de *M.* *pes* desenvolvido em meio sintético e vinhaça. Os valores obtidos em ambos os são similares com exceção do teor de proteína, que para o micélio obtido e sintético foi de 43,84% enquanto que em vinhaça apresentou apenas 26,34%. O i ocorreu com a fração nifext, o micélio obtido em vinhaça apresentou 31,7% de nitrogenada não protéica enquanto que em meio sintético apenas 12,68%.

## Conclusões

1. A vinhaça pode ser utilizada como substrato para produção de micélio de los desde que, seja enriquecido com substâncias que forneçam nitrogênio nece à elaboração de proteínas pela espécie em questão.
2. O micélio cresce em várias faixas de pH, sendo este característico para ca pécie frente a um determinado meio de crescimento.
3. O melhor rendimento (produção de micélio) foi obtido com vinhaça.
4. O aroma desenvolvido no micélio produzido em meio sintético e vinhaça não responderam aos dados citados na literatura.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a FINEP pelo apoio financeiro.

## Referências Bibliográficas

1. Association of the Official Agricultural Chemists - A.O.A.C. - Official of analisys. 13.ed. Whashington, 1980.
2. Block, S.S. - Mushroom mycelium: experiments with submerged c Agricultural and Food Chemistry, 1:890-893, 1953.
3. Block, S.S. - Developments in the production of mushroom mycelium in su culture. J. Bioch. and Microb. Tech. and Engin., 2:243-253, 1960.
4. Dijkstra, F.I.; Overbeck, R.C. & Davidson, R.S. - Factors affecting the of morel mushroom mycelium in submerged culture. J. Agric. Food Che 11:158-162, 1963.
5. Eddy, P.D. - Production of mushroom mycelium by submerged cultivation. J Science and Agric., 9:644-649, 1958.
6. Falange, H. - Production of mushroom mycelium as a protein and fat sou submerged culture in medium of vinasse. Appl. Microbiol., 10:572-576, 19
7. Ghosh, A.K. & Segupta, S. - Studies on biochemistry of higher fungi. Submerged growth of a few mushroom in syntetic media. J. Food Scie Technol., 15:237-242, 1978.
8. Ghosh, A.K. & Segupta, S. - Influence of some growth factors on the pro of mushroom mycelium in submerged culture. J. Food Science and T 19:57-60, 1982.
9. Haehn, H. - Bioquímica de los fermentaciones. Madrid, 1956.
10. Humfeld, H. & Sugihara, T.F. - Mushroom mycelium production by su propagation. Food Technol., 355-356, 1949.

nstituto Adolfo Lutz - Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 2.ed. São aulo, 1976.
lligman, A.M. - Secondary spores in the mycelium of the cultivated mushroom, *salliota campestris Fr.* Am. J. Botany, 29:304-308, 1942.
itchfield, J.H.; Overbeck, R.C. & Davidson, R.S. - Factors affecting the rowth of morel mushroom mycelium in submerged culture. J. Food Chemistry and gric., 11:153-162, 1963.
itchfield, J.H.; Vely, V.G. & Overbeck, R.C. - Nutrient content of morel ushroom mycelium: amino acid composition of the protein. J. Food Science, 3:741-743, 1963.
itchfield, J.H. - Nutrient content of morel mushroom mycelium: B-vitamin omposition. J. Food Science, 29:690-691, 1964.
itchfield, J.H. - Submerged culture of mushroom mycelium. In: - Peppler, H.J., d. - Microbial technology. New York, p.144-170, 1967.
itchfield, J.H. - Submergerd culture of morel mushroom mycelium. Food echnol., 21:159-161, 1967.
itchfield, J.H. - Morel mushroom mycelium as a food flavoring material. iotech. and Bioengin., 9:289-304, 1967.
itchfield, J.H. - The production of fungi. In: - Mateles, R.J. & Tennenbaum, .R., eds. Cambridge, Mit Press, p.309-329, 1968.
.tchfield, J.H. - Production of single-cell protein for use in food or feed. n: - Peppler, H.J. & Pelman, D., eds. 2.ed. New York, Academic Press, 109-146, 1969.
urtin, A.M. - Submerged production of *Agaricus campestris* mycelium in prot :tracts. J. Food Science, 48:206-207, 1983.
.so, B.H. & Johnson, N.J. - Factors producing high yeast yields in sinthetic dia. J. Bacteriol., 57:235-246, 1949.
mmogy, M. - A new reagent for the determination of sugar. J. of Biol. emistry, 160:61-69, 1945.
gihara, T.F. & Humfeld, H. - Submerged culture of the mycelium of various ecies of mushroom. Appl. Microbiol, 2:170-172, 1954.

# UTILIZAÇÃO DE SUB-PRODUTOS DA INDÚSTRIA ALCOOLEIRA NA OBTENÇÃO DE BIOMASSA DE SPIRULINA MAXIMA. PARTE II - EMPREGO DO RESÍDUO DA DESTILAÇÃO DO MOSTO FERMENTADO (VINHAÇA)*

Carlos Augusto Montenegro Ferraz
Eugênio Aquarone
Margareth Krauter

Deptº de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica
Faculdade de Ciências Farmacêuticas USP
Caixa Postal 30786
01051 São Paulo SP, Brasil

Waldemaro Balloni
& Gino Florenzano

Centro di Studio dei Microrganismi Autotrofi do CNR
Istituto di Microbiologia Agraria e Tecnica
Università di Firenze
Piazzale delle Cascine, 27
Firenze Italia

**Resumo**

Em laboratório, com luz artificial, o emprego de resíduo da destilação do mosto fermentado de cana-de-açúcar (vinhaça), como fonte de nutrientes para *Spirulina maxima*, resultou em crescimento comparável ao verificado em culturas de referência, crescidas em meio mineral definido. A carga orgânica inicial (500mg O21-1 de DBO5) sofreu redução de até 95% e de até 74% na DQO, após quatro dias de cultivo.

**Summary**

*Utilization of by-products from alcoholic fermentation industry to biomass production of Spirulina maxima. Part II - Use of molasses alcohol distillate waste*

At laboratory scale and under artificial light, the utilization of molasses alcohol distillate waste as nutrient source to *Spirulina maxima* yield a similar growth of the cyanobacterium as compared to control cultures. Simultaneously at the fourth growth day there was a reduction of 95% in the BOD (biochemical oxygen demand) and 74% in the COD (chemical oxygen demand).

---

* Trabalho efetuado dentro do Convênio CNPq (Coordenador Prof. E. Aquarone) (Coordenador Prof. G. Florenzano).

## lução

ıdústria açucareira teve sempre um papel importante na economia brasileira, lo durante o século XVII praticamente o monopólio mundial da produção. Mas, a : do desenvolvimento da cana-de-açucar na América Central e da beterraba na ı, a produção declinou sensivelmente passando a atender quase exclusivamente o lo interno até o inicio do século XX. O interesse na produção em larga escala ıou a partir da crise do petróleo em 1973, quando o etanol, que era um subpro- la indústria açucareira, passou a ser acrescentado à gasolina (5% V/V), pou- divisas na importação do petróleo. A porcentagem da mistura foi sendo aumen- ›rogressivamente, acompanhada por modificações tecnológicas na indústria auto- ıstica. Atualmente a maior parte dos automóveis novos comercializados no Bra- ıtiliza exclusivamente etanol como combustível (7, 15).

ıfra de 1982/1983 forneceu 171 x $10^6$ ton. de cana-de-açúcar, representando 9,5 ton. de açúcar e 5 x $10^9$ ℓ de álcool etílico. Após a colheita, lavagem, moa- clarificação do mosto e evaporação, obtem-se o açúcar cristalizado. O melaço, ante da produção do açúcar, apresenta cerca de 55% de açúcares fermentescí- normalmente é diluído com água, até a concentração de 20°Brix, antes da fer- ão alcoólica por *Saccharamyces cerevisiae*. Após a fermentação alcoólica ob- um mosto fermentado, com cerca de 7,5% de álcool, separando-se as leveduras ntrifugação. O álcool é então destilado e retificado até a concentração apro- de 96°GL. Para misturar à gasolina, o álcool é desidratado até à obtenção de anidro (~99,7% álcool/peso).

incipal efluente, que fica na fabricação do álcool, é o resíduo da coluna de ação, denominado restilo ou vinhaça. Normalmente, produz-se de 12 a 13 litros nhaça por litro de etanol destilado, resultando, da safra 1982/1983, cerca de $10^{10}$ litros de vinhaça. Este resíduo é altamente poluente, com elevados teo- e DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) e DQO (Demanda Química de Oxigênio) se ado ao obtido com resíduos amiláceos, conforme Tabela 1 (8, 10).

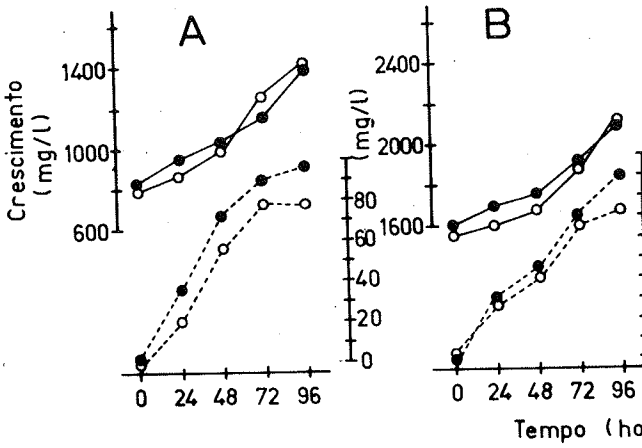
-se levar em consideração que as características desse resíduo são influen- não apenas pelas condições de fabricação adotadas em cada usina, mas além pela disponibilidade de água.

tem diversos métodos de utilização de vinhaça. Os físicos preconizam a evapo- com conseqüente concentração dos nutrientes, servindo como fertilizante la. Os métodos biológicos são geralmente do tipo anaeróbico, uma vez que o vo principal é a redução da carga poluente, com simultânea obtenção de odutos úteis, como gás metano, oriundo da biodigestão de restilo. Devido ao volume de tal resíduo parece útil a busca de diferentes aplicações para o que, em conjunto, minimizem significativamente o problema poluente. Como o é um país com médias climáticas elevadas, alta incidência de radiação solar, território e abundância de mananciais de água potável, pensou-se no emprego nhaça como fonte de nutrientes para obtenção de biomassa, de origem fotossin- . A cultura maciça de microalgas, bactérias fotossintéticas e cianobactérias do motivo de estudo desde a década de 1950, principalmente nos EUA, Japão, e Itália, visando a obtenção de biomassas de elevado valor nutricional, a de substratos economicamente convenientes (1, 3, 5, 8, 9, 13).

ıgrama de colaboração internacional em curso, a nível de CNR e CNPq, entre o mento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica da Universidade de São Paulo e o di Studio dei Microrganismi Autotrofi dell' Università di Firenze, prevê o › de microrganismos fotossintéticos anoxigênicos (bactérias da família *Rho- laceae*) e oxigênicos (cianobactérias do gênero *Spirulina*), na depuração de siduos para obtenção de águas depuradas e produção de biomassa com elevado o protéico, para ração (4, 6, 12).

sente trabalho, realizado no Centro di Studio dei Microrganismi Autotrofi di (Itália), contém os resultados obtidos em laboratório com luz artificial, mprego de vinhaça, como fonte de nutrientes, para a cultura de *Spirulina ma-*

**Figura 1** – Crescimento de *Spirulina maxima* em vinhaça (resíduo da coluna de destilação) em relação ao crescimento em meio mineral.
**Símbolos:** o--o = Redução de DQO (%); ●--● = Redução de $DBO_5$ (%); ●—● = Crescimento em vinhaça; o—o = Crescimento em meio mineral




## Material e Métodos

*Spirulina maxima* 4mX, da coleção do Centro di Studio dei Microrganismi Aut Firenze, Itália (Figura 6), foi cultivada em meio mineral próprio (3, 4).

A vinhaça foi fornecida pelo Instituto de Pesquisas Tecnológicas de São Brasil, apresentando: $DBO_5$ – 24.000mg $O_2^{1-1}$, DQB – 34.000mg $O_2^{1-1}$, nitrogê jeldhal) – 3,1g$l^{-1}$ e pH 4,5. Foi feita a clarificação, antes do uso nas c fotossintéticas, pela adição de cloreto de sódio (10g$l^{-1}$) e hidróxido de sód M/V), até atingir pH 12,0. Com isto, o material orgânico em suspensão flocu precipita, obtendo-se um sobrenadante com redução aproximada de 50% na D quantidade inicial de vinhaça utilizada nos experimentos era tal que for 500mg $O_2^{1-1}$ de $DBO_5$.

**Figura 2** – Crescimento de *Spirulina maxima* com vinhaça (resíduo da coluna de destilação) e meio mineral

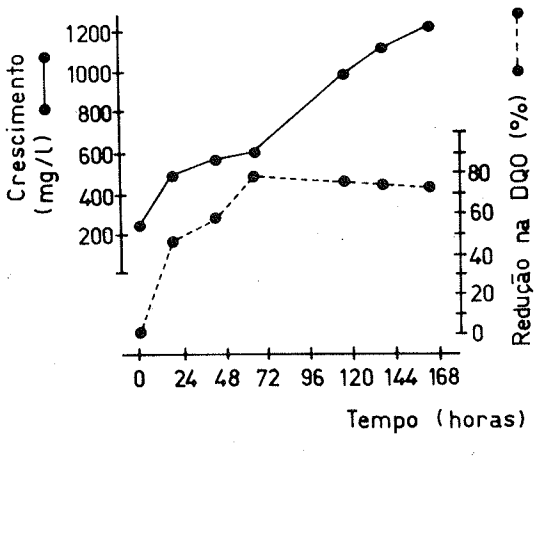
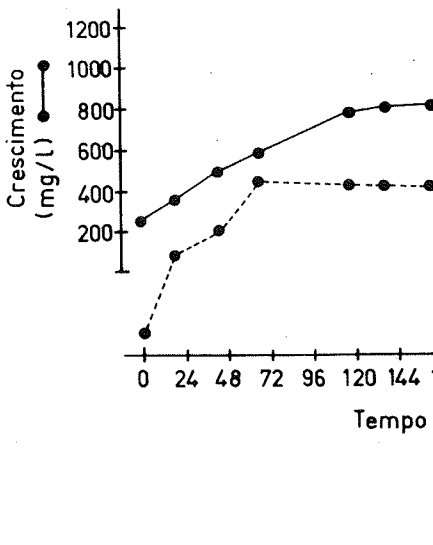


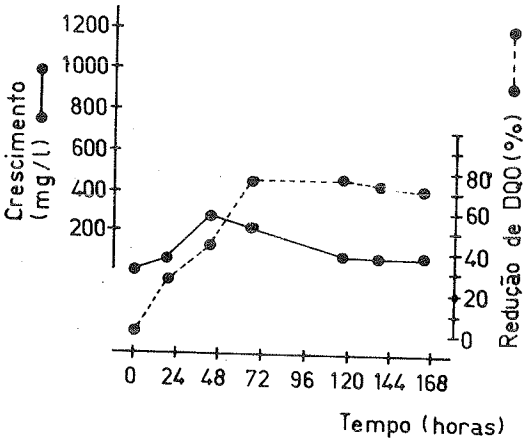

**Figura 3** – Crescimento de *Spirul xima* com vinhaça (resíduo da co destilação)



**a 1** – Composição química do resíduo stilação da fermentação alcóolica elaço de cana-de-açúcar (vinhaça)

| arâmetro | Resíduo da destilação (vinhaça) |
|---|---|
| | 3,8 – 5,0 |
| totais ($gl^{-1}$) | 21 – 85 |
| dissolvidos ($gl^{-1}$) | 4 – 31 |
| dissolvido ($mgl^{-1}$) | zero |
| oC) ($mgl^{-1}$) | 13.000 – 26.000 |
| romato) ($mgl^{-1}$) | 15.000 – 37.000 |

**Figura 4** – Depuração da vinhaça (resíduo da coluna de destilação) pelo crescimento heterotrófico




*ies de cultivo* - Todos os experimentos foram executados em tanques abertos 1 5) de 0,13$m^2$ e 6,5ℓ de capacidade. A cultura era mantida a 5cm, pela adição 1 destilada, a fim de repor as perdas ocasionadas pela evaporação. A circula- 1 cultura era mantida por pás rodantes, com frequência de 15 ciclos/minuto. A ıtura do sistema foi mantida 30 ± 1°C, sob iluminação constante, com lâmpadas ıscentes (1000W) que forneciam, na superfície do líquido, cerca de 100m $l^{-2}$ (P.A.R.).

*ão do crescimento* - A biomassa foi coletada por filtração (Sartorius$^R$ 8µm de o), lavada duas vezes com solução de cloreto de sódio (2,5%) e, em seguida, ua destilada, para remoção dos sais. A amostra era então secada, até peso te, em estufa a 105°C.

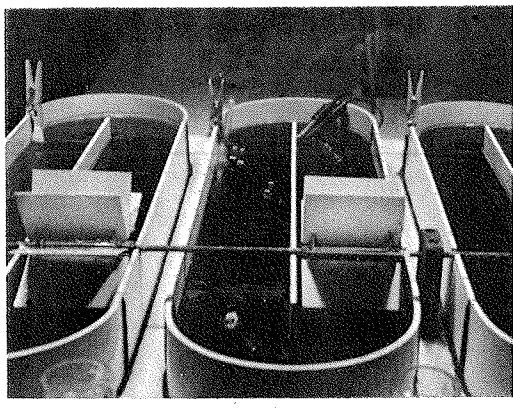
*da carga orgânica* - A $DBO_5$ foi feita pelo método da incubação a 20 ± 1°C ias e a DQO executada pelo método do dicromato (11).

*o do pH* - Nos tanques contendo apenas meio mineral, para referência, a cor- do pH foi feita pelo acréscimo de anidrido carbônico. Nos tanques com vinha- orreção do pH foi feita pelo acréscimo de ácido mineral (HCl 1N). Em ambos emas manteve-se o pH entre 9,5 e 10,0 (3).

## los e Discussão

los comparativos, ao crescimento de S. maxima em vinhaça e meio mineral são los na Figura 1. A diferença entre os dois gráficos está na quantidade celu- .cial, sendo 800$mgl^{-1}$ na Figura 1A e de 1600$mgl^{-1}$ na Figura 1B. O comporta- ıi bastante semelhante nos dois casos, apresentando significativa redução na ıre 70% e 75% e na $DBO_5$, entre 90% e 95%.

**Figura 5** - Tanques abertos para cultivo de *Spirulina maxima*, de 0,13m² e capacidade de 6,5ℓ



O crescimento, em presença de vinhaça, foi proporcional em meio mineral, não tivesse havido adição de anidrido carbônico, para correção do pH, indican a ação heterotrófica bacteriana foi suficiente para suprir os nutrientes li tes.

Quando se utilizou inóculo menor ($800mgl^{-1}$ - Figura 1A), a redução final de e DQO foi ligeiramente superior, provavelmente devida à menor formação de pr extracelulares.

*Spirulina maxima* é uma cianobactéria fotoautotrófica que assimila poucos c tos orgânicos mais complexos (17). Portanto, a depuração da carga orgânica nhaça ocorre através da associação com bactérias heterotróficas, normalmente gadas à superfície externa de *Spirulina*, ou presentes no meio. O material or é convertido em anidrido carbônico e minerais, pela respiração bacteriana; o os minerais são fotoassimilados pela cianobactéria, gerando oxigênio, utiliza las bactérias (cocos e bacilos gram positivos) na oxidação dos substratos o cos.

Deste processo interativo já estudado em lagoas de oxidação (9, 14, 16) r uma biomassa de qualidade superior, com simultânea utilização do resíduo polu

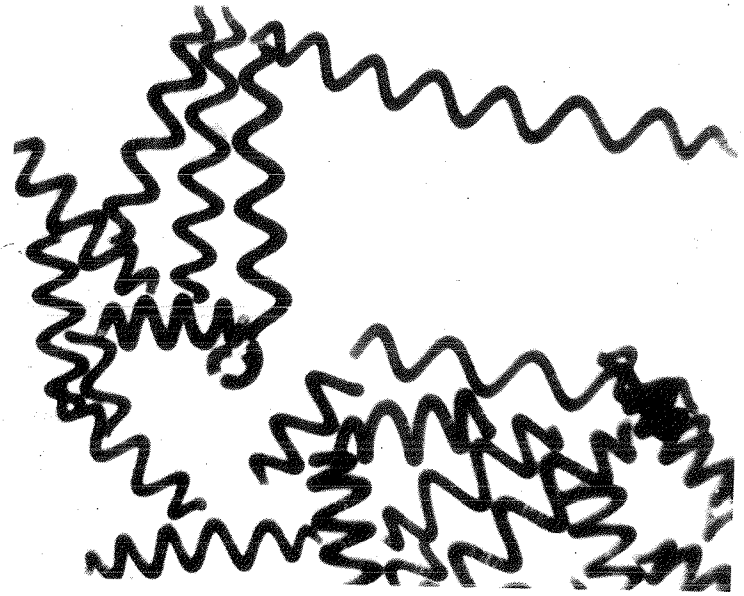
Prosseguindo com os experimentos, a fim de se verificar a influência de ca e bicarbonato em associação com vinhaça, no crescimento de *S. maxima*, o resí diluído com meio mineral. Os dados correspondentes estão nas Figuras 2 e 3. to o processo depurativo ocorre (72h iniciais), o crescimento de *S. maxima* é tante, passando a declinar devido à diminuição da mineralização dos compostos nicos. Na presença de meio mineral o crescimento de *S. maxima* e a redução foram semelhantes aos obtidos com vinhaça. Isto indica que a assimilação das de carbono não foi limitante no processo interativo com as bactérias, mesmo a redução da DQO se estabiliza; observa-se continuidade do crescimento ce mantido, desta feita, pelo "pool" de $HCO_3^-$ e $CO_3^=$.

Para avaliar a participação heterotrófica, no processo depurativo, utilizou tanque contendo vinhaça, na ausência de meio mineral e sem inóculo de *S. m* Como inóculo, utilizou-se o filtrado (membrana celulósica de 0,45mm de poros de uma cultura de *S. maxima*, crescida em meio mineral. Com isto, separou-s parte das bactérias que normalmente estão associadas a cianobactérias. O vol cultura filtrado foi dez vezes superior ao utilizado para inocular os experi anteriores. Admitiu-se que apenas 1/10 das bactérias heterotróficas, associ camada mucilaginosa, que envolve *S. maxima*, passaria para o filtrado. Os dad tão na Figura 4, observando-se nítido aumento da população bacteriana até ce 36h, passando a declinar, paralelamente à estabilização da redução de DQO.

## Conclusões

Os resultados obtidos deverão ser confirmados em planta piloto e em condiçõ turais de luz e temperatura no Brasil. Todavia, demonstram ser possível o e da vinhaça diluída e clarificada, como fonte de nutrientes, para a obtenção mica de biomassa de *S. maxima*, dando-se uma destinação nobre a um resíduo alt poluente.

1 6 - *Spirulina*
1, 4mX, da cole-
) Centro di Stu-
lei Microrganismi
:ofi, Firenze,
1



ıcias Bibliográficas


iba, T.; Fukinbara, T. & Have, E. - Algal treatment of molasses alcohol stillate waste. J. Ferment. Technol., 45:637-642, 1967.

lloni, W.; Florenzano, G. & Materassi, R. - Lineamento di un nuovo metodo di attamento biológico degli effluenti di zuccherificio. L'Industria Saccarifera aliana, 6:137-144, 1976.

lloni, W.; Materassi, R.; Filpi, C.; Vicenzini, M.; Ena, A. & Florenzano, G. In: - Il metodo di trattamento a batteri fotosintetici delle acque di rico. Serie di quaderni monografici AQ/2/21 del Consiglio Nazionale delle erche, 1982.

raz, C.A.M.; Aquarone, E.; Florenzano, G.; Balloni, W. & Tredici, M. - lização de sub-produtos da indústria alcooleira na obtenção de biomassa de *rulina maxima*. Parte I - Emprego do anidrido carbônico. Rev. Microbiol. (S. ılo), 16:179-187, 1985.

renzano, G. & Materassi, R. - La coltura delle microalghe come processo di tesi di proteine. In: - Atti del VII Simposio Internazionale di Agrochimica la Sintesi Biologica delle Proteine, Salamanca, 1968.

renzano, G. - Le proteine delle microalghe a destinazione alimentare. Riv. Sost. Grasse, 52:11, 1975.

kson, E.A. - Brazil's national alcohol programme. Process Biochem., 29-30, 1976.

aric, N.; Nguyen, H.T. & Bergougnon, M.A. - Growth of *Spirulina maxima* algae effluents from secondary waste-water treatment plants. Biotechnol. Bioeng., 881-896, 1974.

erassi, R. & Tomaselli, L. - I processi algali nel riciclo fotosintetico dei iuti. In: - Atti XIX Congresso Nazionale della Società Italiana di robiologia. Catania, 5-8 giugno, 1980.

teiro, C.E. - Brazilian experience with the disposal of waste water from the ar cane and alcohol industry. Process Biochemistry, 10:33-41, 1975.

icial Methods of Analysis of the Association of Official Analytical mistry. 12.ed. Washington, William Horwitz, 1980.

n, G.; Shelef, A. & Levi, A. - Growth of *Spirulina maxima* on cow-manure tes. Biotechnol. and Bioeng., 21:2169-2173, 1979.

13. Oswald, W.J. - Complete waste treatment in ponds. In: - Prog. 6th Int. L
Poll. Res. Conf., 1972.
14. Paoletti, C.; Vicenzini, M.; Bocci, F. & Materassi, R. - Compos
biochimica generale delle biomasse di *Spirulina platensis* e *Spirulina*
In: - Atti del Convegno di Prospestive della coltura de Spirulina in
Firenze, 1980.
15. Shelef, G.; Moraine, R.; Meydan, A. & Sanbank, E. - Combined algae pro
waste-water treatment and reclamation systems. In: - Microbial
conversion. London, Pergamon Press, 1977.
16. Silvestrini, G. - Brazile: zucchero amaro. Qual Energia, 6:61, 1983.
17. Tomaselli, L. Pelosi, E. & Paoletti, C. - Fotoassimilazione di c
organici in *S. platensis* e *S. maxima*. In: - Atti del XVIII Congresso Na
della Società Italiana de Microbiologia, Fiuggi Terme, 1978.

# CATION OF RHODOCOCCUS (CORYNEBACTERIUM) EQUI FROM OVINE AND CAPRINE SOURCES

Fernando de Almeida

Nacional de Pesquisas de Caprinos
a Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Postal 10
Sobral CE, Brasil

icente de Oliveira
ıa Missae Hayashi

de Ciências Biológicas e da Saúde
idade Federal de Mato Grosso do Sul
Universitária
ampo Grande MS, Brasil

xists considerable discrepancy in the literature as most important biochemical and colonial morphological a to be used for the identification of *Rhodococcus* n the present study using R. equi from non-equine , we found the most important criteria for ying this organism to be synergistic hemolytic ns with beta toxin of *S. aureus* and with the ns *L. monocytogenes*, *C. pyogenes* and *C. uberculosis*.

## ção de *Rhodococcus (Corynebacterium) equi* de origem ovina e caprina

onsiderável discrepância na literatura com relação ncipais critérios bioquímicos e de morfologia das empregados para a identificação do *Rhodococcus* tilizando cepas de *R. equi* de origem bovina, ovina e concluímos que os critérios mais importantes para a cação destas cepas foram as reações de hemólise a observadas com a toxina beta de *S. aureus* e com os os *L. monocytogenes*, *C. pyogenes* e *C. berculosis*.

*bacterium equi* has been described since 1923 as the etiologic agent of foal a. Only recently however, has *R. equi* been isolated from individual cases athogen in other species, e.g. caprine (Whitford, H.W. & Jones, L.P. – S. ., 27:261-262, 1974) cattle (Almeida, P.F. & col. In: – Resumos do XIX as. Med. Vet., Belém, 1984; Woolcock, J.B. & Rudduck, H.B. – Aust. Vet. J., 1973), sheep (Roberts, D.S. – Aust. Vet. J., 33:21, 1957) and in humans B.G. & col., Ann. Intern. Med., 66:1174-1177, 1967).

Criteria for identifying this organism has been somewhat less than satisf as reflected in the recent change of names from *Corynebacterium equi* to *Rhodo equi* (Goodfellow, M. & Alderson, G. - J. Gen. Microbiol., 100:99-122, 1977). exists discrepancies in the literature as to the most important criteria a for laboratory identification of this organism. Although nitrate reduction ha suggested as a useful criteria (Multimer, M.D. & Woolcock, J.B. - Vet. Micro 6:331-338, 1981) for example, there seems to be both nitrate negative (Whi H.W. & Jones, L.P. - S. West Vet., 27:261-262, 1974) as well as nitrate po (Morse, E.V. - Cornell Vet., 40:49-55, 1950) strains. Similarly, various a have reported the occurence of both urease positive (Marsh, J.C. & von Graev A. - Cancer, 32:147-149, 1973) as well as urease negative strains (Whitford, Jones, L.P. - S. West Vet., 27:261-262, 1974). Also, depending on the metho used both hydrogen sulfide producing and non-producing *R. equi* have been des (Barton, M.D. & Hughes, K.L. - Vet. Bull., 50:65-80, 1980). Whether variations represent different biotypes or are reflective of the species fro the organism originated is not yet known.

The objective of this paper was to study biochemical and cultural character as well as synergistic hemolytic reactions of *R. equi* with beta toxin of *S.* and with the organisms *L. monocytogenes*, *C. pyogenes* and *C. pseudotuberculosi*

Bacterial strains of *R. equi* were isolated from three cases of omphalophlebitis, one case of bovine matitis, one case of ovine lymphadenit one case of caprine pneumonia. All bacterial strains were cultured in brain broth (Difco) and incubated aerobically at 37°C for 24 hours. Identification *equi* was based on morphological, cultural, biochemical and hemolytic syner reactions using standardized bacteriological procedures. The following bioch tests were performed as outlined by Carter (Carter, G.R. - Diagnostic procedu veterinary bacteriology and mycology, 4.ed., USA, Charles C. Thomas, chap 1984): catalase, oxidase, nitrate reduction, glucose oxidation, hydrogen s and indol production using sulfide indol motility medium, urease (Urea broth Oxoid or urea agar base-Difco, supplemented with filter sterilized urea solut a final concentration of 2%). Proteolytic activity was studied Loefflers'medium, casein agar and nutrient gelatin. Synergistic hemolytic rea were performed by streaking the suspect *R. equi* at right angles and throu following: beta toxin of *S. aureus*, or colonial streak growth of *L. monocyto C. pyogenes* and *C. pseudotuberculosis* on blood agar base containing 5 erytrocytes. Positive synergistic reactions were identified as areas of inc hemolytic activity (Fraser, G. - J. Path. Bact., 88:43-53, 1964).

Morphologically, all strains were Gram positive, nonmotile and cocc coccobacillus type organisms. Colonies of all strains were mucoid, coal nonhemolytic and developed a pink pigment. This pink pigment was esp observable when starch agar was used. Biochemically all strains were c positive, oxidase negative, and did not produce $H_2S$ and indol, lacked prot activity and failed to oxidize glucose. All four bovine strains were negative and urease positive. In contrast, the ovine and caprine strain nitrate positive and urease negative. All strains potentiated hemolysis prod the beta toxin of *S. aureus* as well as participated in synergistic hemolys *L. monocytogenes*, *C. pyogenes* and *C. pseudotuberculosis*.

Various authors have described considerable variations in the colonial mor of *R. equi*, which are thought to be due to either colonial dissociatio development of rough variants (Jensen, H.L. - Proc. Linn. Soc. N.S.W., 59 1964) or due to differences in culturing methods (Barton, M.D. & Hughes, Vet. Bull., 50:65-80, 1980). In the present study, we found colonial morpho be in accordance with the findings of Multimer & Woolcock (Multimer, Woolcock, J.B. - Vet. Microbiol., 6:331-338, 1981) who observed only colonial variations.

Biochemically, these strains reacted to those of the literature (Multimer, Woolcock, J.B. - Vet. Microbiol., 6:331-338, 1981), with several difference ovine and caprine strains were nitrate positive and all four bovine strai negative even after 15 days of incubation. These negative tests were confi attempts to reduce residual nitrate with zinc. Thus, similar

*otuberculosis* there seems to be nitrate positive as well as nitrate negative
ns. Some authors (Multimer, M.D. & Woolcock, J.B. - Vet. Microbiol.,
-338, 1981) suggested that nitrate reduction should be used as a major
:ia for the identification of *R. equi*. However, careful analysis of their work
ls strains of equine and non-equine origen which were nitrate negative.
ermore, nitrate reduction has been recorded by others to be variable (Jensen,
- Proc. Linn. Soc. N.S.W., 59:19-61, 1934) to negative (Woolcock, J.B. &
k, H.B. - Aust. Vet. J., 49:319, 1973).
:e also was a difference in the ability of these organisms to hydrolyse urea.
ls the four bovine strains were urease positive the ovine and caprine strains
legative. Again various authors have noted variability in the ability of R.
to hidrolyse urea (Natarajan, C. & Nilakantan, P.R. - Indian J. Anim. Sci.,
-333, 1974). Some authors have noted isolates which totally lacked the
y to hydrolyse urea (lacerda, J.P.G. & Veiga, S.M., USP, 6321-327, 1959),
s others reported isolates consistently positive for urease activity (Marsh,
von Graevenitz, A. - Cancer, 32:147-149, 1973).
nsistent finding with our *R. equi* isolates were their positive synergistic
tic reactions with beta toxin of *S. aureus* and with the organisms *C.*
*es*, *Listeria monocytogenes* and *C. pseudotuberculosis*. It should be noted that
so found positive synergistic hemolytic reactions with strains of *L.*
*togenes* that were not hemolytic alone.
ough the incidence of *R. equi* infection in cattle, ovine and caprine is
ly low the possibility of *R. equi* as a causative agent should not be
oked. Proper bacteriological criteria need to be developed to identify its
ce.

# LEPTOSPIRA BIFLEXA SOROTIPO RANARUM ISOLADO DE FETO ABORTADO DE EQÜINO

Paulo H. Yasuda

Deptº de Microbiologia
Instituto de Ciências Biomédicas USP
Caixa Postal 4365
01000 São Paulo SP, Brasil

Catherine R. Sulzer

FAO/WHO Collaborating Center for the Epidemiology of Leptospirose
Centers for Disease Control
Atlanta Ga., USA

Waldir Giorgi
& Margareth E. Genovez Soares

Instituto Biológico de São Paulo
Av. Cons. Rodrigues Alves, 1252
Caixa Postal 7119
01000 São Paulo SP, Brasil

**Summary**

***Leptospira biflexa serovar ranarum isolated from aborted equine foetus***

The isolation from an aborted equine foetus of serovar *ranarum*, belonging to the group of saprophytic leptospires is related. Probably this is the first isolation of this serovar from warm blood animal. Some taxonomic aspects of pathogenic and non pathogenic leptospires are discussed.

**Resumo**

É relatado o isolamento do sorotipo *ranarum*, pertencente ao grupo de leptospiras saprófitas, de feto abortado de eqüino. Provavelmente é o primeiro isolamento dessa variedade sorológica a partir de um animal de sangue quente. Aspectos taxonômicos entre leptospiras patogênicas e não patogênicas são discutidos.

## Introdução

A leptospirose eqüina tem merecido pouca atenção tanto no exterior como e (3, 4, 6, 11). Animais silvestres, suínos, bovinos e os cães têm sido objeto tudos mais intensivos e constantes. Dos raros levantamentos soro-epidemiol eqüinos, no Brasil, a prevalência é do sorotipo *pomona* (1, 9).

Na literatura, até 1973, são citados, nessa espécie, apenas 11 isolame leptospiras, todas elas patogênicas (4, 11). Em 1976, na Argentina, Myers lou, dos rins de 15 de 72 eqüinos abatidos em matadouro, três amostras patog 12 saprófitas. Pelo exposto, julgamos interessante relatar o isolamento do *ranarum*, não patogênico (5) de um feto abortado de eqüino.

Rev. Microbiol., São Paulo, 17(1):25-27, Jan./Mar. 1986.

a 1 - Resultados da soroaglutinação scópica da amostra 84-48008 com al-soros padrão da *Leptospira biflexa*

| Antissoros | Título homólogo | Título 84-48008 |
|---|---|---|
| *semaranga* | 6.400 | 800 |
| *patoc* | 1.600 | 800 |
| *São Paulo* | 6.400 | 1.600 |
| *ranarum* | 6.400 | 3.200 |
| *codice* | 1.600 | negativo |

## al e Métodos

**ento** - A leptospira foi isolada dos rins de feto eqüino, recém abortado, pro-e do Município de Diadema, São Paulo. A técnica empregada foi a da obtenção quenos fragmentos de tecido renal pela punção com uma pipeta tipo Pasteur e ior inoculação no meio de Fletcher (8).

**ficação sorológica** - A identificação foi feita no Laboratório de Leptospiro-o "Center for Disease Control", Atlanta, Ga. USA, tendo recebido o número 08 e seguiu a metodologia e critérios adotados e descritos por Sulzer & Jones

## ados

esultados da sorotipagem preliminar revelaram reações negativas contra os se-s antissoros padrão: *ballum*, *canicola*, *icterohaemorrhagiae*, *bataviae*, *grippo-a*, *pyrogenes*, *autumnalis*, *pomona*, *wolffi*, *australis*, *javanica*, *celledoni*, *an*, *borincana*, *cynopteri*, *tarassovi*, *andamana*, *butembo*, *panama* e *shermani*.
resultados indicavam que a amostra 84-48008 não apresentava relação antigê-com os sorotipos da espécie *Leptospira interrogans*, ou seja, com o grupo das piras consideradas patogênicas. Uma segunda bateria composta de soros padrão *biflexa*, não patogênicas, foi então utilizada (Tabela 1).
a sorotipagem preliminar a amostra 84-48008 foi submetida à absorção cruzada ıtininas. Este teste revelou que a amostra tipada era semelhante ao sorotipo n, ou seja, somente contra o *ranarum* a reação se comportou dentro dos crité-ıe definem os sorotipos de leptospiras (12). Apresentamos na Tabela 2 os re-os dessa reação.

## ão

mente a família Leptospiraceae está constituída por apenas duas espécies: *L. gans*, com 172 sorotipos patogênicos, distribuídos em 19 sorogrupos e a *L.* , com 65 sorotipos saprófitos, em 38 sorogrupos (5).

2 - Resultados da reação rção cruzada de aglutini-re a amostra 84-48008 e o o *ranarum*

| Antissoros | Tratados com | Antígenos | Título | % residual de aglutininas |
|---|---|---|---|---|
| 84-48008 | salina | 84-48008 | 6.400 | |
| 84-48008 | salina | *ranarum* | 12.800 | |
| *ranarum* | salina | *ranarum* | 12.800 | |
| *ranarum* | salina | 84-48008 | 3.200 | |
| 84-48008 | 84-48008 | 84-48008 | 100 | |
| 84-48008 | 84-48008 | *ranarum* | 200 | 3,12 |
| 84-48008 | *ranarum* | *ranarum* | 400 | 6,25 |
| 84-48008 | *ranarum* | 84-48008 | 400 | 6,25 |
| *ranarum* | *ranarum* | *ranarum* | 100 | |
| *ranarum* | *ranarum* | 84-48008 | 100 | 0,78 |
| *ranarum* | 84-48008 | 84-48008 | 100 | 0,78 |
| *ranarum* | 84-48008 | *ranarum* | 100 | 0,78 |

O sorotipo *ranarum*, ora isolado, está classificado como saprófito. Embora n
nhamos maiores informações a respeito do presente, como dados clínicos e so
cos da mãe e histopatológicos de feto, não é possível concluir que ele tenha
causa do abortamento. No entretanto, o simples encontro desse sorotipo nos
feto nos leva a questionar os critérios laboratoriais utilizados para caract
as leptospiras em patogênicas e saprófitas. Reforcemos com os dados apres
por Myers (7) que isolou 12 amostras saprófitas de eqüinos. Outros relatos
vendo leptospiras não patogênicas foram feitos como o isolamento do sorotip
*mana* de um caso humano, no Brasil (2) e de roedores, em Israel (10).

Um amplo estudo sobre a taxonomia de leptospiras, empregando a técnica de
dização de DNA, demonstrou como complexa é a família *Leptospiraceae* (P.H.
dados em publicação). Trabalhando com 38 sorotipos patogênicos, representati
19 sorogrupos, pode-se distinguir sete grupos genéticos. Dentro dos critério
tados na técnica de hibridização de DNA, cada um desses grupos genéticos pod
a se constituir em espécies diferentes de *L. interrogans*. Estudando, tambe
sorotipos de saprófitos, estes se distinguiram em seis outros grupos genétic
houve homologia de DNA entre as leptospiras patogênicas e saprófitas. Tais r
dos revelam, a nosso ver, a precariedade dos atuais critérios taxonômicos ap
às leptospiras e, também, que o grupo das saprófitas parece ser muito mais
xo, geneticamente, do que *L. interrogans*, pois oito sorotipos saprófitos f
seis grupos genéticos.

## Referências Bibliográficas


1. Cordeiro, F.; Ramos, A.A. & Batista Jr., J.A. - Aglutininas antileptosp soros de eqüinos de Minas Gerais. Pesq. Agrop. Bras. Ser. Vet., 9:45-48,
2. Correa, M.O.A.; Hyakukate, S.; Natale, V.; Tiriba, A.C. & Galvão, P. Leptospiroses humanas ainda não assinaladas no Brasil. Rev. Inst. Me São Paulo, 6:71-74, 1964.
3. Correa, M.O.A. & Mearim, A.B. - Leptospiroses no Brasil: leva bibliográfico de 1917 a 1970. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 31:87-101, 1971.
4. Galton, M.M., ed. - Leptospiral serotype distribution lists according and geographic area. Atlanta, Ga., U.S. Department of Health, Educati Welfare, Center for Disease Control, 1966.
5. Johnson, R.C. & Faine, S. - Family II - *Leptospiraceae*. In: - Bergey's of systematic bacteriology. Baltimore, Williams & Wilkins, 1984.
6. Mearim, A.B. & Correa, M.O.A. - Leptospiroses no Brasil: leva bibliográfico de 1971 a 1977. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 37:131-140, 1977.
7. Myers, D.M. - Serological studies and isolations of serotype har *Leptospira biflexa* strains from horses of Argentina. J. Clin. Mic 3:548-555, 1976.
8. Santa Rosa, C.A. - Diagnóstico laboratorial das leptospiroses. Rev. Mi (S. Paulo), 1:97-109, 1970.
9. Santa Rosa, C.A.; Castro, A.F.P.; Silva, A.S. & Teruya, J.M. - Nove leptospirose no Instituto Biológico de São Paulo. Rev. Inst. Adol 29/30:19-27, 1967/70.
10. Shenberg, E.; Lindenbaum, I.; Dikken, H. & Torten, M. - Isolatio saprophytic leptospiral serotype *andamana* from carrier rats in Israe Geogr. Med., 27:395-398, 1975.
11. Sulzer, C.R., ed. - Leptospiral serotype distribution lists according and geographic area: July 1966 to July 1973. U.S., Atlanta, Ga., Depar Health, Education and Welfare, Center for Disease Control, 1975.
12. Sulzer, C.R. & Jones, W.L. - Leptospirosis: methods in laboratory di U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Centers for Disease 1980.

# DMONAS AERUGINOSA COMO AGENTE CAUSAL DE ABCESSO EM NTE (BOTHROPS NEUWIEDI)

Calixto

de Venenos
:uto Butantan
ital Brasil, 1500
São Paulo SP, Brasil

Baldassi
:a A.P. Moulin
:io Hipolito

de Bacteriologia Animal
uto Biológico
nselheiro Rodrigues Alves, 1252
São Paulo SP, Brasil

ncia de abcesso bucal em serpente (*Bothrops neuwiedi*)
a em cativeiro, que servia como doadora de veneno,
o por Pseudomonas aeruginosa. O fenômeno patológico
cou-se após a manobra de extração do veneno, motivado
elmente, por solução de continuidade da mucosa oral,
da durante o manejo. É destacada a importância deste
bacteriano como causa de doenças em animais de sangue

*monas aeruginosa as a causal agent of snake abscess*

ence of mouth abscess in a captive brazilian snake
*ops neuwiedi*) used as a poison donator. The disease
ed after the poison extration, caused by an injury of
:al mucous membranes. The importance of this bacterium
thogen for cold blood animals is emphasized.

## ção

*omonas aeruginosa* já foi considerada como o mais frequente agente gram nega-
esente em serpentes portadoras de infecções na cavidade oral e interpretada
vasor oportunista (4).
ram relatadas manifestações clínicas variadas em processos patológicos re-
os em serpentes, especialmente estomatites, broncopneumonias, septicemias e
s de localização diversa (11). Dentre os agentes responsabilizados pelos au-
destaca-se *Pseudomonas aeruginosa*.
quérito anatomopatológico realizado no Brasil (2) há referência a alterações
neiras porções do aparelho digestivo verificadas em serpentes mantidas em
ro. Posteriormente (5), foi descrita uma epizootia que acometeu 70% de ser-
dos gêneros *Bothrops* e *Crotallus*, determinando uma estomatite com lesão in-
das glândulas venenígeras e levando à morte, considerável número de ani-

O presente trabalho relata o aparecimento de abcesso que se desenvolveu na m
oral de uma serpente macho, adulto, proteroglifa, *Bothrops neuwiedi*, na região
jacente à presa do veneno, após a manobra rotineira de extração do veneno. No
ço de tempo de 48hs, o abcesso atingiu grandes proporções, chegando a compro
todo o palato, a ponto de impedir que o animal pudesse fechar a fenda bucal.

## Material e Métodos

Coletou-se, com auxílio de zaragatoa esterelizada, amostra de pus fluido e i
ro, de tonalidade amarelo-esverdeada, que foi semeado em placas contendo ágar
gue e ágar Mac Conkey, as quais foram incubadas à 37°C por 24hs, em estufa bact
lógica.

Do crescimento obtido, após a incubação, foram preparados esfregaços de v
colônias, corados pelo método de Gram. Concomitantemente, repicou-se as col
para tubos contendo caldo simples, a partir dos quais, após incubações nas m
condições citadas, foram semeadas placas contendo ágar sangue e ágar cetrimide
la suspeita de tratar-se de *Pseudomonas* e, incubou-se a 37°C por 24hs.

A identificação da espécie foi feita pelos testes de produção de piocianina,
mentação de salicina, sacarose, xilose, maltose, lactose, manita, glicose e a
presença de urease, catalase e nitroredutase além da produção de indol utili
do citrato, ornitina e arginina.

## Resultados e Discussão

Observou-se crescimento e presença de coloração esverdeada nos tubos co
caldo simples, que se apresentou solúvel em clorofórmio. Verificou-se a preser
catalase e ausência de urease. O citrato, a ornitina e arginina, foram utiliz
Não houve produção de indol e o nitrato foi reduzido a nitrito com produção de

Diversos são os agentes bacterianos capazes de infringir danos a animais de
gue frio. De forma bastante frequente, a patogenicidade do gênero *Pseudomonas*
me aspectos de relevância, atingindo, não unicamente os répteis, mas também
igual frequência, os peixes, moluscos e crustáceos (3, 6, 7, 8, 12).

Paralelamente, compromete também outras espécies aquáticas, inclusive as de
gue quente, como mamíferos marinhos. Nestes últimos, destaca-se a celulite c
com características supurativas graves, ocorridas em lesões marinhas das ilha
lapagos (10). *Pseudomonas chlororaphis* foi citada como agente bacteriano de
importância na patologia do pescado (7).

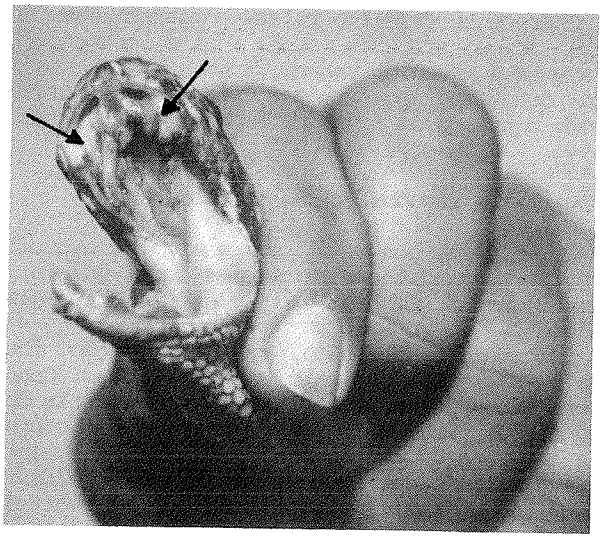
Entre algumas doenças comumente verificadas em enguias, crustáceos, peixe
salmonídeos criados em fazendas marinhas, foi destacada a presença de *Pseud*
(12), *Pseudomonas fluorenscens* e *Edwardsiella tarda*, foram isoladas de tilápi
adoeceram em criação de escala comercial (8).

Sem dúvida, o confinamento imposto aos animais criados em cativeiros, se
jardins zoológicos, serpenteários ou viveiros de finalidade exploratória come
favorece o surgimento de doenças, não só pelo simples confinamento e aglom
populacional, mas principalmente porque as novas condições de vida artificial
marcadamente modificadas quando comparadas aos ecossistemas existentes nos
tats" naturais para cada espécie.

Estes fatos já foram assinalados em patologias observadas em serpentes, com
taque para aspectos de "stress" ocasionados pelo cativeiro e pelo manejo int
a que são submetidos esses animais (2). Também foi assinalada que a simples
ção de temperatura de água, já representa uma influência decisiva no surgime
infecções não específicas em diversos tipos de peixes (3).

Considera-se que os representantes do gênero *Pseudomonas* podem ser encon
como componentes da flora normal da cavidade bucal de serpentes e que dev
considerados como agentes oportunistas (1, 4, 9). A epizootia (6) já descrita
re-se a animais de criadouros artificiais onde observou-se índices de morta
de até 100%. Entre os agentes causais e oportunistas *Pseudomonas fluorenscens*
miu papel de relevância (6).

ıra 1 – Aspecto da boca mos-
ıdo o aumento do volume no lo-
do abcesso



presente investigação eviden-
que o manejo periódico, duran-
ı extração do veneno, agiu como
ır desencadeante do processo
ccioso, visto que as lesões da
sa oral ocorreram com frequên-
após este tipo de manobra, es-
lecendo uma porta de entrada
numerosos agentes bacteria-
componentes habituais da flo-
ucal, entre os quais os do gê-
*Pseudomonas* têm papel desta-
.


**lecimentos**

autores agradecem ao Dr. Robert E. Weaver do "Center for Disease Control,
ıta, Georgia, US", pela confirmação do diagnóstico.


**ências Bibliográficas**


ndre, P.G.; Coney, D.A.; McGregor, D.; Roberts, R.J. & Young, H. – Acute aemorrhagic septicaemia in captive europeans ells (*Anguilla vulgaris*): a linical and parasitological study. Vet. Rec., 90:726-772, 1972.

elluomini, H.E.; Saliba, A.M. & Abe, S.A. – Inquérito anatomopatológico em erpentes dos gêneros *Crotalus* e *Bothrops* (serpentes, viperidae, crotalinae). em. Inst. Butantan, 40/41:123-12, 1976-1977.

isset, K.A. – The effect of temperature on non-specific infections of fish. J. ath. Bact., 58:251-258, 1960.

raper, C.S.; Walkert, R.D. & Lawer, H.R. – Patterns of oral bacterial nfections in captive snakes. J. Am. Vet. Med. Ass., 179:1223-1226, 1981.

ırlanetto, R.S.; Belluomini, H.F.; Iizuka, H. & Rosa, R.R. – Epizootis rovocada por um bacilo difteroide em serpentes mantidas em biotério. Rev. icrobiol. (S. Paulo), 10:139-143, 1979.

ıtti, R.; & Nigrelli, D.A. – Haemorrhagic septicaemia in cat fish: ıthogenicity of the strains isolated and reproducibility of the disease. ɔject Docum. Vet., 5:61-68, 1984.

ıtai, K.; Egusa, S.; Nakajima, M. & Chicahata, H. – *Pseudomonas chororaphis* as fish pathogen. Bull. Jap. Sec. Scien. Fish, 41:1203-1223, 1975.

ashita, T. – *Pseudomonas fluorenscens* and *Edwardsiella tarda* isolated from a ɛsiased tilapia. Fish Pathol., 19:45-50, 1984.

ıge, L.A. – Experimental ulcerative stomatitis in King snakes. Cornel Vet., :258-266, 1961.

ınd, C.S. – Nodular suppurative cutaneous cellulitis in a Galapago sea lion. Wildlife Dis., 11:325-329, 1975.

ıveri, T. – Observations of bacterial diseases of captive snakes in Filand. ırd Veter., 36:38-42, 1984.

ıuart, N.C. – Diseases or farmed fish non-salmonids including eels and ustaces. Vet. Rec., 112:150-153, 1983.

# DETECTION OF ANTITOXIN AGAINST THERMOLABILE (LT) ENTEROTOXIN OF ESCHERICHIA COLI IN PORCINE SERA, BY IMMUNE HAEMOLYSIS REACTIONS

Marlene Braide Serafim
Antonio F. Pestana de Castro
Isildinha A.G. Colli

Deptº de Microbiologia e Imunologia
Universidade Estadual de Campinas
Cidade Universitária
13100 Campinas SP, Brasil

& José R. Feitosa Brito

Centro Nacional de Pesquisas de Suínos e Aves
EMBRAPA
89700 Concórdia SC, Brasil

**Summary**

Samples of paired sera collected from 69 piglets of different litters were examined for the presence of *Escherichia coli* thermolabile (LT) enterotoxin antibodies by the passive immune haemolysis (PIH) and single radial immune haemolysis (SRIH) tests. Fifteen samples were negative in both tests whereas 47 did not show any increase in the LT-antitoxin levels. Seven paired sera presented some increase in the LT-antitoxin levels. The negative results obtained with 15 paired sera indicate a probable susceptibility of the respective piglets to infection by $LT^+$ *E. coli* strains. The decrease of LT-antitoxin levels in most samples of paired sera suggest that antitoxin has been transmitted to the piglets via colostrum. Our findings show that immune haemolysis reactions may be used to evaluate the *E. coli* anti-LT passive humoral immunity among young piglets.

**Resumo**

***Detecção de antitoxina contra a enterotoxina termo lábil (LT) de Escherichia coli em soro de suínos, através de reações de imuno hemólise***

Amostras de soros pareadas, coletadas de 69 leitões recém-nascidos, de diferentes leitegadas, foram examinadas quanto a presença de anticorpos anti-enterotoxina termolábil (LT) de *Escherichia coli*, pelos testes de imuno hemólise passiva (PIH) e imuno hemólise radial (SRIH). Quinze amostras foram negativas em ambos os testes enquanto 47 não mostraram nenhum aumento no nível de antitoxina LT. Sete amostras pareadas de soros apresentaram algum aumento no nível de anti-LT. Os resultados negativos obtidos com 15 soros pareados indicam uma provável susceptibilidade dos respectivos leitões a infecções por amostras de *E. coli* $LT^+$.

Rev. Microbiol., São Paulo, 17(1):31-38, Jan./Mar. 1986.

minuição nos níveis de antitoxina LT em muitas das ras de soros pareados sugere que esses anticorpos foram mitidos via colostro. Nosso achados mostram que as es de imuno hemólise podem ser usadas na avaliação da dade passiva humoral anti-LT de *E. coli* em suínos -nascidos.

## duction

ains of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) producing thermolabile (LT) otoxin are often involved as etiological agents of diarrhoea among pigs (7, 8, , 23).
eral experiments, using "in vivo" models, with respect to the challange of rn piglets from vaccinated and unvaccinated gilts with LT positive ETEC have rmed that protection of the offspring may be conferred by anti-LT (3) and K88 K99 (13) and 987P (16) antibodies received from their mothers. Also, mmune piglets develop specific antibodies against these virulence factors natural infection (15, 24).
ing these facts into consideration, it is obvious that the detection of LT odies in porcine paired sera should be extremely important not only as a means valuate the immune status of young newborn piglets as well as to make a spective diagnostic of colibacillosis by measuring serological conversion. As as anti-LT detection is concerned, techniques using tissue culture assays (12, nicrotiter radioimmunoassay (6) and neutralization of LT activity by the ileal assay (1, 18) have been often used. However, most of these tests are lesome and require special facilities. Therefore, simple serological tests for tion of LT antitoxin such as those based on immunohaemolysis reactions are ng and have not yet been tried before with porcine sera.
this paper, we present a comparison between the PIH and SRIH tests for the tion of LT antitoxin in samples of porcine paired sera.

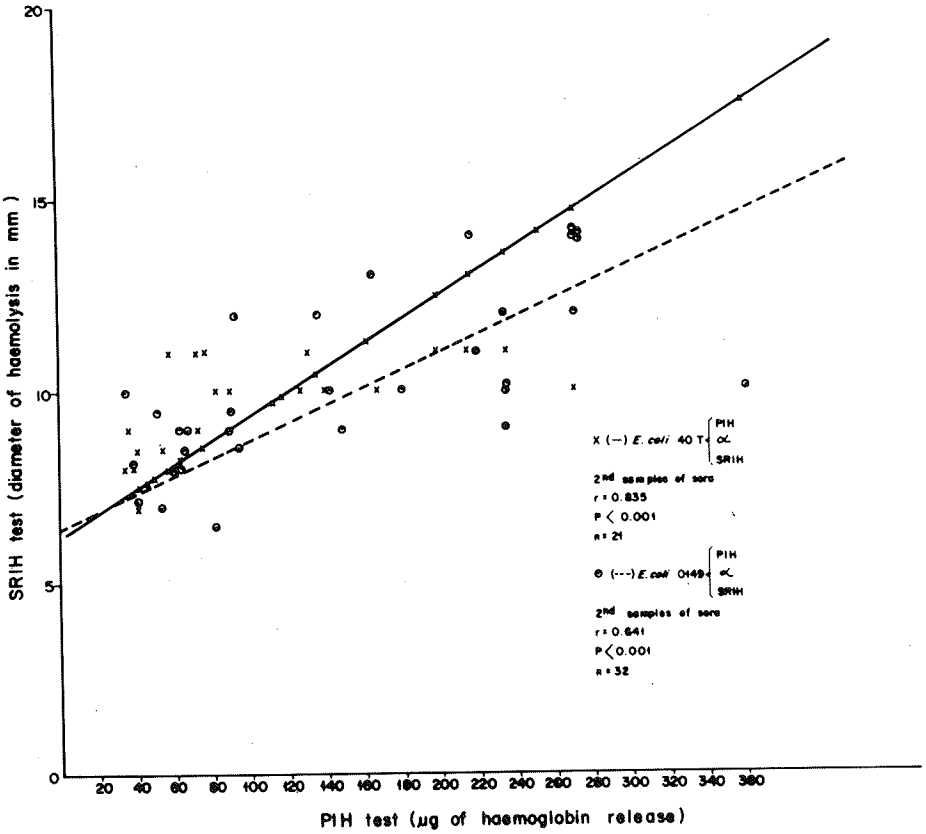
## .als and Methods

Samples of paired sera were collected from 69 piglets of different litters t evident diarrheal illness, taken from piggeries in the region of Concórdia, Brasil. The first (1st) samples of sera were collected around the 10th day birth and the second ones (2nd) 25 days later. After the addition of sodium (1:20000), the specimens were frozen and sent to our laboratory at Campinas,

***tion of sera*** - Samples of sera were diluted 1:4 in veronal buffered saline Ca and Mg ions (VBS) (2). After inactivation at 56°C for 30min, samples of ere exaustively absorbed with sheep red bloods cells (SRBC) (19).
the preparation of crude LT enterotoxin the following ETEC strains were used: ain *E. coli* 40T (human source) serotype O78:H12, $LT^+$, $STa^+$ (L.R. Trabulsi, Paulista de Medicina, SP, Brazil) and b. strain *E. coli* 0149/8 (porcine ), serotype 0149: H10, $LT^+$, $STa^+$ (David E.S.N. de Barcellos, Instituto de sas Veterinárias Desidério Finamor, Porto Alegre RS, Brazil). As a negative l ($LT^-$), *E. coli* K12 (Werner Maas, University of New York, U.S.A.) was used.

***ation of crude LT enterotoxin*** - For all immunoehaemolytic reactions only LT enterotoxin preparations were used. For this purpose, the two strains of nd *E. coli* K12 were grown in 10ml of casamino acids-yeast extract (CAYE) (4) in 125ml erlenmeyer flasks. These were incubated at 37°C, with shaking rpm for 18hr. To each flask 1.0ml of polymyxin solution (2.2mg/ml) in 0.04M ate buffered saline (PBS), pH 6.7, was then added and shaking continued for itional 15 min-period. Supernatants recovered after centrifugation at 12000xg min were considered as crude enterotoxin preparations for use in the hemolysis reactions for the detection of LT antitoxin (4).

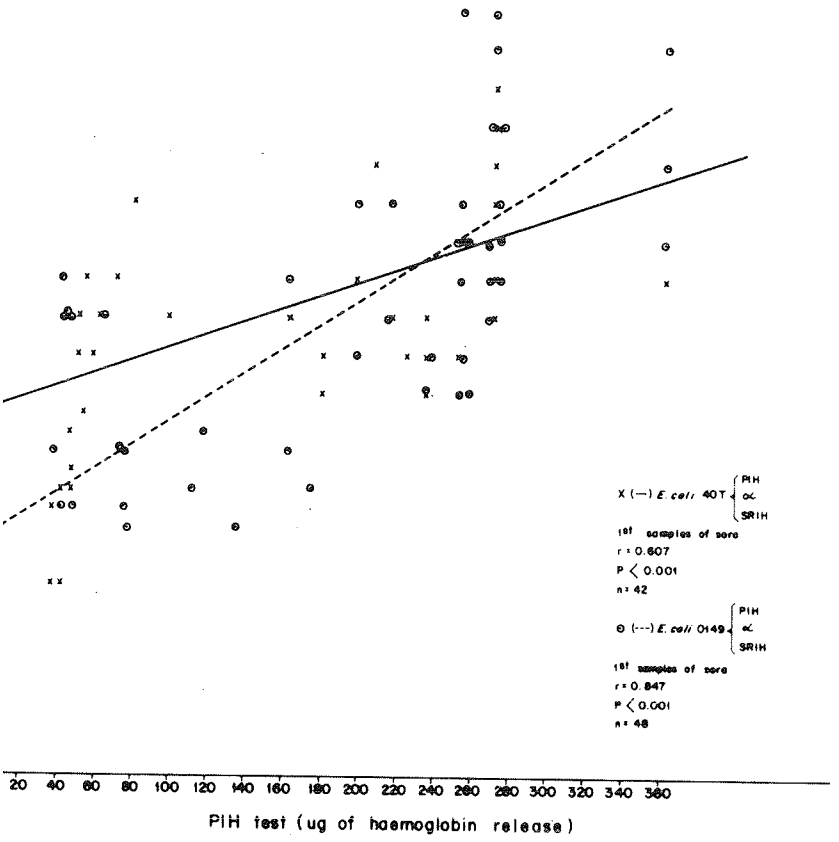
**Figure 1** - Correlation between the results of the first samples of paired sera from piglets, examined by the passive immune haemolysis and single radial immune haemolysis tests, carried out with SRBC sensitized by crude LT preparations from strains 40T (human origin) and 0149/8 (porcine origin)




*Passive immunehemolysis (PIH) test* - The performance of the PIH test was simi that previously described (2, 19).

Modifications were introduced to adapt the test for the detection antibodies instead of LT enterotoxin. Briefly, 100µl of standardized suspens SRBC (19) were mixed with equal amounts of crude LT⁻ enterotoxin prepa diluted 1:2 with VBS from either strains 40T or 0149/8, giving the complexes 40T and SRBC - 0149/8. Mixtures were placed at 37°C for 30min, washed twi then resuspended in 200µl of VBS. One hundred of ml absorbed sera, diluted added to the sensitized SRBC - 40T and SRBC - 0149/8 and incubation carried 37°C for 30min. Afterwards, 100µl of guinea-pig complement, diluted 1:10, wa to the tubes and incubation continued at the same temperature for 1hr. To ea 3.6ml of VBS was then added. After centrifugation at 2000xg for 10mi supernatants were carefully removed and the A420 values recorded. Any r giving A420 values <0.17 (>30mg of haemoglobin release) was considered p (4). SRBC were also treated similarly with polymyxin-release extracts from E K12 and served as a negative control for the reaction.

e 2 - Correlation between the results of the second samples of d sera from piglets, examined by the passive immune haemolysis and e radial immune haemolysis tests, carried out with SRBC sensitized rude LT preparations from strains 40T (human origin) and 0148/8 ine origin)




*radial immunehemolysis (SRIH) test* - In this test SRBC were also sensitized crude LT enterotoxin preparations of the known LT+ strains and extracts ed from *E. coli* K12. Samples of paired sera, after absorption with SRBC were d 1:4 with VBS and used in the reactions in place of the cholera antitoxin, cribed in the original paper (20). Briefly, to 0.5ml of 10% suspensions of SRBC, equal volumes of crude LT- enterotoxin preparations of either 40T - 40T) or 0149/8 (SRBC - 0149/8) were added. A similar procedure was adopted e sensitization of SRBC with *E. coli* K12 extracts.

ures were incubated in water-bath at 37°C for 15min and then centrifuged at for 30min. Then, pellets of the sensitized SRBC were ressuspended in 1ml of inal concentration of SRBC equal to 5%). Volumes of 0.3ml of each sensitized preparation were added to each tube (13 x 130) containing 2.7ml of molten e, diluted in VBS, at pH 7.4 giving a final concentration of 1%. The contents tubes were mixed vigorously, poured on to common glass microscope slides and oled. Two wells, A and B, 2.5cm apart and 5mm in diameter, were punched in C agarose. Special care was taken to make these wells along the longitudinal e of the microscope slide.

**Table** 1 - Number and respective percentage of positive and negative samples of paired sera for LT antitoxin as detected by the PIH and SRIH tests.
**Símbolos:** PIH test = Passive immune haemolysis test; SRIH test = Single radial immune haemolysis test; $X^2A = 10.12$ ($p<0.001$); $X^2B = 5.56$ ($p<0.01$); $X^2C = 1.93$ ($p>0.05$); $X^2D = 6.48$ ($p<0.05$)

| antigens | PIH test | | | | SRIH test | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1st samples of sera (A) | | 2nd samples of sera (B) | | 1st samples of sera (C) | | 2nd samples of sera (D) | |
| | +(%) | -(%) | +(%) | -(%) | +(%) | -(%) | +(%) | -(%) |
| 40T | 44(81.4) | 10(8.5) | 27(50) | 27(50) | 48(88.8) | 6(11.1) | 26(48.1) | 28(51.8) |
| 0149/8 | 53(98.1) | 1(1.85) | 38(70.3) | 16(29.6) | 51(94.4) | 3( 5.5) | 38(70.3) | 16(29.6) |
| Total | 97 | 11 | 65 | 43 | 99 | 9 | 64 | 44 |

Twenty-five microliters of the first sample serum under test was added to we and an equal volume of the 2nd sample of paired serum was added to well B. procedure was repeated for all paired sera under study. The slides were kept a for 24hr after which 2ml of guinea-pig sera, diluted 1:10 was pipetted ove surface of the gel.

The slides were incubated at 37°C in a wet chamber for 6hr. The exces complement was then removed and the diameter (in mm) of the haemolytic zone measured in two dimensions to the nearest 0.5mm. Any zone haemolysis around wells (5mm $\phi$) in the SRBC - agarose gel was considered as a positive reac unless non-hemolysis was obtained with the SRBC sensitized with extracts fro *coli* K12.

## Results

Fifteen (21.73%) of the 69 paired sera collected from piglets from the regio Concórdia SC, Brazil were negative in the PIH and SRIH tests carried out SRBC-40T and SRBC-0149/8. The remaining samples showed at least one pos reaction either in the PIH or SRIH tests (Table 1).

It may be observed that with most sera there was a considerable decrease in number of positive PIH and SRIH tests carried out with the second samples of Table 1 also shows that for the first and second samples of paired sera the re obtained in the PIH test carried out with SRBC-40T and SRBC-0149/8 considerably. Thus for first samples of sera $X^2=10.12$ ($p<0.001$) and for the ones $X^2=5.56$ ($p<0.01$) both being significant, suggesting that the results of test, when used for detecting anti-LT, were however dependent on the origin *E. coli* strain used to prepare the crude extracts for SRBC sensitization. R of the SRIH test were also dependent on the extracts used to sensitize SRBC examining the second samples of paired sera, i.e. $X^2=6.48$ ($p<0.05$). Ho results of the SRIH test carried out with the first samples of paired apparently were not influenced by the origin of sensitizing enterotoxin prepa ($X^2=1.93$, $p>0.05$).

The correlation between the results of the PIH and SRIH tests carried out the first samples of paired sera, SRBC-40T and SRBC-0149/8 is shown in Figure can be observed that there is a positive correlation when the same enterotoxin preparation was used to sensitize SRBC used in both tests. S results were observed for the PIH tests carried out with the second samp paired sera (Figure 2).

Table 2 shows the results obtained with 7 samples of paired sera whose rea with the second samples presented either some increase of the haemoglobin r or of the diameter of haemolysis in relation to the respective PIH and SRIH performed with the first samples of sera.

**: 2** – Results of the PIH an SRIH test, with paired sera
ı showed an increase in the amount (µg) of haemoglobin
ıse (PIH test) and/or in the diameter (mm) of haemolysis
H) test, between the 2nd and 1st samples of sera.
**ıls:** PIH = Passive immune haemolysis; SRIH = Single radial
ıe haemolysis; * = µg of haemoglobin release in the PIH
** = Diameter of haemolysis in the single radial immune
ɔlysis test

| PIH test | | | | SRIH test | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1st samples | | 2nd samples | | 1st samples | | 2nd samples | |
| 40T | 0149 | 40T | 0149 | 40T | 0149 | 40T | 0149 |
| – | 41.44* | 108.10 | 68.46 | – | – | – | 9 |
| 198.19 | 198.19 | 126.12 | 243.23 | 13** | 15 | 10 | 10 |
| – | 55.85 | – | 93.69 | – | – | 8 | 8.5 |
| 36.03 | 37.83 | – | 44.09 | 7 | 8.5 | – | – |
| 162.16 | 257.25 | 270.27 | 270.27 | 12 | 14 | 10 | 14 |
| 216.21 | 252.25 | 90.09 | 270.27 | 16 | 20 | 10 | 14 |
| 41.44 | 61.26 | – | 90.09 | – | – | – | 9.5 |

## ssion

h most samples of paired sera examined both the PIH and SRIH tests revealed a
d decrease of either the haemoglobin release or the diameter of haemolysis,
ctively. This fact suggests that most LT antitoxin detected in the samples of
d sera was not probably due to active infection by LT+ *E. coli*. It is likely
such LT antitoxin levels present in the sera tested had been transmited to the
ts through the ingestion of the colostrum of their respective dams.
iments in Concórdia, SC, Brazil (unpublished data), demonstrated that most
of porcine colibacillosis were caused by ETEC producing only STa enterotoxin.
ew paired sera (Table 2) showed a slight increase in the LT antitoxin as
ted by the assays used, but this was not sufficiently high to characterize a
l serological conversion as would be expected in cases of active
acillosis caused by LT+ *E. coli* strains.
ɔ-0149/8 (Table 1) independent of the sera and test considered, was much more
tive for the detection of LT-antitoxin in porcine sera than SRBC-40T. The
sion of the latter strain (40T) of human origin to sensitize SRBC for use in
assay was to show that, despite using crude LT preparations for SRBC, the
hemolytic reactions were specific for LT antitoxin. This specificity was
ɔrced by the fact that none of the paired sera showed positive reactions with
sensitized with crude preparations from the non-enterotoxigenic *E. coli* K12
ı. A higher number of positive PIH and SRIH tests carried out with SRBC-0149/8
ne origin) in relation to SRBC-40T (human origin) can probably be explained
ɛigenic differences which have been recently demonstrated between, human and
ıe preparations of purified LT (5, 10, 11).
ılts obtained with the first samples of sera (Figure 1) as well as those with
respective second ones (Figure 2) show a significant positive correlation
ın the results of the tests. Therefore it would be possible to use either one.
natter of fact, this conclusion could already be drawn from Table 1.
ɔnclusion, tests can be extremely useful to evaluate the passive protection
ung piglets conferred by the colostrum received from their dams, either
zed with LT- enterotoxin vaccines or by previously natural infection with LT+
*i* strains. In the present investigation 15 (21.73%) of the paired sera showed
ectable LT antitoxin, whatever the test used, suggesting that unless these
s, had had K88 antibodies in their sera, they were probably unprotected
t colibacillosis caused by LT+ strains of *E. coli*.

Otherwise, both immunehaemolytic reactions can be useful tools to retrospective diagnosis of porcine colibacillosis caused by LT+ *E. coli*. that the SRIH test, as demonstrated in this paper, may be recommended simplicity, reproducibility and sensitivity.

**Acknowlegdements**

This work was supported by grants from Conselho Nacional de Desenvo Científico e Tecnológico (CNPq) and Financiadora de Estudos e Projetos (FIN authors are indebted to Dr. Ladaslav Sodek for his critical revie manuscript.

**References**

1. Anrén, C.M. & Svennerholm, A.L. - Synergestic protective effect of ar against *Escherichia coli* enterotoxin and colonization factors antigens. Immun., 38:74-79, 1982.
2. Castro, A.F.P. de; Serafim, M.B.; Gomes, J.A. & Gatti, M.S.V. - Improve the passive immune hemolysis test for assaying enterotoxigenic *Esc coli*. Jour. Clin. Microbiol., 12:714-717, 1980.
3. Dorner, F.; Mayer, P. & Leskova, R. - Immunity to *Escherichia coli* in the role of colostral antibodies directed against heat-labile enterc experimental neonatal diarrhea. Zentralbl Veterinaermed, 27:207-221, 19
4. Evans Jr., D.J. & Evans, D.G. - Direct serological assay for the hea enterotoxin of *Escherichia coli* using passive immune hemolysis. Infect. 16:604-609, 1977.
5. Geary, S.J.; Marchlewicz, B.A. & Finkelstein, R.L. - Comparison of hea enterotoxins from porcine and human strains of *Escherichia coli*. Infec. 36:215-220, 1982.
6. Greenberg, H.B.; Levine, M.M.; Merson, M.H.; Sack, R.B.; Sack, D.A.; Va J.R.; Nalim, D.; Hoover, D.; Chanock, R.M. & Kapikian, A.Z. - Sc microtiter radioimmunoassay blocking test for detection of antil *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin. Jour. Clin. Microbiol., 1979.
7. Gyles, C.L. & Barnun, D.A. - A heat-labile enterotoxin from st *Escherichia coli* enteropathogenic for pigs. Jour. Infect. Dis., 120 1969.
8. Gyles, C.L. - Discussion: heat-labile and heat-stable forms of the en from *Escherichia coli* strains enteropathogenic for pigs. Ann. N.Y. Ac 176:314-322, 1971.
9. Gyles, C.L. - The enterotoxin plasmids of *Escherichia coli*. Jour. Infe 130:40-49, 1974.
10. Honda, T.; Takeda, Y. & Miwatani, I. - Isolation of special antibodi react only with homologous enterotoxins from *Vibrio chol* enterotoxigenic *Escherichia coli*. Infect. Immun., 34:333-336, 1981.
11. Honda, T.; Tsuji, T.; Takeda, T. & Miwatani, T. - Immunological nonide heat-labile enterotoxins from human and porcine enterotoxigenic *Es coli*. Infect. Immun., 34:337-340, 1981.
12. Klipstein, F.A.; Engert, R.F. & Clements, J.D. - Development of a va cross-linked ST-LT that protects against *Escherichia coli* heat-l heat-stable enterotoxins. Infect. Immun., 37:550-557, 1982.
13. Moon, H.W.; Nagy, B.; Issacson, R.E. & Orskov, I.C. - Occurrence of K9 on *Escherichia coli* isolated from pigs and colonization of pig ileum enterotoxigenic *E. coli* from calves and pigs. Infect. Immun., 15:614-6
14. Moon, H.W.; Kohler, E.M.; Schneider, R.A. & Whipp, S.C. - Prevalence c antigens, enterotoxins types and enteropathogenicity among K88 enterotoxigenic *Escherichia coli* from neonatal pigs. Infect. 27:222-230, 1980.

gan, R.L.; Isaacson, R.E.; Moon, H.W.; Brinton, C.E. & To, C.C. - unization of suckling pigs against enterotoxigenic *Escherichia coli* induced rrheal disease by vaccination dams with purified 987P or K99 pili: tection correlates with pilus homology of vaccine and challange. Infect. m., 22:771-777, 1978.

/, B.H.; Moon, H.W.; Isaacson, R.E.; To, C.E. & Brinton, C.E. - Immunization suckling pigs against enteric enterotoxigenic *Escherichia coli* infection by inating dams with purified pili. Infect. Immun., 21:269-274, 1978.

/, L.K.; Mackenzie, T. & Bharucha, Z. - In vitro studies an the imicrobial effects of colostrum and milk from vaccinated and unvaccinated s on *Escherichia coli*. Res. Vet. Sc., 21:132-140, 1976.

:, R.B.; Jacobs, B. & Mitra, R. - Antitoxin responses to infection with erotoxigenic *Escherichia coli*. Jour. Infect. Dis., 129:330-335, 1974.

ıfim, M.B.; Castro, A.F.P. de; Reis, M.H.L. dos & Trabulsi, L.R. - Passive me hemolysis for the detection of heat-labile enterotoxin produced by ierichia coli. Infect. Immun., 24:606-610, 1979.

ıfim, M.B.; Castro, A.F.P. de; Leonardo, M.B. & Monteiro, A.R. - Single al immune hemolysis test for detection of *Escherichia coli* thermolabile rotoxin. Jour. Clin. Microbiol., 14:473-478, 1981.

es, M.O.; Castro, A.F.P. de; Serafim, M.B. & Portugal, M.A.S.C. - Produção enterotoxinas e resistência a drogas em colibacilos isolados de suínos com réia. Rev. Microbiol. (São Paulo), 13:135-142, 1982.

h, H.W. & Gyles, C.L. - The relationship between two apparently different rotoxins produced by enteropathogenic strains of *Escherichia coli* of ine origin. Jour. Med. Microbiol., 3:387-401, 1970.

h, H.W. - Neonatal *Escherichia coli* infections in domestic mamals: smissibility of pathogenic characteristics. Ciba Foundation Symposium,

p, S.C. & Donta, S.T. - Serum antibody to *Escherichia coli* heat-labile rotoxin in cattle and swine. Amer. Jour. Vet. Res., 37:905-906, 1976.

# VIABILIDAD Y MULTIPLICACIÓN DE LISTERIA MONOCYTOGENES CEPA MURRAY FRENTE A ANTIMICROBIANOS DE USO EN MEDIOS SELECTIVOS

Alba Ester Sargoni
Mirta Aurora Franco
Ramón Alberto de Torres

Deptº de Microbiología e Inmunología
Orientación Microbiología
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Universidad de Buenos Aires
Junín 956-4º Piso
1113 Capital Federal
Argentina

**Resumen**

Se han efectuado estudios comparativos de velocidad de crecimiento, cosecha máxima y duración de la fase de adaptación de poblaciones de *Listeria monocytogenes* (CCMA 29454, ATCC 15313) a 37ºC, en medios de cultivo líquidos conteniendo concentraciones variables de antimicrobianos con diferente espectro de acción. Concentraciones de 160µg/ml de ácido nalidíxico, 80µg/ml de ácido pipemídico, 40µg/ml de ácido oxolínico, 0.8U/ml de bacitracina y 200U/ml de nistatina, constituyen límites confiables que permiten la sobrevivencia y multiplicación de *Listeria monocytogenes* y ejercen una importante acción inhibitoria sobre el crecimiento de gran parte de la flora habitual de materiales normalmente sépticos. Es de importancia la potencial capacidad selectiva de diversas asociaciones de los agentes ensayados en la formulación de medios de cultivo destinados a un enriquecimiento de *Listeria monocytogenes*, que posibilite su aislamiento a partir de cultivos mixtos.

**Summary**

***Effects of antimicrobial agents of potential utilization in selective media on viability and growth rate of Listeria monocytogenes***

Kinetics of growth of *Listeria monocytogenes* were stablished at 37ºC in liquid culture media with and without several concentrations of antimicrobial agents which were selected by having a wide range of antibacterial activity. Results indicated that 160µg/ml of nalidixic acid; 80µg/ml of pipemidic acid; 40µg ml of oxolinic acid; 0,8U/ml of bacitracin or 200U/ml of nystatin represented confiable upper limits that allow *L. monocytogenes* 29CCM-454 to survive and grow. All the antimicrobials tested showed an important inhibitory action on most of the accompanyng flora present in normally septic samples. It is remarkable the potential selective ability of different associations of the tested agents for construction of a culture media to be used for *L. monocytogenes* enrichment in order to attain its isolation from mixed flora.

Rev. Microbiol., São Paulo, 17(1):39-46, Jan./Mar. 1986.

## ıuccion

ifícil determinar la incidencia y/o prevalencia real de la infección con *Lis-monocytogenes* tanto en humanos como en patología animal, dada la dificultad stablecer un diagnóstico de certeza.
ruebas serológicas se producen reacciones cruzadas con diversas bacterias, palmente *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* grupos B y C, *Streptococcus vi-* y algunas especies de *Corynebacterium* (1). Además, no existe una metodología ɔbada eficiencia para el aislamiento selectivo de *Listeria monocytogenes* a de materiales biológicos normalmente sépticos. Los esquemas propuestos se ɛn el enriquecimiento a 4ºC (7, 9), el empleo de agentes químicos inhibidores flora Gram negativa (18) o la combinación de ambos tratamientos (16), seguir el aislamiento en medios gelificados complejos y/o selectivos.
ɛes selectivos tales como telurito de potasio, ácido acético, azida sódica derivados de la furacina (19), feniletanol, glicina y cloruro de litio (2) ılo utilizados como constituyentes de medios selectivos con éxito relativo y ɔ se ha instituído en forma concreta como técnica índice. También fueron em- ; quimioantibióticos como penicilinas, cloranfenicol (14, 20), polimixina B ácido nalidíxico (3).
. presente trabajo se compara el crecimiento de *Listeria monocytogenes* cepa 53-XXIII (cepa tipo) en diferentes condiciones nutricionales y se estudia la ıcia que ejercen concentraciones variables de inhibidores químicos con dife- espectro de acción sobre dicho crecimiento. Los agentes probados, inhibido- ɛ bacterias Gram negativas, fueron: ácido nalidíxico, ácido oxolínico y ácido lico. El estudio incluye además, bacitracina y nistatina, compuestos activos bacterias Gram positivas y hongos, respectivamente.

## les y Metodos

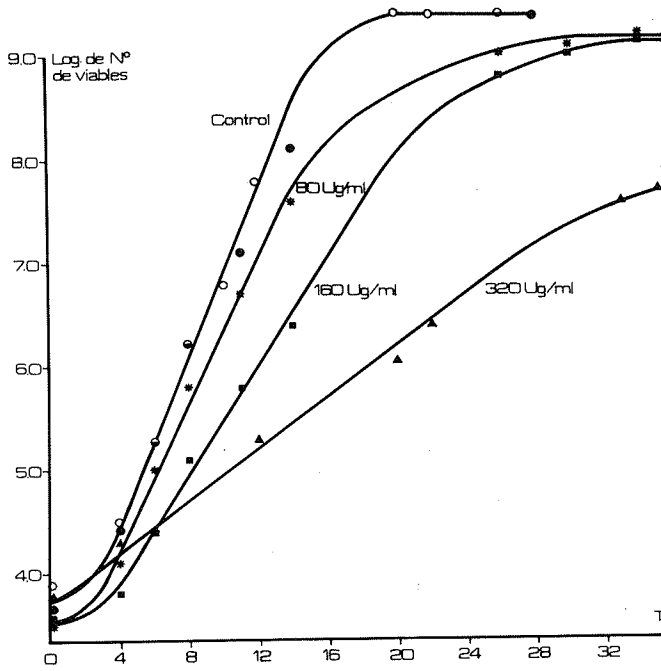
***cteriana*** - *Listeria monocytogenes* cepa Murray 53-XXIII (CCMA 29454, ATCC NCTC 10357), considerada cepa tipo, conservada mediante pasajes en agar base conteniendo 0.2% de glucosa.
la preparación de inóculos se efectuaron cultivos estáticos de 10-12 horas bación a 35ºC, en caldo triptosa fosfato.

***de cultivo*** - Los medios líquidos complejos probados fueron: caldo eugon ia), caldo dextrosa (Britania), caldo tripteína soja (Britania) y caldo a fosfato (Difco).
efectuar el recuento de unidades formadoras de colonias se empléo agar base (Britania) adicionado con 0.2% de glucosa.

***químicos*** - Los agentes químicos empleados fueron: ácido nalidíxico (Farma- Argentina S.A.), ácido oxolínico (Argentia SACIFY), ácido pipemídico (Vol- CI), bacitracina zinc (John Wyeth S.A.) y nistatina (Merck Sharp y Dohme). ɔmento de ser usadas se prepararon soluciones de cada droga de las seguintes raciones: ácido nalidíxico: 20mg/ml, ácido oxolínico: 20mg/ml y ácido pipemí- l6mg/ml, todas ellas en NaOH 0.1N; bacitracina zinc: 80U/ml en HCl 0.1N y ıa: 10000U/ml en dimetilsufóxido.

***le crecimiento*** - Se utilizaron frascos de 250ml de capacidad conteniendo ɛ caldo triptosa fosfato. Para lograr las concentraciones finales de antimi- ɔs indicadas en cada experiencia, se incorporaron asépticamente volúmenes ɔs de cada una de las soluciones de los agentes químicos, previamente este- ıs por filtración. Los medios de cultivo así preparados fueron inoculados ɔximadamente $1 \times 10^4$ bacterias/ml e incubados en forma estática en baño de 37ºC ± 0.2. A diferente tiempos, durante la incubación, se retiraron alí- y se cuantificaron las unidades formadoras de colonias (UFC/ml). Todas las cias se efectuaron por duplicado y los valores expresados representan los ıs de los valores individuales.

**Figura 1** - Efecto de diferentes concentraciones de ácido nalidíxico sobre el crecimiento de *Listeria monocytogenes* cepa Murray en caldo triptosa fosfato a 37°C.
**Símbolos:** -o- = Control correspondiente a acido nalidíxico 320µg/ml; -●- = Control correspondiente a ácido nalidíxico 80 y 160µg/ml




***Cuantificación de UFC/ml*** - Se efectuaron diluciones adecuadas de los culti solución salina (NaCl 0.85%), las que fueron diseminadas, por triplicado agar base sangre conteniendo 0.2% de glucosa. Al cabo de 48 horas de incuba 35°C, se contaron las colonias macroscopicamente visibles y se calcula UFC/ml.

**Resultados**

***Elección del medio de mayor eficiencia en el crecimiento de Listeria monoc*** - El análisis comparativo de la evolución de las observancias de cultivos d *nocytogenes* en caldo dextrosa, caldo eugon, caldo tripteína soja y caldo fosfato (datos no presentados), no reveló diferencias significativas respec tiempos de duplicación de la masa bacteriana. Sin embargo la absorbancia correspondiente a la fase estacionaria temprana fue mayor en los cultivos triptosa fosfato (CTP). Este medio de cultivo fue seleccionado para los est influencia de agentes antimicrobianos sobre el crecimiento de *L. monocytog* fase líquida.

***Efecto de ácido nalidíxico, ácido oxolínico y ácido pipemídico sobre la cin crecimiento de Listeria monocytogenes*** - Se realizaron cultivos de *L. monoc* a 37°C en CTP, conteniendo concentraciones finales de 20, 40 y 80µg/ml oxolínico; 80, 160 y 320µg/ml de ácido nalidíxico y 40, 80 y 160µg/ml de ác pemídico. Paralelamente, se efectuaron cultivos en ausencia de antimicro controles del diluyente respectivo.

Los resultados obtenidos se grafican en las Figuras 1, 2 y 3.

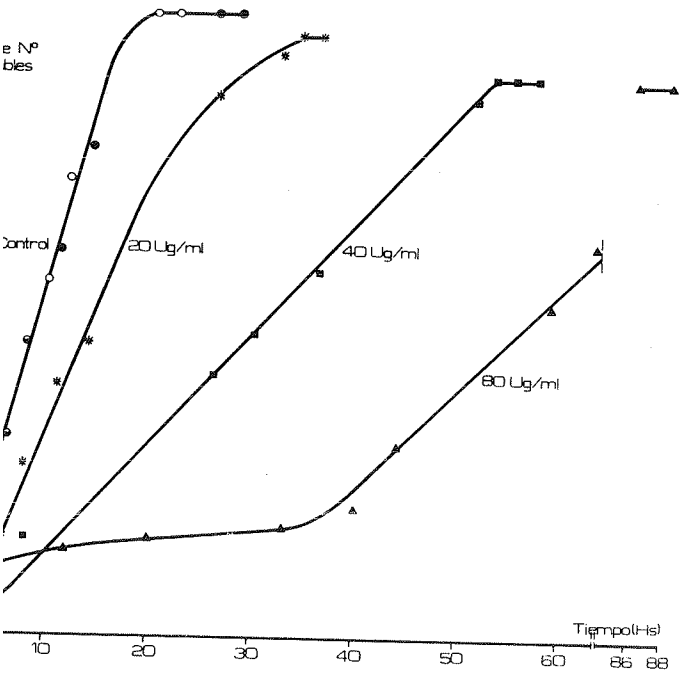
De ellas surge que:

1. El NaOH en las concentraciones presentes no modifica el crecimiento.
2. El aumento de las concentraciones de cualquiera de los compuestos probad duce una disminución significativa de la velocidad máxima de crecimiento y gamiento de la fase de adaptación, que resultan en un aumento del tiempo ne para alcanzar la cosecha máxima. La velocidad de crecimiento es afectada si tivamente por concentraciones mayores que 80µg/ml de ácido pipemídico, 320

nalidíxico y 40µg/ml de ácido oxolínico. Además, con concentraciones de ml de ácido oxolínico y 160µg/ml de ácido pipemídico se observa una prolongada de latencia. Luego de 48 horas de incubación, medios conteniendo 160mg/ml de nalidíxico, 80µg/ml de ácido pipemídico y 40µg/ml de ácido oxolínico permiten er una cosecha máxima similar a la de los controles respectivos. Concentracio- ayores, si bien permiten un crecimiento significativo de *L. monocytogenes* re- en tiempos mayores para alcanzar el valor máximo del control. Así, la cosecha se alcanza alrededor de las 65 horas con concentraciones de 320µg/ml de ácilidíxico y 160µg/ml de ácido pipemídico y se requieren incubaciones de hasta as con concentraciones de 80µg/ml de ácido oxolínico.

***de bacitracina*** - Se ensayaron concentraciones de 0.8 y 1.6 U/ml de bacitraen CTP a 37ºC. Se efectuaron controles en ausencia del antimicrobiano con y diluyente empleado.
os resultados obtenidos, que se grafican en la Figura 4, surge que el die empleado no afecta el crecimiento de *L. monocytogenes*.
acitracina en las concentraciones probadas afecta significativamente la velode crecimiento de *L. monocytogenes* y en concentración de 1,6U/ml se observa , una prolongada fase de latencia (22 horas aproximadamente).
s 48 horas, con 0,8U/ml de bacitracina se alcanza una cosecha máxima prácti- similar a la del control respectivo, mientras que con concentraciones de l se requieren aproximadamente 56 horas.

2 - Efecto de diferentes concentraciones de ácido co sobre el crecimiento de *Listeria monocytogenes* ceay en caldo triptosa fosfato a 37ºC.
s: -o- = Control correspondiente a ácido oxolínico ; -●- = Control correspondiente a ácido oxolínico 20 ml



*Efecto de nistatina* - Las concentraciones ensayadas fueron de 50, 100 y 200U
CTP a 37°C.

Los resultados obtenidos muestran que no existen diferencias en la velocí
crecimiento (tiempo de generación: 50min.), duración de la fase de latencia
ras) y cosecha máxima ($1x10^9$ bacterias/ml) alcanzada por cultivos de *L. mono*
*nes*, entre el control conteniendo CTP y aquellos frascos conteniendo el so
dimetilsulfóxido, y las diferentes concentraciones de la droga (50, 100 y 20

*Nota* - Resultados previos, no presentados, permiten señalar que la recuperac
UFC aplicada al recuento posterior de bacterias viables, no es afectada
concentraciones residuales de los diferentes agentes químicos ensayados.

## Discusión

Ha sido demostrado que la recuperación de UFC de *Listeria monocytogenes* a
de cultivos mixtos, se ve afectada por otras especies bacterianas (12). Se
probado la inhibición del crecimiento de *Listeria monocytogenes* por especies
*cillus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Penicillium* y *Aspergillu*
Estas observaciones han sugerido que el aislamiento de *Listeria monocyt*
partir de materiales normalmente sépticos debe intentarse generando condici
lectivas favorables para su crecimiento.

La metodología propuesta por Gray para diagnóstico de Listeriosis emplea
de incubación a 4°C de 3 meses como mínimo mientras que el "Second Inter
Symposium on Listeric Infection" (8) recomienda 6 meses, antes de descarta
sibilidad de presencia de *Listeria monocytogenes* en un material biológico.

El prolongado tiempo de incubación requerido, asigna al diagnóstico por
miento una significación estrictamente epidemiológica, de escaso valor en
assistencial. Otro problema radica en que muchos microorganismos como
*Pseudomonas*, *enterococos*, etc, que formam parte de la flora habitual acom
también se multiplican a 4°C. De aquí surge la importancia del empleo de me
cultivo conteniendo agentes selectivos químicos utilizables a 37°C que, a
mostrar un espectro inhibitorio adecuado, no afectan en grado importante la
ración de *Listeria monocytogenes* y permitan la misma, luego de un corto ti
incubación (2, 3, 4, 10, 14, 19).

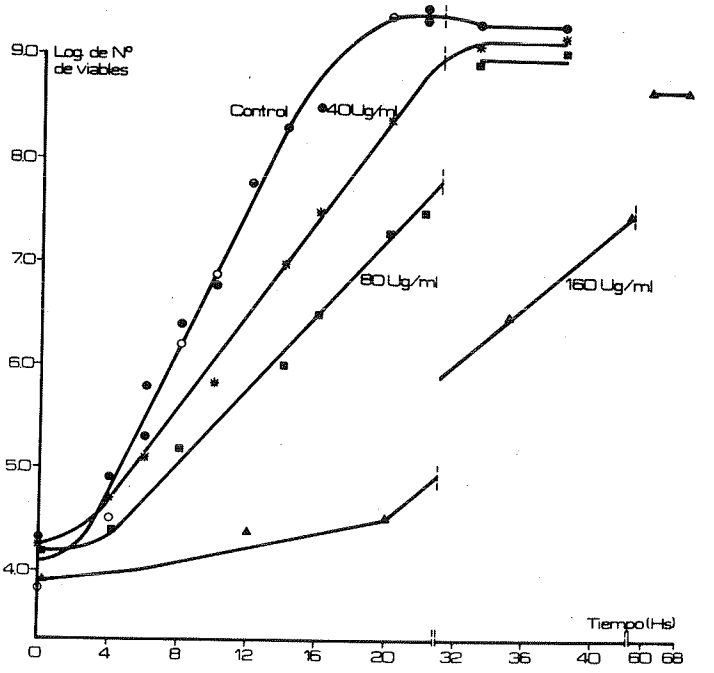
En caldo triptosa fosfato conteniendo 80µg/ml de ácido oxolínico, 160µ
ácido pipemídico ó 1,6U/ml de bacitracina incubados a 37°C, se observa una
gada fase de latencia pero que permite, alrededor de las 72 horas, la recu
de una cosecha máxima similar a los controles. Esto podría deberse a difere
susceptibilidad entre células de la población original ó a inactivación del
crobiano en cuestión. Independientemente del mecanismo ejercido, estas co
ciones presentan un margen muy aceptable de inhibición diferenciada contr
acompañante.

Es de interés, antes de proponer la formulación de un medio selectivo ut
en forma individual o combinada los antimicrobianos estudiados en este trab
tener ventaja de los resultados obtenidos por diversos autores. Estos info
bre la capacidad inhibitoria de estos antimicrobianos en concentraciones es
das sobre especies potencialmente acompañantes de *Listeria monocytogenes* e
riales sépticos destinados a aislamiento o que sirven de indicadores. De es
se puede establecer una expectativa potencial de su utilización en un medi
tivo cuando concentraciones inhibitorias para diversas bacterias son infer
aquéllas que hemos demostrado en esta comunicación permiten márgenes muy ac
de viabilidad y crecimiento de *L. monocytogenes*.

Así 80µg/ml de ácido nalidíxico, ejercén efecto bactericida sobre bacil
negativos (*Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Enterobacter aerogenes*, *S*
*typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Proteus* spp., *Proteus mirabilis*, *Yersinia*
*litica* y *Acinetobacter*) y algunos cocos gram positivos (*Streptococcus*
*Streptococcus agalactiae*). Concentraciones de 160µg/ml inhiben además el cr
to de *Pseudomonas aeruginosa* (5, 6).

3 - Efecto de dife- concentraciones de pipemídico sobre el iento de *Listeria mo- genes* cepa Murray en triptosa fosfato a

os: -o- = Control pondiente a ácido pi- co 160µg/ml; -●- = l correspondiente a pipemídico 40 y l




'ml de ácido oxolínico inhiben *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus*, *Strepto-* (tipo fecal) y *Pseudomonas aeruginosa* (17).

'ml de ácido pipemídico ejercen acción bactericida sobre bacterias gram nega- [*Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Proteus* (todas las espe- *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria meningitidis*, *Haemop- influenzae*, *Versinia enterocolitica* y *Pasteurella*) y bacterias gram positivas us *subtilis*, *Staphylococcus aureus*'. 160µg/ml de ácido pipemídico ejercen un efecto inhibitorio sobre *E. rhusiopathiae*, *Streptococcus hemolyticus* y coccus *pneumoniae* (21, 22).

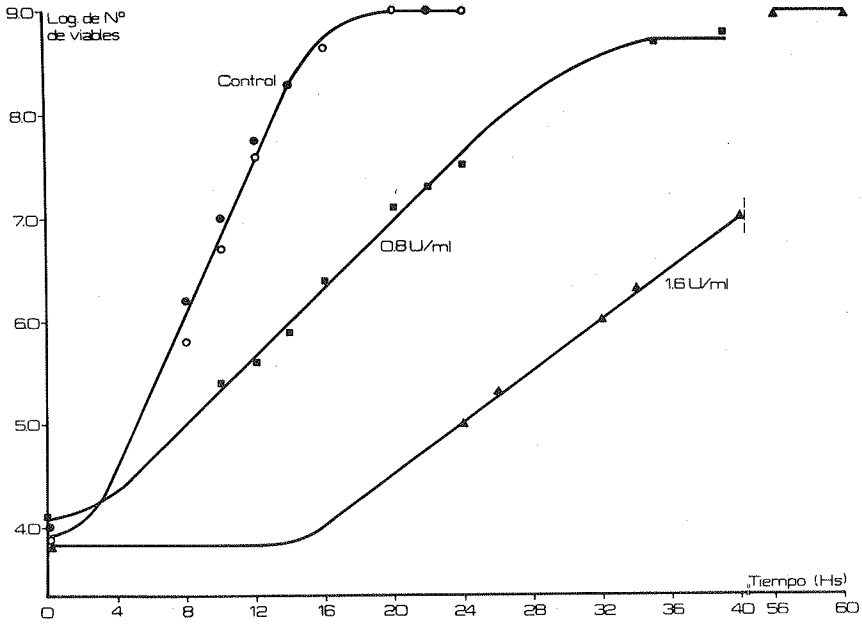
ml de bacitracina, ejercen un efecto bactericida sobre diversos cocos y ba- gram positivos, *Neisseria*, *Haemophylus influenzae*, *Actinomyces* y *Fusobacte-* ero enterobacterias, *Pseudomonas*, *Candida*, *Torula*, *Nocardia*, *Clostridium* y occus resisten a la droga (13, 11).

ntraciones de hasta 200U/ml de nistatina en las condiciones ensayadas, no el crecimiento de *Listeria monocytogenes* y luego de 24 horas de incubación n obtener la cosecha máxima. Es conocido que 50U/ml de nistatina ejercen una inhibitoria del crecimiento de *Candida*, *Cryptococcus*, *Blastomyces*, *Trochop- Epydermophyton* y *Mycrosporum* (11).

ros resultados indican que concentraciones de ácido pipemídico de 80µg/ml n una recuperación eficiente de UFC de *Listeria monocytogenes* en 24 horas, aceptable para un examen con fines diagnósticos. Lo mismo ocurre con con- iones de ácido oxolínico de 40µg/ml, ácido nalidíxico de 160µg/ml, bacitra- 0.8U/ml y nistatina de 200U/ml.
tados semejantes han sido obtenidos utilizando la cepa Murray 58-XXIII (29 5-NCTC 7973) y 4 cepas de origen humano recientemente aisladas.

edios de cultivo que contienen cada una de los antimicrobianos estudiados, rango de concentraciones señalado, constituirán diferentes alternativas para miento de *Listeria monocytogenes*. La eficiencia selectiva de cada medio de- de la naturaleza de la flora asociada.

**Figura 4** - Efecto de diferentes concentraciones de bacitracina sobre el crecimiento de *Listeria monocytogenes* cepa Murray en caldo triptosa fosfato a 37°C.
**Símbolos:** -o- = Control correspondiente a bacitracina 1,6U/ml; -●- = Control correspondiente a bacitracina 0,8U/ml




En este sentido hemos comenzado estudios de recuperación de *L. monocytoge* partir de flujos vaginales, material de abortos y material fecal experimenta inoculados, ensayando concentraciones variables de los antimicrobianos estu manteniendo constante 80µg/ml de ácido pipemídico.

## Agradecimentos

Este trabajo fue realizado con el apoyo económico del Consejo Nacional de tigaciones Científicas y Técnicas y la Secretaría de Ciencia y Técnica.

## Referencias Bibliograficas

1. Albritton, W.L.; Wiggins, G.L.; de Witt, W.E. & Feeley, J.C. - *L monocytogenes*. In: - Manual of clinical microbiology. 3. ed. Washi American Society for Microbiology, p.139-142, 1980.
2. Bearns, R.E. & Girard, K.F. - On the isolation of *Listeria monocytogenes* biological specimens. Amer. J. Med. Technol., 25:120-126, 1959.
3. Beerens, H. & Tahon-Castel, M.M. - Milieu a l'acide nalidixique l'isolement des streptocoques, *D. pneumoniae*, *Listeria*, *Erysipelothri* Inst. Pasteur, 111:90-93, 1966.
4. Bojsen-Moller, J. - Ocurrence of *Listeria monocytogenes* in feces from and sick persons. Proc. XIV Scand. Congr. Pathol. Microbiol., Oslo Univ. 1964.
5. Bourguignon, G.H.; Levitt, M. & Sternglanz, R. - Studies on the mechan action of nalidixic acid. Antimicrob. Agents Chemother., 4:479-486, 1973
6. Deitz, W.H.; Bailey, J.H. & Froelich, E.J. - In vitro antibacterial pro of nalidixic acid. Antimicrob. Agents Chemother., p.583-587, 1963.

ray, M.L. - *Listeria monocytogenes* and listeric infection in the diagnostic laboratory. Ann. N.Y. Acad. Sci., 98:686-699, 1962.

ray, M.L. - Second Symposium on Listeric Infection: summary conclusions. ozeman, Montana State College, 1963.

ray, M.L. & Killinger, A.H. - *Listeria monocytogenes* and listeric infection. acteriol. Rev., 30:309-382, 1966.

ray, M.L.; Stafseth, H.J. & Thorp Jr., F. - The use of potassium tellurite, odium azide and acetic acid in a selective medium for the isolation of *isteria monocytogenes*. J. Bacteriol., 59:443-444, 1950.

ottleb, D. & Shaw, D. - Antibiotics. I - Mechanism of action. New York, pringer-Verlag, p.90-102 y 122-137, 1967.

amon, Y. - Les bacteriocines. Ann. Inst. Pasteur, 107:suplement 5:18-53, 1964.

orzybski, T.; Kowszyk-Gindifer, Z. & Kurylowicz, W. - Antibiotics. I - Origin, ature and properties. Varsawa, Pergamon Press/Polish Scientific Publishers, .78-87, 1967.

arsen, H.E. - Investigations on the epidemiology of listeriosis Vet. Med., 6:890-909, 1964.

arsen, H.E. - Evaluation of the importance of antibiosis in isolation of *isteria monocytogenes*. Proc. Third Symp. Listeriosis, Bilthoven, 11:78-85, 966.

eighton, I. - Use of selective agents for the isolation os *Listeria onocytogenes*. J. Bacteriol., 36:283-288, 1979.

eng, B. & Meyers, B. - In vitro antibacterial properties of oxolinic acid. hemother., Rev., 18:253-258, 1973.

arcenac, F.M.; Fernandez, A.J. & Paolasso, R.W. - Sensibilidad de *Listeria onocytogenes* a 20 drogas antibacterianas. Acta Bioquím. Clin. Lat-amer., 5:559-563, 1981.

acBride, M.E. & Girard, K.F. - A selective method for the isolation of *isteria monocytogenes* from mixed bacterial populations. J. Lab. Clin. Med., 5:153-157, 1960.

eeliger, H.P.R. - Listeriosis. New York, Basel, S. Karger, 1961.

imizu, M.; Nakamura, S. & Tadase, Y. - Antibacterial properties of piromidic cid. Chemother, 19:379-386, 1971.

imizu, M.; Takase, Y. & Nakamura, S. - Pipemidic acid, a new antibacterial gents active against *Pseudomonas aeruginosa*: in vitro properties. Antimicrob. gents Chemother., 8:132-136, 1975.

# MECANISMOS DE INFECÇÕES MISTAS POR MICRORGANISMOS ANAERÓBICOS DA CAVIDADE ORAL

José Francisco Höfling

Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Universidade Estadual de Campinas
Caixa Postal 52
13400 Piracicaba SP, Brasil

**Resumo**

Estudos com *Bacteroides* da cavidade oral têm merecido especial atenção, particularmente devido ao papel que exercem em infecções orais. São revistos fatos já estabelecidos e avanços recentes pertinentes ao assunto, com ênfase nos mecanismos envolvidos nas relações parasito-hospedeiro.

**Summary**

*Mechanisms in polymicrobial oral infections*

*Bacteroides* of the oral cavity have received increasing attention in recent years mainly because their intervention in polymicrobial oral infections. This review presents well known facts together with late developments pertinent to the subject with emphasis on the mechanisms involved in the parasite-host interrelation.

## Introdução

As relações parasito-hospedeiro estão determinadas pelo tipo de associação estabelece entre os participantes. Os principais tipos de relações envolvem nismos já conhecidos como simbiose, comensalismo e parasitismo, cuja relaçã parasito e hospedeiro é determinada, tanto pelas características do parasi favorecem a sua implantação e a injúria ao hospedeiro, como pelos vários mec do hospedeiro que se opõem a estes processos.

A capacidade de produzir doença é resultante do grau suficiente de dano, p do pelo parasito no hospedeiro, em função de características, tais como, inf dade, poder invasor, a patogenicidade e o poder toxígeno. Recentes invest com microrganismos da cavidade oral (6, 7, 22, 48, 55) têm demonstrado que cidade de produzir determinadas doenças orais se deve em grande parte à uma dade específica de degradação de proteínas plasmáticas, tais como, compl imunoglobulinas, etc.

Tem sido demonstrado que *Bacteroides gingivalis* e *Bacteroides intermedius* espécies mais comuns de *Bacteroides* da cavidade oral (41, 45, 51). São enco preferencialmente em bolsas gengivais em associação com diferentes formas de periodontal (11, 21, 35, 43, 46), mas têm sido, também, isoladas de polpas necrotizadas (11, 21, 47). Esses microrganismos têm demonstrado possuir uma tância fundamental em infecções mistas com animais de experimentação (27, 2 44, 49) e algumas cepas dessas espécies são patogênicas para cobaios e camun mesmo em culturas puras (27, 49, 50).

Rev. Microbiol., São Paulo, 17(1):47-52, Jan./Mar. 1986.

udos desenvolvidos recentemente sobre a degradação "in vivo" da proteína C3 do
amento de cobaio por uma cepa patogênica de *Bacteroides gingivalis* (4%), de-
raram, que a elevada capacidade patogênica de *B. gingivalis* e *B. intermedius*,
o testados subcutaneamente em cobaios, se deve, em grande parte, à uma capaci-
específica de degradar o complemento "in vivo". Nestes estudos, imunoglobuli-
a proteína C3 do soro-total de cobaio, não puderam ser detectadas por métodos
lógicos após o soro ter sido incubado com cepas de *B. gingivalis* por 24 horas.
o soro anti-C3 usado, fragmentos de proteínas C3 com diferentes mobilidades
oforéticas puderam ser detectadas inicialmente, mas após 8 horas não foi pos-
detectar nenhum traço da proteína C3 do complemento. Tal fato, indica que os
entos iniciais de C3 foram posteriormente degradados.
roteína C3 e as imunoglobulinas possuem um papel importante nos mecanismos de
a do hospedeiro. Ambas as cepas de *B. gingivalis*, respectivamente W83 e 381,
straram uma elevada atividade proteolítica para as proteínas do soro de cobaio
resultados indicaram que tanto as imunoglobulinas, como a proteína C3 do com-
nto foram degradadas por essas cepas. É possível que, proteinases de leucóci-
dem ter contribuído para a degradação das proteínas plasmáticas nos tecidos,
Werner & Müller (54) demonstraram que determinadas cepas de *Bacteroides* degra-
uma grande variedade de proteínas plasmáticas, incluindo imunoglobulinas.
ecanismos foram, também, descritos por Killian (22), confirmando recentemente
a IgG humana purificada é degradada por cepas de *B. gingivalis* e *B. interme-*

*eroides gingivalis* tem sido associado com casos graves de doença periodontal
A degradação do complemento por *B. gingivalis* indicam que a participação des-
rorganismo possue um importante papel em infecções humanas. Os leucócitos têm
el fundamental na defesa dos tecidos periodontais contra a microbiota que co-
a área dentogengival (2). É concebível, dessa forma, que a degradação do
mento por *B. gingivalis* pode alterar os mecanismos de defesa do hospedeiro
eucócitos nessa área. A capacidade desse microrganismo em degradar também ou-
roteínas plasmáticas, tem merecido especial atenção por parte de pesquisado-
, 7).
eucócitos polimorfonucleares possuem um papel fundamental na defesa do hospe-
contra bactérias invasoras dos tecidos. Associados à fagocitose e morte das
ias, os leucócitos liberam grandes quantidades de enzimas, as quais facilitam
sa do hospedeiro pela demarcação do local de infecção e drenagem dos abcessos
os nas cavidades. A degradação de componentes teciduais como o colágeno,
na e proteoglicanas é resultado conjunto da ação de inúmeras proteínas de
itos (36). Esses abrigam não somente proteínas, como elastase (17), catepsina
e proteinase colagenolítica neutra (38), mas também a metaloenzima colagena-
4, 33), com o objetivo de preservar a integridade dos tecidos ao redor do lo-
infecção, assim como também o local de liberação enzimática dos leucócitos,
ldade dessas enzimas são moduladas por inibidores de proteinases presentes em
concentrações no fluido orgânico (13).
rincipais inibidores dessas proteinases de leucócitos são alfa-1-antitripsi-
fa-1-antiquimotripsina e alfa-2-macroglobulina. A alfa-1-antitripsina é quan-
ramente dominante e específica para serina proteinases (19). Alfa-1-antiqui-
sina é um potente inibidor de catepsina G (37) e a alfa-2-macroglobulina pode
diferentes tipos de proteinases (46). Tais inibidores de proteinases não
a efeito somente para enzimas teciduais, mas também para muitas proteinases
anas (19, 46). O papel desses inibidores de proteinases prevenindo danos te-
tem sido demonstrado em enfisema pulmonar, aonde a deficiência congênita de
-antitripsina estaria associado com o início da doença (23).
vestigações feitas por Sundqvist (48), mencionadas anteriormente, demonstra-
uma cepa de *Bacteroides gingivalis* (w83) induz infecções purulentas em co-
as quais se alastram rapidamente dando origem a graves danos teciduais. Um
nte fator dessa virulência ficou claro se tratar da capacidade de degradar
ento. Assim, como consequência de tais mecanismos, tal microrganismo pode,
escapar à fagocitose e consequentemente à morte por leucócitos polimorfonu-
. Tal fato, poderia explicar o alastramento da infecção, mas não a conse-
devastação da degradação tecidual. Um interessante fator microbiano nesse

contexto é a habilidade de inativar os inibidores de proteinases. Entre vária
térias anaeróbicas testadas, a cepa de *Bacteroides asaccharolyticus* (NCIC 933
monstrou ser capaz de degradar alfa-1-antitripsina, mas não alfa-2-macroglo
do plasma humano (55). A habilidade de degradar inibidores de proteinases "i
tro" tem sido também relatada para cepas de *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas a*
*nosa* (30, 31), o que certamente, deve alterar as relações parasito-hospedei
vivo".

Os estudos recentes efetuados por Carlsson & col. (7) com várias cepas de
*roides*, demonstraram que, particularmente, as cepas de *Bacteroides gingival*
e H185) degradaram a maioria das proteínas séricas, incluindo os inibidores d
teinases alfa-1-antitripsina e alfa-2-macroglobulina. Tais cepas, entretanto
degradaram alfa-1-antiquimotripsina. *Bacteroides intermedius* NCIC 9336, *Bact*
*asaccharolyticus* NCIC 9337 e uma cepa assacarolítica oral diferente de *B. g*
*lis* (B N11a-f) não tiveram a capacidade de degradar esses inibidores de prot
Essas cepas no entanto, foram capazes de inativar a capacidade de soro em in
atividade de tripsina. A capacidade de degradar o fator C3 do complemento e
glubinas em cobaios, assim como também em humanos (48), associado a esses re
dos pode significar que tais espécies são eficientemente equipadas não somen
alterar importantes mecanismos de defesa do hospedeiro, mas também em impe
funções de proteínas destinadas à preservar a integridade dos tecidos locais
tados.

Tais habilidades parecem sugerir que tais microrganismos podem interferir n
canismos de defesa do hospedeiro e explicar, em parte, os resultados obtidos
perimentações "in vitro", nos quais cepas de *Bacteroides* inibem, não somente
própria fagocitose e morte por leucócitos polimorfonucleares, mas também a
tros microrganismos presentes concomitantemente (15, 16, 20, 34, 52).

A patogenicidade de muitas cepas de *Bacteroides* em infecções mistas parece
na dependência da presença de outras bactérias encontradas no processo infe
(27, 29, 49) as quais, aparentemente parecem não possuir papel relevante. Ent
to, muitas cepas de *Bacteroides* requerem fundamentalmente vitamina K e hem
27, 28) como fator nutricional, o que sugere provavelmente que o papel pri
daqueles microrganismos, seja o de prover fatores de crescimento necessário p
espécies de Bacteroides nas infecções mistas.

A maior parte do íon-férrico do organismo humano não está disponível, cons
do substâncias como ferritina, hemosiderina, mioglobina e hemoglobina. As su
cias como transferrina, haptoglobina, hemopexina e albumina estão envolv
transporte e controle da excreção urinária desse íon (39). Transferrina é re
vel pelo transporte do íon ferro entre as células eritropoiéticas, medula ós
sistema retículo endotelial, baço, fígado, intestino e músculo (54). A hapto
se liga à hemoglobina presente resultante de hemólise no fluido tecidual e a
porta para o fígado (14, 18). Quando a haptoglobina tecidual de esgotar por
cesso de hemoglobina, essa é oxidada dissociando-se em globina e heme. A he
na, a qual possui uma maior afinidade por heme que albumina se liga à h
transporta para o fígado (32).

Somente uma pequena parte do ferro corporal está associada com a transferr
fluido corporal e devido à alta constante de associação. A concentração do í
rico livre no fluido corporal é somente 10-18M (5). Entretanto, muitas das
rias exigem acerca de 10-6M desse íon disponível para o seu crescimento, o q
na esse componente insuficiente nos tecidos para a exigência de crescimento
riano. Dessa maneira, para a obtenção do íon-férrico no tecido normal, as ba
necessitam agentes íon-quelantes com uma constante de associação semelhan
transferrina (54). A hemoglobina e heme livres, algumas vezes preenchem as n
dades nutricionais das bactérias (4, 8) e algumas espécies como *Bacteroides*
*mophilus* possuem total exigência de heme (10, 26).

Devido ao fato de que a disponibilidade de íon-férrico ou compostos que co
esse componente, tal como a hemoglobina e heme serem um fator limitante
crescimento bacteriano nos tecidos, a albumina, hemopexina, haptoglobina e
ferrina possuem um importante papel na defesa do hospedeiro contra as in
bacterianas, limitando o íon-férrico nutricional disponível para as bactéria
soras dos tecidos (3, 5, 8, 53, 54). Assim se torna relevante o fato de q

;ões agudas e lesões teciduais, os níveis de hemopexina e haptoglobina aumen-
.gnificantemente (1).
)actérias patogênicas demonstram dificultar a capacidade do hospedeiro em re-
) íon-férrico nutricional, através de sistemas com alta afinidade para esse
ıente (54) ou pela sua degradação. Assim, demonstrou-se que a cepa de *B. asac-*
*'yticus* NCTC 9337 é capaz de degradar albumina, haptoglobina e transferrina
Baseando-se nesses conhecimentos preliminares, recentes investigações (6) nas
cepas de *Bacteroides* foram examinadas com relação a suas habilidades de de-
albumina, haptoglobina, transferrina e hemopexina, demonstraram que cepas de
ıgivalis foram as mais ativas em degradar todas as proteínas plasmáticas cita-
m diferentes níveis. As cepas de *B. intermedius* e *B. asaccharolyticus*, mos-
ı atividades intermediárias com relação às proteínas individuais quando testa-
Cepas de *B. melaninogenicus*, *B. loeschesi* e *B. denticola* mostraram-se menos
degradando somente hemopexina.
ra o significado das recentes investigações relacionadas com a degradação de
nas plasmáticas envolvidas no metabolismo de íon-férrico não possam ser ava-
satisfatoriamente, até que informações mais acuradas possam ser obtidas,
ularmente, por exemplo, até que nível as várias espécies de *Bacteroides* pos-
xigências nutricionais de heme, ou que outros compostos íons-férrico possam
azer tais exigências, o conhecimento sobre a habilidade de determinadas cepas
*teroides* em degradar heme-hemoglobina e íon-férrico proteínas, contribui sig-
ntemente para a sua patogenicidade. A degradação de hemopexina e albumina por
ias presentes em infecções mistas, favorece a competição para tais substân-
om relação ao heme disponível nos tecidos, assim como também a degradação de
errina ou haptoglobina, no que concerne ao ferro ou hemoglobina. Tais meca-
alteram significantemente a defesa do hospedeiro. A degradação de proteínas
ticas envolvidas no metabolismo do ferro pode também enfraquecer a proteção
cidos contra a produção de radicais-hidroxil catalisados por ferro ativados
ıcócitos polimorfonucleares (9, 12, 56).

## ıcias Bibliográficas


)nsen, K.F.; Ekelund, G.; Kindmark, C.D. & Laurell, C.B. - Sequencial changes
plasma proteins after surgical trauma. Scand. J. Clin. Lab. Investig.,
(suppl.), 124:127-136, 1971.

:sron, R. & Schroeder, H.E. - Effect of experimental neutropenia on initial
ıgivitis in dogs. Scand. J. Dent. Res., 87:7-23, 1979.

:korovainy, A. - Antimicrobial properties of iron-binding proteins. In: -
.llips, M.B.A., eds. - Diet and resistance to disease. Adv. Exper. Med. Biol.
ew York), 135:139-154, 1981.

.len, J.J.; Rogers, H.J. & Griffiths, E. - Role of iron in bacterial
ection. Cur. Topics in Microb. Immun., 80:1-35, 1978.

.len, J.J. - The significance of iron in infection. Rev. Intec. Dis.,
127-1139, 1981.

'lsson, J.; Herman, B.J.; Höfling, J.F. & Sundqvist, G.K. - Degradation of
human proteinase inhibitors alpha-1-antitrypsin and alpha-2-macroglobulin
*Bacteroides gingivalis*. Infect. and Immun., 43:644-648, 1984.

'lsson, J.; Höfling, J.F. & Sundqvist, G.K. - Degradation af albumin,
mopexin, haptoglobin and transferrin by black pigmented *Bacteroides species*.
Med. Microbiol., 18:39-46, 1984.

on, J.W.; Brandt, P.; Mahonev, J.R. & Lee, J.T. - Haptoglobin: a natural
teriostat. Science, 215:691-693, 1982.

ıtone, J.C. & Ward, P.A. - Role of oxygen - derived free radicals and
:abolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions. Am. J. Pathol.,
':397-418, 1982.

ısons, R.J. & MacDonald, J.B. - Hemin and vitamin K compounds as required
:tors for the cultivation of certain strains of *Bacteroides melaninogenicus*.
Bacteriol., 80:164-170, 1980.

11. Griffe, M.B.; Patterson, S.S.; Miller, C.H.; Kafrawy, A.H. & Newton, C.W. relationship of *Bacteroides melaninogenicus* to symptoms associated with necrosis. Oral surg., 50:457-461, 1980.
12. Gutteridge, J.M.C.; Patterson, S.K.; Segal, A.W. & Halliwell, B. - Inhil of lipid peroxidation by the iron binding protein lactoferin. Biochem 199:259-261, 1981.
13. Heimburger, N. - Proteinase inhibitors of human plasma: their properties control functions. In: - Reich, E.; Rifkin, D.B. & Shaw, E., eds. - Pro and biological control. New York, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Harbor, p.367-386, 1975.
14. Hershko, C. - The fate of circulating haemoglobin. Brit. J. Haem 29:199-204, 1975.
15. Ingham, H.R.; Sisson, P.R.; Middleton, R.L.; Narang, H.K.; Codd, A.A. & S J.B. - Phagocytosis and killing of bacteria in aerobic and ana conditions. J. Med. Microbiol., 14:391-399, 1981.
16. Ingham, H.R.; Sisson, P.R.; Tharagonnet, D.; Selkon, J.B. & Codd, A Inhibition of phagocytosis "in vitro" by obligate anaerobes. L 2:1252-1254, 1977.
17. Janoff, A. - Mediators of tissue damage in leukocyte lysosomes. X - F studies on human granulocyte elastase. Lab. Invest., 22:228-236, 1970.
18. Jayme, M.F. & Moretti, J. - Haptoglobin: biochemical, genetic physiopathologic aspects. Prog. Hematol., 3:342-359, 1962.
19. Jeppsson, J.O. & Laurell, C.B. - Function and chemical compositi alfa-1-antitrypsin. In: - Reich, E.; Rifkin, D.B. & Shaw, E., eds. - Pro and biological control. New York, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Harbor, p.405-414, 1975.
20. Jones, G.R. & Gemmel, C.G. - Impairment by *Bacteroides species* of opsoni and phagocytosis of enterobacteria. J. Med. Microbiol., 15:351-361, 1982.
21. Kantz, W.E. & Henry, C.A. - Isolation and classification of anaerobic ba from intact pulp chambers of non-vital teeth in min. Arch. Oral 19:91-96, 1974.
22. Kilian, M. - Degradation of immunoglobulins A1, A2, and G by sus principal periodontal pathogens. Infect. Immun., 34:757-765, 1981.
23. Laurell, C.B. & Eriksson, S. - The electrophoretic alpha-1-globulin patte serum in alpha-1-antitrypsin dificiency. Scand. J. Clin. Lab. In 15:132-140, 1963.
24. Lazarus, G.S.; Daniels, J.R.; Brown, R.S.; Bladrn, H.A. & Fullmer, Degradation of collagen by a human granulocyte collagenollytic system. J. Lab. Invest., 47:2622-2629, 1968.
25. Lev, M. - Apparent requeriment for vitamin K of rumen strains of *Fus nigrescens*. Nature, 181:203-204, 1958.
26. Lwoff, A. & Lwoff, M. - Role physiologique de l'hémine pour *Haem influenzae* Pfeiffer. Annales de L'Institut Pasteur, 59:129-136, 1937.
27. Mac Donal, J.B.; Socransky, S.S. & Gibbons, R.J. - Aspects of the patho of mixed anaerobic infections of mucous membranes. J. Dent. 42(suppl):529-534, 1963.
28. Mayrand, D. & Bride, B.C. - Ecological relationship of bacteria involved simple mixes anaerobic infection. Infect Immun., 27:44-50, 1980.
29. Mayrand, D.; MC Bride, B.C.; Edwards, T. & Jensen, S. - Characterizat *Bacteroides asaccharolyticus* and *B. melaninogenicus* oral isolates. Microbiol., 26:1178-1183, 1980.
30. Morihara, K.; Tsuzuki, H. & Oda, K. - Protease and elastase of *Pseu aeruginosa*: inactivation of human plasma alpha-1-proteinase inhibitor. Immun., 24:188-193, 1979.
31. Moskowitz, R.W. & Heinrich, G. - Bacterial inactivation of human alpha-1-antitrypsin. J. Lab. Clin. Med., 77:777-785, 1971.
32. Muller-Eberhard, V. & Morgon, W.T. - Phorphirin-binding proteins in Annals of the New York Academy of Sciences, 244:624-650, 1975.
33. Murphy, G.; Reynolds, J.J.; Bretz, , V. & Baggiolini, M. - Collagenase component of the specific granules of human neutrophil leucocytes. Bioch 162:195-197, 1977.

amavar, F.; Verveij, A.M.J.J.; Bal, M.; Van Steenbergen, T.J.M.; de Groaf & ac Laren, D.M. - Effect of anaerobic bacteria on killing of *Proteus mirabilis* y human polymorphonuclear leukocytes. Infect. Immun., 40:930-935, 1983.
ewman, M.G. - The role of *Bacteroides melaninogenicus* and other anaerobes in eriodontal infections. Rev. Infect. Dis., 1:313-323, 1979.
hlsson, K. - Polymorphonuclear leucocyte collagenase. In: - Woolley, D.E. & vanson, J.M., eds., - Collagenase in normal and pathological connective issues. New York, John Willey & Sons, p.209-222, 1980.
ılsson, K. & Akesson, V. - Alpha-1-Antichymotrypsin interaction with cationic roteins from granulocytes. Clin. Chim. Acta, 73:285-291, 1976.
ılsson, K. & Ohlsson, I. - The neutral proteases of human granulocytes: solation and partial characterization of two granulocyte collagenases. Eur. J. iochem., 36:473-481, 1973.
ıtnam, F.W. - Alpha, beta, gamma, omega: the roster of the plasma proteins. ı: - Putnam, F.W., ed. - The plasma proteins: structure, function and genetic ontrol. New York, Academic Press, vol. 1, p.57-131, 1975.
ndler-Ludwig, R.; Bretziv & Baggilini, M. - Cathepsin G: the ymotrypsin-like enzyme of human polymorphonuclear leukocytes. In: - Haveman, & Janoff, A. eds. - Neutral proteases of human polymorphonuclear leukocytes. ıltimore, Urban & Schwarzemberg, p.138-149, 1978.
ots, J. - Subgingival microflora and periodontal disease. J. Clin. riodontal, 6:351-382, 1979.
ots, J. - Importance of black-pimented *Bacteroides* in human periodontal sease. In: - Genco, R.J. & Mergenhagem, S.E., eds. - Host-parasite teractions in periodontal diseases. Washington, D.C., American Society for crobiology, p.27-45, 1981.
cransky, S.S. - Relationship of bacteria to the etiology of periodontal sease. J. Dent. Res., 49:203-222, 1970.
cransky, S.S. & Gibbons, R.J. - Required role of *Bacteroides melaninogenicus* mixed anaerobic infections. J. Infect. Dis., 115:247-253, 1965.
iegel, C.A.; Hayduk, S.E.; Minah, G.E. & Krywolap, G.N. - Black pigmented cteroides from clinically characterized periodontal sites. J. Periodontal s., 14:376-382, 1979.
arkey, P.M. & Barret, A.J. - Alpha-2-Macroglobulin, a physiological regulator proteinase activity. In: - Barret, A.J., ed. - Proteinase in mammalian cells d tissues. Amsterdam, North-Holland Publishing, p.663-696, 1977.
ıdqvist, G. - Bacteriological studies of necrotic dental-pulps. Umea; iversity of Umea, 1976. (Thesis).
ıdqvist, G.K.; Carlsson, J.; Herrman, B.F.; Höfling, J.F. & Väätainen, A. - ıradation "in vivo" of the C3 protein of guinea-pig complement by a hogenic strains of *Bacteroides gingivalis*. Scand. J. Dental Res., 92:14-24, 84.
ıdqvist, G.; Eckerbon, M.I.; Larsson, A.P. & Sjögren, U.T. - Capacity of ıerobic bacteria from necrotic dental pulps to induce purulent infections. fect. Immun., 25:685-693, 1979.
azoe, I.; Tanaka, M. & Homma, T. - A pathogenic strain of *Bacteroides* aninogenicus. Arch. Oral Biol., 16:817-822, 1971.
ıner, A.C.R.; Haffer; C.; Bratthall, G.T.; Visconti, R.A. & Socransky, S.S. - tudy of the bacteria associated with advancing periodontitis in man. J. n. Periodontal, 6:278-397, 1979.
te, R.W.; Peterson, P.K.; Schmeling, D.; Bracke, J.; Kim, Y. & Quie, P.G. - onization of four *Bacteroides species*: role of the classical complement hway and immunoglobulin. Infection and Immunity, 27:784-792, 1980.
ı Asbeck, E.D. & Verhoef, J. - Iron and host defense. European J. Clin. robiol., 2:6-10, 1983.
mberger, E.D. - Iron and infection. Microb. Rev., 42:45-66, 1978.
ner, H. & Müller, H.E. - Immunoelektrophoretishi Untersuchungem uber die virkung von *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Leptotrichia* und *Sphaeropharus* Arten menschliche *Plasmaproteine*. Zbl Bakt. I Abt orig., 216:96-113, 1971.
terbourn, C.C. - Lactoferrin: catalysed hydroxyl radical production, itional requirement for a chelating agent. Biochem. J., 210:15-19, 1983.

# ATTACHMENT AND INTRACELLULAR PENETRATION OF CLASSIC ENTEROPATHOGENIC ESCHERICHIA COLI INTO HEP-2 CELLS

João Ramos Costa Andrade

Faculdade de Ciências Médicas UERJ
Serviço de Microbiologia e Imunologia
R. Prof. Manuel de Abreu, 48
20550 Rio de Janeiro RJ, Brasil

& Milden Rodrigues de Santa Rosa

Instituto de Microbiologia UFRJ
Laboratório de Microscopia Eletrônica
Depto. de Virologia
Centro de Ciências da Saúde
Bloco I - Ilha do Fundão
21941 Rio de Janeiro RJ, Brasil

**Summary**

Enteropathogenic *E. coli* (EPEC), serogroups O111:K58 and O55:K59 penetrate into the cell cytoplasm and seem to multiply intracellularly in Hep-2 cells as observed by electron microscopy. The most significant alterations in the cells were intense swelling and budding of the plasma membrane, suggesting an active endocytic process.

**Resumo**

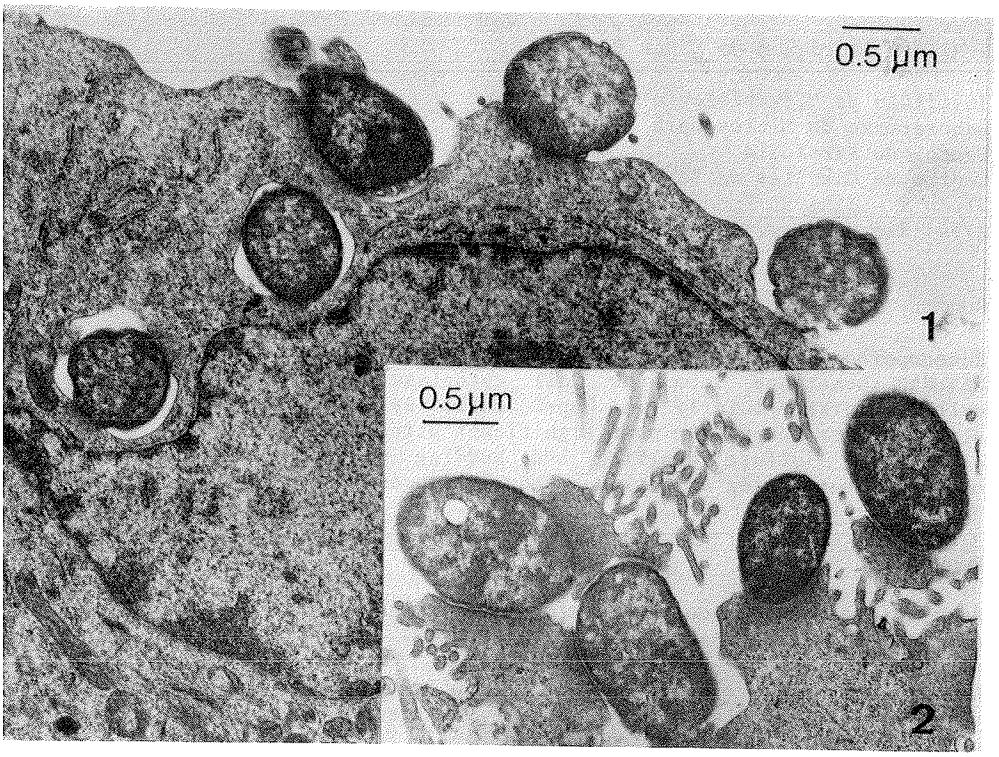
***Aderência e penetração intracelular de Escherichia coli enteropatogênica clássica em células Hep-2***

Com *E. coli* dos sorogrupos O111:K58 e O55:K59 observa-se, através de microscopia eletrônica, penetração e provável multiplicação intracelular em células Hep-2. Foram detectadas alterações significativas da membrana citoplasmática das células, sugerindo um processo ativo de endocitose.

Enterotoxic and invasive mechanisms are involved with the intestinal viru
*Escherichia coli*. However, with certain E. coli serogroups ("classic" o
frequently found as important agents of diarrheal disease in developing c
(W.H.O. - Bull. WHO, 58:23-36, 1980), the investigation of the ST
enterotoxins as well as invasive properties were sistematically
(Echeverria, P.D. & col. - J. Ped., 89:8-10, 1976; Levine, M.M. & col. -
i:1119-1122, 1978). Cytotoxic and enterotoxic properties, whose meaning in
infection is not presently clear, were, however, described for some EPEC
(Knowalchuck, J. & col. Infect. Immun., 18:775-779, 1977; Klipstein, F.A.
Infect. Immun., 21:171-178, 1978; O'Brien, A.D. & col. - J. Infect
146:763-769, 1982). A new approach on studying EPEC virulence evol
histopathological observations either on animal models or from naturally
humans. EPEC would adhere intimately to the enterocyte surface and ef
dissolved the microvilli on the infected cells, leading to absortive dist
and diarrhoea as a result (Levine, M.M. & col. - Microbiol. Rev., 47:
1983).

: 1 - 2-hr *E. coli* EPEC 68 exposure. Several steps of internalization process
:hown. Depressions on nuclear surface are evident near vacuoles enclosing bac-

: 2 - 2-hr *E. coli* EPEC 54 exposure. Contact area between cell surface and
'ia. Plasma membrane and cytoplasm are thickned beneath sites of bacterial at-
:nt. Intense cell membrane proliferation with several digitiform projections
:nt to the attached EPEC. Cell membrane forms cups at the base of some atta-
bacteria. Union between bacterial cell wall and plasma membrane is separated
ontinuous 100Å space.




ll cultures, a microscopic aspect referred to as "localized adherence"
was described (Nataro, J.P. & col. - Infect. Immun., 48:378-383, 1985).
ere several paranuclear foci of bacterial multiplication on the surface of
ll. Our former observations indicated that the L.A. to Hep-2 cells was
d by bacterial surface proteins with affinity for glycoproteic receptors on
ll membrane and indirect evidences were found supporting an internalization
the so-called L.A. (Andrade, J.R.C. & Santa Rosa, M.R. - Rev. Microbiol.
ılo), 17(2), 1986). In the present report we describe the electron
ɔpic confirmation of the intracellular localization of EPEC into Hep-2
We used L.A. + EPEC strains 54 (O111:K58) and (O55:K59) and an L.A. -
: F-2 (O?:K?:H4). The bacterial strains were grown in conditions favourable
l expression of L.A. and inoculated in glass bottles with confluent
ers of Hep-2 cells cultivated in Eagle-MEM (Gibco). After 15min (contact
nonolayers were washed twice with PBS-Dulbecco pH 7.2 (PBS-D) and fresh
was added. At 2, 4 and 6h after inoculation, monolayers were washed with
ınd fixed in cold (4°C) 3% glutaraldehyde in 0.05M sodium cacodylate buffer
for 1h. Cells were gently scraped with a rubber policeman and washed with
ıarose in 0.05M cacodylate buffer (pH 7.2). Cell pellets were preincluded in
small blocks were cut and fixed in 1% osmium tetroxide, dehydrated in graded
ɔf alcohol, treated with 0.5% uranyl acetate and embedded in Polylite 8001.

Ultrathin sections were stained with uranyl acetate and lead citrate and exa
with Phillips EM 301 microscope, at 60-100 Kv. The *E. coli* EPEC were found in
association with the plasma membrane (PM) with a 100Å separation between cell
and the PM. At points of contact the PM had an increase in density and was
along the adherent bacterium (Figure 1 and 2). As early as 2h penetration of
into the cytoplasm of cells was seen, with individual bacteria enclosed by
in membrane-bound vacuoles or several bacteria enclosed by a unique large va
(Figure 1 and 4). Intracellular bacterial multiplication and bacteria layin
in the cytoplasm without membrane enclosure were also observed (Figure 4). Ce
alterations at 2h consisted of intense swelling and budding of PM,
projections frequently entangled cell adherent bacteria (Figure 2). At 6h
ultraestructural alterations were observed, including desorganizatio
endoplasmic reticulum, ribossome dispersion, disappearance of mitochond
cytoplasmic regions where bacteria accumulate and vacuolation, oedema and r
of cristae in mitochondria localizated in the neighborhood of the intrace
bacteria (Figure 5). For non-EPEC bacteria penetration into the cell cytopla
induction of cellular alterations were never found (Figure 3).

Penetration of bacteria into the cell cytoplasm and intracellular multipli
are significative steps of Hep-2 infection by EPEC. Alterations of the
infected cells suggest an intense endocytic process including active mobili
of the PM responsible, perhaps, by the formerly described microvilli loss
EPEC-infected enterocytes. Current experiments are aimed at the definition
roles of the bacteria and cells on the internalization process and
significance of the observed process for EPEC virulence.

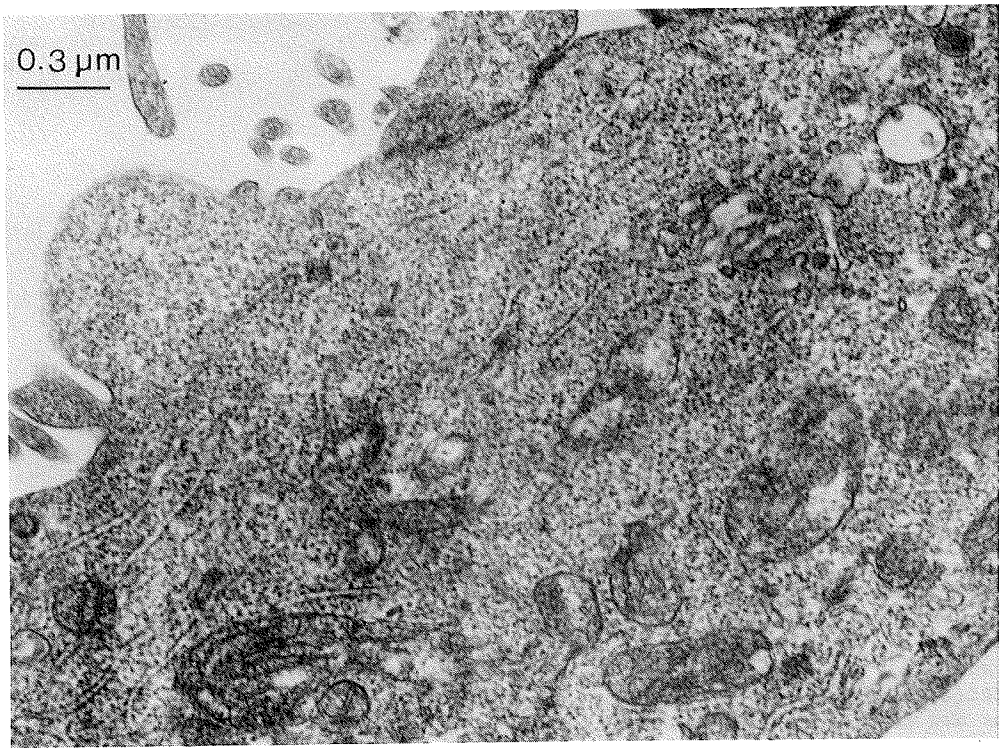
**Figure 3** - 6-hr *E. coli* F-2 (non-EPEC) exposure. Microorganisms have attac
the plasma membrane without bacterial internalization or significant alterat
cell ultraestructure

wledgements

skillful technical assistance of Maria Angelica Pereira da Silva (Cell re Laboratory, SMI-UERJ) and Venício Féo da Veiga (Electronic Microscopy atory, IM-UFRJ) are much appreciated. This work was supported by FINEP (Conv. -UERJ 4.3.85.0310.00).

e 4 - 6-hr E. coli EPEC 54 exposure. Bacteria are enclosed in membrane-bound les or lay free in the cytoplasm (arrows). Mitochondria are diminished in re- close to intracellular bacteria. Multiplication of intracellular microorga- is shown on lower right side of picture.

**Figure** 5 - 6-hr E. coli EPEC 68 exposure. Generalized alterations of endop
reticulum and ribossome dispersion in cytoplasm. Degenerated mitochondria ar
dent with matrix clarification, rarefaction and rupture of cristae, oedema an
ture of external membrane.



# ISA DE YERSINIA ENTEROCOLITICA EM PACIENTES REUMÁTICOS. SOROLOGIA*

e Dutra Asensi
esto Hofer

de Bacteriologia
tuto Oswaldo Cruz
Postal 926
Rio de Janeiro RJ, Brasil

analisados os níveis de aglutininas séricas anti *nia enterocolitica* em 145 pacientes, apresentando amente manifestações reumáticas e de 100 pessoas, sem ssos reumáticos e/ou intestinais, caracterizadas como controle. A avaliação foi realizada através de técnica o-aglutinação lenta, empregando-se antígenos somáticos e sorotipos de *Y. enterocolitica* (O:3, O:4, O:5a, O:6, O:8, e O:9). A análise estatística dos resultados u uma significância (P<0,01) de reagentes do grupo de tes (5,90%), em confronto com o grupo controle ).

## Y

### *igation of Yersinia enterocolitica in rheumatic human ts. II - Serology*

analysed the antibodies levels anti-*Yersinia colitica* in sera of 145 patients with reumathic ms and in sera of 100 people without rheumatic or inal clinical manifestations, that was used as control The evaluation was made by the agglutination test in (Widal), using somatic antigens of seven *Y. colitica* serotypes (O:3, O:4, O:5a, O:5b, O:6, O:8 and The sera considered positive were those with titles The statistic analysis of the results showed a icance (P<0,01) for the reagent group of patients with al rheumatic manifestations (5,90%) when challenged ie control group (2,70%).

## ação

*nia enterocolitica*, atualmente reconhecida como mais um agente de infecção nal, exteriorizando-se pelo quadro de gastrenterite aguda na criança, poden- acrescido pelas figuras clínicas de pseudo-apendicite ou ileíte terminal e, adenite mesentérica aguda (10, 13, 17).

---

e da Tese de Mestrado do Curso de Pos-graduação em Biologia Parasitária do ituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz. Aprovada em dezembro de 1983.

icrobiol. São Paulo, 17(1):58-63, Jan./Mar. 1986.

Nas faixas etárias, entre 29 a 70 anos, alguns indivíduos, após o comprome entérico, manifestam fenômenos de hipersensibilidade, representados por e nodoso (2, 16), artrite reumatóide (3), poli-artrite crônica (7, 9), síndr Reiter (1, 12) e inflamação da parede do miocárdio e pericárdio, como formas lares à da febre reumática (3, 4).

De acordo com os sinais clínicos, o diagnóstico laboratorial poderá se conc no isolamento do microrganismo, através de coproculturas ou de outros métodos sim como, pela soro-aglutinação. Esta, propicia ainda o conhecimento sobre a lação de certos sorotipos numa área e/ou população.

A presente investigação se concentrou em analisar e confrontar o nível de a ninas anti-*Yersinia enterocolitica* nos pacientes com problemas reumáticos e les não portadores dessas manifestações.

## Material e Métodos

***Origem e características dos pacientes*** - Foram analisados soros de 145 pac com manifestações reumáticas (grupo de reumáticos) e de 100 indivíduos que, camente, não apresentavam sinais de gastrenterite e/ou alterações reumáticas controle). Os soros foram obtidos no Laboratório de Imunologia e Bacteriolo Hospital das Clínicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (HCUERJ) e boratório de Patologia Clínica do Hospital das Clínicas Gaffrée e Guinle Universidade do Rio de Janeiro (UNI-RIO). As amostras do grupo controle, o ram-se apenas do HCUERJ.

Os pacientes doadores de soros foram submetidos a um estudo bacteriológic fezes.

***Preparação dos antígenos bacterianos, segundo Hofer "in" Lázaro*** (6) - Foram zadas no preparo dos antígenos, as amostras correspondentes aos sorotipos O: O:5a, O:5b, O:6, O:8 e O:9, fornecidas pelo Prof. S. Winblad, Suécia.

Como etapa preliminar se fez o reconhecimento microscópico e o isolamento lônias lisas, submetendo-as ainda aos testes da tripaflavina e de termo-esta de da suspensão, com o intuito de selecionar as estirpes com total integri antígeno somático.

Em seqüência, as amostras lisas, foram semeadas em ágar Müeller-Hinton contido em garrafas de Roux e incubadas a 29ºC por 48 horas. O crescimento riano, após a suspensão em 10ml de solução NaCl 0,85g% acrescido de 2g% de niltetrazólio (Merck), foi transferido para tubos de centrífuga e incubados por 4hs, período em que se observa a redução do substrato oxidado à formazan loração violeta). A seguir as suspensões sofriam lavagens por centrifugação x 20 min.) empregando-se como veículo, a solução salina fenolada glicerinada onde eram mantidas por seis meses a 4ºC.

***Reação de aglutinação segundo Hofer, "in" Lázaro*** (6) - As suspensões anti foram padronizadas no tubo 2 da escala de MacFarland, utilizando-se a soluçã na fenolada a 1%. O método adotado para a reação antígeno-anticorpo, consti soro-aglutinação lenta ou em tubos (Widal), sendo a leitura realizada após a bação do sistema a 37ºC por 24 hs. Como título significativo adotou-se as di iguais ou superiores a 1/80.

***Teste de anti-estreptolisina O*** - Os resultados das determinações do nivel d foram obtidos em 48 soros de pacientes com problemas reumáticos, através do fornecidos pelos Laboratórios de Imunologia do HCUERJ e do HCGG. Assinala-se referido teste não foi executado nos espécimes do grupo controle.

## Resultados

As Tabelas 1 e 2 assinalam a distribuição numérica e percentual dos res encontrados na sorologia nos dois grupos, em presença dos diversos antigen ticos de *Yersinia enterocolitica*.

a 1 - Distribuição numérica e percentual de soros reagentes aos sos antígenos de *Yersinia enterocolitica* no grupo dos pacientes ticos

| no | Nível de aglutininas | | | | | | | | | | | | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | <1/20 | | 1/20 | | 1/40 | | 1/80 | | 1/160 | | 1/320 | | |
| | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % | |
| | 106 | 73,10 | 13 | 8,96 | 9 | 6,21 | 8 | 5,51 | 5 | 3,44 | 0 | 0 | 141 |
| | 99 | 77,34 | 21 | 16,40 | 4 | 3,12 | 4 | 3,12 | 0 | 0 | 0 | 0 | 128 |
| | 110 | 75,34 | 14 | 9,58 | 13 | 8,90 | 5 | 3,42 | 0 | 0 | 0 | 0 | 142 |
| | 105 | 73,94 | 8 | 5,63 | 13 | 9,15 | 12 | 8,45 | 0 | 0 | 0 | 0 | 138 |
| | 114 | 80,28 | 7 | 4,92 | 10 | 7,04 | 5 | 3,52 | 1 | 0,70 | 1 | 0,70 | 137 |
| | 105 | 72,91 | 14 | 9,72 | 12 | 8,33 | 7 | 4,86 | 2 | 1,38 | 0 | 0 | 140 |
| | 108 | 75,00 | 17 | 11,85 | 6 | 4,16 | 9 | 6,25 | 0 | 0 | 0 | 0 | 140 |
| | 747 | - | 94 | - | 67 | - | 50 | - | 8 | - | 1 | - | 991 |
| | 106,7 | 75,41 | 13,42 | 9,58 | 9,57 | 6,70 | 7,14 | 5,01 | 1,14 | 0,78 | 0,28 | 0,10 | 141 |

ifica-se um índice de positividade acentuado para os níveis de aglutininas ou menores que 1/20 e a medida que a diluição aumenta, os percentuais são videntes para o grupo reumático, principalmente, com relação aos antígenos O:5b, O:6 e O:8. O maior título obtido foi de 1/320, no grupo reumático (43P) antígeno O:6.

iderando-se os soros de indivíduos com título maiores ou iguais a 1/80 e me- ou iguais a 1/40, a análise estatística efetuada pelo teste do qui-quadrado, sa uma significância a nível de $P<0,01$, ou seja, há uma diferença estatisti- e significativa nos dois grupos.

orrelação do teste do ASLO frente ao título maior que 1/20 para *Y. enteroco-* (Tabela 3), destaca-se que 35 amostras, negativas para o ASLO, 25,7% foram vas para *Yersinia*. Além disso, observa-se um percentual maior (65,30%), na ação ASLO positivos para *Yersinia* negativos. Não houve diferença significati- el de $P<0,01$.

são

irias formas clínicas da infecção por *Yersinia enterocolotica* na espécime hu- odem ser caracterizadas laboratorialmente através da tentativa de isolamento cimens clínicos, assim como, pela soro-aglutinação (16). Esta além de se uir em importante e rotineiro método de diagnóstico, possibilita também o mento sobre a circulação de certos sorotipos que podem sensibilizar uma po- (15).

eferência aos níveis de aglutininas encontrados (Tabelas 1 e 2), destaca-se do percentual de soros reagentes com títulos iguais ou menores que 1/20, in- temente nos dois grupos. Provavelmente, isto decorra do problema das reações s advindas da sensibilização dos hospedeiros por antígenos comuns de outros da família Enterobacteriaceae, constituintes da microbiota normal. Todavia, se considera a orientação de Winblad (16), que reconhece como positivos, os iguais ou superiores a 1/80, os percentuais médios retratam 5,89 e 2,70% grupos de pacientes reumáticos e controle, respectivamente. A análise esta- evidenciou que foi mais significante a positividade de soros reagentes no reumático em confronto ao de controle, o que até certo ponto fortalece a su- de Kalliomaki & Leino (3) e Aho & col. (1) de uma possível associação das es por *Yersinia* no desenvolvimento de certas manifestações reumáticas. Em osição, Lopes & Falcão (8) assinalam nas 559 amostras séricas provenientes po de "Provas Reumáticas" uma positividade em torno de 1%, para os antígenos 9 e ausência de soros reagentes para o sorotipo O:8.

**Tabela 2** - Distribuição numérica e percentual de soros reagentes aos diversos antígenos de *Yersinia enterocolitica* no grupo controle

| Antígeno | Nível de aglutininas | | | | | | | | | | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | <1/20 | | 1/20 | | 1/40 | | 1/80 | | 1/160 | | |
| | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % | |
| O:3 | 77 | 79,38 | 9 | 9,27 | 8 | 8,24 | 2 | 2,06 | 1 | 1,03 | 97 |
| O:4 | 74 | 74,00 | 12 | 12,00 | 11 | 11,00 | 3 | 3,00 | 0 | 0 | 100 |
| O:5a | 85 | 87,68 | 10 | 10,30 | 1 | 1,03 | 1 | 1,03 | 0 | 0 | 97 |
| O:5b | 77 | 79,38 | 13 | 13,40 | 3 | 3,09 | 3 | 3,09 | 1 | 1,03 | 97 |
| O:6 | 69 | 77,52 | 10 | 11,23 | 8 | 8,98 | 1 | 1,23 | 1 | 1,23 | 89 |
| O:8 | 66 | 75,00 | 11 | 12,50 | 6 | 6,81 | 3 | 3,40 | 2 | 2,27 | 88 |
| O:9 | 75 | 85,22 | 8 | 9,09 | 5 | 5,68 | 0 | 0 | 0 | 0 | 88 |
| Total | 523 | - | 73 | - | 42 | - | - | - | - | - | 656 |
| Média | 74,7 | 79,74 | 10,4 | 11,11 | 6,40 | 6,40 | 1,97 | 1,97 | 0,71 | 0,79 | 93,7 |

Tomando por base o título de 1/160, notou-se que no grupo de pacientes, p naram os soros reagentes para os antígenos O:3, O:8 e O:6, diferenciando-se do controle, pela inversão de freqüência dos dois primeiros sorotipos e pel sença de reagentes ao O:5.

A análise dos resultados, demonstra a acentuada disseminação do sorotipo hospedeiro humano, caracterizado como cosmopolita, de acordo com as obse realizadas por vários autores (10, 14, 15). Entretanto, a inusitada freqüên soros reagentes para O:8, não encontra uma explicação em decorrência dos res negativos obtidos no inquérito sorológico de Lopes & Falcão (8) aliado a a de isolamentos referidos em nosso meio.

Quanto aos resultados do teste de ASLO (Tabela 3), é interessante focal comportamento de que os soros reagentes para *Y. enterocolitica* apresentando vidade na prova de ASLO, particularmente na amostragem com títulos acima de representados por cinco amostras (10,20%) em um lote de 17 positivos. Sali que esta particularidade foi reconhecida por Winblad (19) em 69 pacientes co tema nodoso associado a *Y. enterocolitica* em que 13% dos indivíduos também ram positividade no teste de anti-estreptolisina O. Da mesma forma, depois, pitte & DeGreef (3), verificaram que três pacientes em oito, com eritema atribuído à *Yersinia* tinham ASLO positivo.

Segundo a análise estatística realizada neste caso, uma situação ficou be dente, isto é, não houve significância a nível de P<0,01, caracterizando que ciente com anti-estreptolisina O positiva, não implica necessariamente q ro-aglutinação para Ye, tenha que ser negativa ou vice-versa. Apesar dos re literatura, este fenômeno é bastante discutido e controvertido, formulando- hipóteses, como uma tentativa para explicá-lo: presença de reatores falso-p no teste de ASLO, ou melhor, indivíduos normais reagentes (2) e como outra tura, não se descarta a possibilidade da ocorrência de infecções mistas.

A complexidade do problema de imputar determinados agentes etiológicos p senvolvimento de processos reumáticos ainda é uma grande incógnita. Assim nen, Ierisalo & Allander (4) destacaram que no diagnóstico da febre reumáti vem ser avaliados certos sinais clínicos sempre associados a determinadas v laboratoriais. Entre as características clínicas de maior significância reumática, assinalam a poli-artrite e a cardiopatia, mas alertam que tais ções também são observadas em quadros de artrite reativa determinados por *rocolitica*.

Na presente investigação, encontram-se dois casos bem típicos (43P e 102P aos aspectos supramencionados. Em ambos, foi possível o isolamento de *Y. litica* a partir das fezes, sendo que no primeiro caso (43P), um paciente co lopatia reumática, detectou-se um nível de aglutininas de 1/320, compatíve fecção aguda por *Yersinia*. No segundo (102P), com história clínica de proce nico de poli-artrite, obteve-se um título baixo para *Yersinia* 1/40, o que p mente implicaria na caracterização de um estado de portador. Salienta-se q apresentaram 200UT no teste de ASLO.

.a 3 - Correlação do teste de Anti-Es-
:olisina O e reagentes para *Yersinia*
*tocolitica* com títulos superiores a

los: $x^2$ - calculado = 0,76; $x^2$ - tabe-
= 6,63; gl = 1; P < 0,01

| Anti-estreptolisina O | Soros reagentes para *Yersinia enterocolitica* | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | + | % | - | % | Total |
| + | 17 | 34,69 | 32 | 65,30 | 49 |
| - | 9 | 25,71 | 26 | 74,28 | 35 |
| Total | 26 | - | 58 | - | 84 |

relação ao paciente 124P, assegura-se que se tenha uma condição idêntica ao
com exceção do ASLO, que foi negativo, é provável que nesta situação a causa
ria do quadro estivesse relacionada à ação de *Y. enterocolitica*, embora não se
tido a confirmação sorológica.
nto ao paciente 184P, questiona-se a ação exercida por *Yersinia*, tendo em vista
sorotipo O:13, não tinha sido até então, relacionado a casos de infecção, e
m, pela evidência de um título elevado na prova do ASLO, fato comumente refe-
na literatura (5, 16). Diante da circunstância delineada, sugere-se uma infec-
e natureza mista, ainda mais alicerçada pelo relato de Toma & col. (14), que
nsabilizam o mencionado sorotipo como patogênico para espécime humana.
resultados do grupo controle, excetuando-se o soro 62C, em que foi caracteri-
o sorotipo O:5, os demais evidenciaram grupos até o momento não relacionados
problemas patológicos na espécie humana. É possível, que todos os achados de
*nia* desta amostragem possam ser enquadrados como meramente fortuitos.
iante a análise dos resultados, entende-se que a associação de infecção por *Y.*
*ocolitica* e o aparecimento de processos reumáticos ainda se caracteriza como
substanciada e para obtenção de resultados mais conclusivos, seria necessário
mpanhamento clínico-laboratorial dos pacientes, durante alguns anos, ou ainda,
tudo sequencial desde o processo entérico até a fase do aparecimento de mani-
ção reumática.


**ecimentos**

Drs. Rogério Lorena de Oliveira e Adir Nazareth Callado da Universidade do
e Janeiro (UNI-RIO) e aos Profs. Ítalo Suassuna, Alexandre Adler e Lúcia Hele-
.lella do Serviço Microbiologia e Imunologia e do Hospital das Clínicas da
pelas facilidades propiciadas na colheita do material e ao Prof. Luiz Cezar
.ini da UFF, pela análise estatistica efetuada.


**ncias Bibliográficas**


o, K.; Ahvonen, P.; Lassus, A.; Sievers, K. & Tillikainen, A. - HLA 27 in
active arthritis a study of *Yersinia* arthritis and Reiter's disease. Arthr.
eum., 17:521-526, 1974.
bois, J.; Vandepitte, J. & Degreef, H. - *Yersinia enterocolitica* as a cause
erythema nodosum. Dermatologica, 156:65-78, 1978.
lliomaki, J.L. & Leino, R. - Follow-up studies of joint complications in Yer-
niosis. Acta Med. Scand., 205:521-525, 1979.
itinen, O.; Lerisalo, M. & Allander, E. - Rheumatic fever and *Yersinia* arth-
tis criteria and diagnostic problems in changing disease pattern. Scand. J.
eumatol., 4:145-157, 1975.
itinen, O.; Tuuhea, J. & Ahvonen, P. - Polyarthritis associated with *Yersinia*
*terocolitica* infection: clinical features and laboratory findings in nine
ses with severe joint symptoms. Ann. Rheum. Dis., 31:34-39, 1972.
zaro, N.S. - Reações sorológicas cruzadas entre *Yersinia enterocolitica*
rotipo 9 e *Brucella* sp. em bovinos e suínos. Belo Horizonte, Escola
terinária da Universidade Federal de Minas Gerais, 1980. (Tese de Mestrado).

7. Leading Article - Polyarthritis and *Yersinia enterocolitica*. Brit. Med. 2:404-405, 1975.
8. Lopes, M.A. & Falcão, D.P. - Aglutininas anti-*Yersinia enterocoliti* anti-*Yersinia pseudotuberculosis* em soros humanos. Rev. Microbiol. (S. Pa 11:34-40, 1980.
9. Legoux, J.L.; Legoux A.; Portier, H.; Maufoux, C. & Cortet, P. - *Yer enterocolitica*: un germe à rechercher devant toute diarrhée fébrile erythème noueux. Gastrenterol. Clin. Biol., 4:730-731, 1981.
10. Mollaret, H.H. - L'infection humaine a *Yersinia enterocolitica*. Pathol. E 14:981-990, 1966.
11. Olhagen, B. - Post infective or reactive arthritis. Scand. J. Rheuma 9:193-202, 1980.
12. Solem, J. . & Lassen, J. - Reiter's disease following *Yersinia enterocol* infection. Scand. J. Infect. Dis., 3:83-85, 1971.
13. Swaminathan, B.; Harmon, M.C. & Mehlman, I.J. - A review: *Ye enterocolitica*. J. Appl. Bacteriol., 52:151-183, 1982.
14. Toma, S.; Wauters, G.; MacClure, M.H.; Morris, G.K. & Weissfield, A.S. - C 13b, a new pathogenic serotype of *Yersinia enterocolitica*. J. Clin. Microl 20:843-845, 1984.
15. Wauters, G. - Contribution a l'étude de *Yersinia enterocolitica*. d'agrégré de l'ensignement supérieur. Belgique, Université Catholiq Louvain, 1970.
16. Winblad, S. - Erythema nodosum associated with infection with *Ye enterocolitica*. Scand. J. Infect. Dis., 1:11-16, 1969.
17. Winblad, S. - The clinical panorama of human yersiniosis enterocolitica. Microbiol. Immunol., 2:129-132, 1973.

# PTOCOCOS BETA-HEMOLÍTICOS E NÍVEIS SÉRICOS DE STREPTOLISINA "O" EM COMUNIDADE RURAL, AMÉRICO LIENSE SP, 1981

Pechmannn Mendonça

de Ciências Bio-Clínicas
dade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara Unesp
Postal 331
Araraquara SP, Brasil

s Solé-Vernin

de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia
dade de Medicina de Ribeirão Preto USP
s de Ribeirão Preto
Ribeirão Preto SP, Brasil

rício Zangrando Nogueira

ço Especial de Saúde de Araraquara SESA
tália, 1533
Araraquara SP, Brasil

igou-se a presença de estreptococos beta-hemolíticos e eis séricos de antiestreptolisina "O" (ASO) em comuni- ural dividida em duas populações: escolar e familial. udo da população escolar revelou a presença de 61,8% ores de estreptococos beta-hemolíticos, com predomi- do grupo A e do padrão T11/14 seguido do T4 e do Imp.19. A dosagem da ASO revelou 64,6% escolares com s abaixo de 250UT; 27,7% com títulos entre 250 e 333UT acima de 500UT. A média encontrada foi de 262UT. A po- o familial revelou 47% de portadores de estreptococos edominância do grupo G. Entre os portadores do grupo A predominância do padrão T8/25/Imp.19, seguido do T4 e . Nesta população 79,3% tiveram níveis de ASO abaixo UT; 14,6% resultados entre 250 e 333UT e 6,1% de 500 média encontrada foi de 187UT. Nas populações em estu- ve simultaneidade de 60,8% entre grupos sorológicos de tococos e 43,2% entre sorotipos do grupo A. Verifi- uma correlação significativa entre os dados clínicos, tas afirmativas ao questionário proposto, presença de tococos beta-hemolíticos e níveis séricos de ASO acima rmalidade.

*molytic streptococci and serum levels of ASO in a community, Américo Brasiliense SP, 1981*

icrobiol., São Paulo, 17(1):64-70, Jan./Mar. 1986.

Research was carried out on the presence of beta-hemolytic streptococci and on serum levels of ASO in a rural community divided into school and home populations. The school populations (150 children), revealed the presence of 61,8% carriers of streptococci in 131 of the children examined, with predominance of group A strains and T pattern T11/14, followed by T4 and T8/25/Imp.19. ASO determinations in 141 children, revealed 64,6% with titers below 250UT, 27,7% with titers between 250 and 333UT, and 17,7% higher than 500UT. The average value was 262UT. In 183 family members of the home population (44 families, 220 persons) the results showed that 47% were carriers with the group G strains predominating. Among group A carriers the T pattern T8/25/Imp.19 predominated, followed by T4 and T11/14. Of 164 people of the same population, 79,3% had ASO serum levels below 250UT, 14,6% between 250 and 333UT and 6,1% higher than 500UT. The average value was 178UT. Both populations showed 60,8% of simultaneity between sorologic groups of streptococci and 43,2% between of T patterns of the group A strains. There was a significant relation between the clinical data, positive answers to the questions that were asked presence of beta-hemolytic streptococci and serum levels of ASO above normal values.

## Introdução

Há intensa relação entre infecção por estreptococos beta-hemolíticos, es
mente os do grupo A de Lancefield (*Streptococcus pyogenes*), resposta imunol
este agente microbiano e a incidência da doença reumática. Há, também, evide
lação com variáveis do ambiente, especialmente a promiscuidade (1, 13).

A alta incidência de portadores de estreptococos beta-hemolíticos foi demo
em nosso meio, com referência especial a menores em condições normais de saú
ato da coleta do material (3, 10, 15, 17).

As infecções respiratórias na infância, de 5-25% são ocasionadas por *Stre
cus pyogenes* e são comuns as reinfecções sem sintomatologia aparente.

O objetivo deste estudo é verificar a presença de portadores de estrept
beta-hemolíticos e o nível sérico de anti-estreptolisina "O" em uma comunid
ral, praticamente fechada, de condições sócio-econômicas reduzida; relacio
achados entre escolares e grupos familiar e correlacionar esses resultados
obtidos no exame clínico e os de dados dos antecedentes pessoais.

## Material e Métodos

*População estudada* - Constituída de adultos, jovens e crianças, de ambos os
de diferentes raças, residentes em zona rural, na sede da Usina de Açúcar
(Usina Santa Cruz) em Américo Brasiliense, SP.

A comunidade foi dividida em duas populações. A primeira denominada "E
constituída de 150 alunos matriculados na Escola da Usina, com idade variá
a 14 anos e que frequentavam normalmente as aulas. A segunda, denominada
lial", constituída de 220 pessoas que faziam parte de 44 famílias dos escol

Da primeira população foram levantados 131 escolares para estreptococos e
dosagem de antiestreptolisina "O" (ASO). Da segunda, respectivamente 18
Neste grupo 95 eram menores de 15 anos e 88 de 16 a 74 anos.

*Exame clínico* - Realizado apenas na população "Escolar", para os itens freq
ausculta cardíaca, pressão arterial, nódulos sub-cutâneos, conservação dos
estado da orofaringe.

**1** – Estreptococos beta-hemo-
s encontrados em 167 portado-

**os:** * = N, nariz; G, gargan-
= Nº de amostras isoladas;
A diferença entre o total de
ores e de amostras deve-se ao
e que de alguns isolaram-se
e um grupo sorológico

| Grupo sorológico | Origem do material | População Escolar | População Familial | Total |
|---|---|---|---|---|
| A | N* | 4** | 3 | 7 |
| | G | 31 | 31 | 62 |
| Total portadores | N e G | 9 | 4 | 13 |
| Total amostras | | 44 | 38 | 82*** |
| | | 53 | 42 | 95 |
| G | N | 1 | 3 | 4 |
| | G | 5 | 3 | 8 |
| Total portadores | N e G | 2 | 0 | 2 |
| Total amostras | | 8 | 6 | 14*** |
| | | 10 | 6 | 16 |
| G | N | 1 | 4 | 5 |
| | G | 30 | 36 | 66 |
| Total portadores | N e G | 4 | 8 | 12 |
| Total amostras | | 35 | 48 | 83*** |
| | | 39 | 56 | 95 |

*ento e identificação do estreptococos* - Para isolamento, o material foi cole-
a orofaringe e vestíbulo nasal, através de zaragatoa umedecida em solução fi-
ica. Em um único dia foram coletadas 262 espécimes de "Escolar" e, cinco dias
ambém num único dia, 366 espécimes da população "Familial". A metodologia
ológica e sorológica foi a mesma utilizada em outra investigação de campo

***nação da antiestreptolisina "O"*** - O sangue para as dosagens foram coletadas
nção venosa, semanalmente, no período de 6 semanas, de acordo com a possibi-
de sua imediata realização. Nem sempre foi possível obter amostras de pa-
em jejum, porém todos os soros quilosos, hemolisados ou os contaminados fo-
oletados.
nica usada foi de Rantz-Randall (14) com a estreptolisina liofilizada e ti-
(Bio-Merieux) todas da mesma série.
derou-se, como valores normais, títulos de ASO abaixo de 250UT; como suspei-
tulos entre 250 e 333UT e elevados, títulos iguais ou superiores a 500UT

o os títulos de ASO se encontravam acima da normalidade, absorveu-se as be-
proteínas com heparina e cloreto de cálcio, para maior segurança na inter-
o dos resultados e especificidade do teste (4, 9).

**2** - Classificação soroló-
estreptococos do grupo A
das populações - Esco-
milial.
: * = NT, não tipificá-

| Padrão T | População Escolar Nº | Escolar % | Familial Nº | Familial % | Total Nº | Total % |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 11/14 | 15 | 28,3 | 8 | 19,0 | 23 | 24,2 |
| 14 | 4 | 7,5 | 6 | 14,3 | 10 | 10,5 |
| 11 | 1 | 1,9 | 0 | 0 | 1 | 1,0 |
| 13/B3264/12/14 | 1 | 1,9 | 0 | 0 | 1 | 1,0 |
| 12 | 1 | 1,9 | 0 | 0 | 1 | 1,0 |
| 3/13/B3264 | 5 | 9,4 | 0 | 0 | 5 | 5,3 |
| 28/11/14 | 1 | 1,9 | 1 | 2,4 | 2 | 2,1 |
| 28 | 2 | 3,8 | 0 | 0 | 2 | 2,1 |
| 8/25/Imp.19 | 5 | 9,4 | 11 | 26,2 | 16 | 16,8 |
| 8/25 | 0 | 0 | 1 | 2,4 | 1 | 1,0 |
| 4 | 10 | 18,9 | 9 | 21,4 | 19 | 20,0 |
| 1 | 2 | 3,8 | 0 | 0 | 2 | 2,1 |
| NT* | 6 | 11,3 | 6 | 14,3 | 12 | 12,6 |

**Tabela 3** - Estreptococos beta-hemolíticos comuns entre população Escolar e Familial.
**Símbolos:** * = Grupos sorológicos diferentes num mesmo indivíduo

| População | | Nº de pessoas na família | Grupo sorológico | Outros grupos | Negativos | Simulta-neidade (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Escolar | Familial | | | | | |
| 3 | 2 | 11 | A | G - 3 | 3 | 45,5 |
| 1 | 1 | 8 | A | G - 4 | 2 | 25,0 |
| 1 | 1 | 3 | A | C - 1 | 0 | 66,7 |
| 1 | 2 | 4 | A | - | 1 | 75,0 |
| 2 | 2 | 5 | A | - | 1 | 80,0 |
| 3 | 4 | 7 | A | G - 1* | - | 100,0 |
| 1 | 2 | 6 | A | C - 1 | 2 | 50,0 |
| 2 | 2 | 6 | A | - | 2 | 66,7 |
| 1 | 2 | 5 | A | - | 2 | 60,0 |
| 1 | 4 | 7 | A | G - 2 | 0 | 71,4 |
| 3 | 2 | 9 | A | G - 1 G e C* | 3 | 55,6 |
| 1 | 1 | 7 | A | G - 3 | 2 | 28,6 |
| 1 | 2 | 5 | A | G - 1 | 1 | 60,0 |
| 1 | 1 | 5 | A | G - 2 | 1 | 40,0 |
| 1 | 1 | 7 | G | C e A - 1 | 4 | 28,6 |
| 1 | 4 | 6 | G | A*- 1 | 1 | 83,3 |
| 1 | 2 | 10 | G | A - 3 | 4 | 30,0 |
| 3 | 2 | 6 | G | - | 1 | 83,3 |
| 2 | 5 | 8 | G | - | 1 | 87,5 |
| 1 | 3 | 5 | G | - | 1 | 80,0 |
| 1 | 2 | 7 | G | C - 1 | 3 | 42,9 |
| 4 | 4 | 8 | G | A - 1* | - | 100,0 |
| 1 | 2 | 5 | G | - | 2 | 60,0 |
| 1 | 1 | 5 | G | - | 3 | 40,0 |

## Resultados

Dos 131 "escolares" examinados, 81 (61,8%) foram portadores de estreptococ ta-hemolíticos no nariz, garganta ou nariz e garganta, isolando-se 102 amos estreptococos do grupo A, C e G (Tabela 1).

Dos 183 membros "familiais" examinados, 86 (47,0%) apresentaram estreptoco ta-hemolíticos no nariz, garganta ou nariz e garganta, com 104 amostras (Tab

A positividade maior incidiu na faixa etária de 1 a 15 anos, com 53 (61,6%).

Entre os escolares, houve predominância de estreptococos do grupo A (52,9%) amostras em 44 portadores. Na população familial houve predominância treptococos do grupo G com 56 (53,8%) amostras em 48 portadores. Coinciden houve igual número de amostras do grupo A e G entre as populações escolar e lial.

A pesquisa da proteína T, entre as amostras isoladas de escolares, revelou dominância do padrão T11/14 (28,3%) seguido do T4 (18,9%) e T8/25/Imp.19 Entre a população familial, 38 pessoas apresentaram-se como portadoras de es cocos do grupo A (42 amostras) com predominância do padrão T8/25/Imp. 19 ( seguido do T4 (21,4%) e T11/14 (19,0%). No total das amostras (Tabela 2), predominância do padrão T11/14 (24,2%).

Das 95 amostras do grupo A, obtidas entre as populações em estudo, 12 (12, foram tipadas com os soros usados. Foi isolada uma amostra com o padrão T13/B3264/12/14, diferente da habitualmente encontrada do padrão T1/3/13/B32

Das 44 famílias examinadas, 24 (54,5%) apresentaram relacionamento do mesm sorológico com o escolar com simultaneidade de 60,8%. Entre as 20 famílias tes, em seis não se isolou estreptococos beta-hemolíticos; nas demais 14 isolados, de alguns dos seus membros, estreptococos de outros grupos que não escolar (Tabela 3). Em oito famílias houve simultaneidade de 43,2% de soró grupo A com o escolar (Tabela 4).

Dos 141 escolares, submetidos à dosagem da ASO, 77 (54,6%) tiveram títulos de 250UT; 39 (27,7%) títulos considerados suspeitos (250-333UT) e 25 (17,7%) los acima de 500UT . A média encontrada foi de 262UT.

a 4 - População Escolar e Fami-
com simultaneidade de padrão T
treptococos do Grupo A

| Padrão T | Escolar | Familial | Nº pessoas na família | Simultaneidade (%) |
|---|---|---|---|---|
| 11/14 | 1 | 2 | 6 | 50,0 |
| 11/14 | 1 | 3 | 7 | 57,1 |
| 11/14 | 1 | 1 | 4 | 50,0 |
| 11/14 | 2 | 1 | 11 | 27,3 |
| 4 | 1 | 1 | 7 | 28,6 |
| 8/25/Imp.19 | 1 | 2 | 9 | 33,3 |
| 8/25/Imp.19 | 1 | 2 | 5 | 60,0 |
| 8/25/Imp.19 | 1 | 1 | 5 | 40,0 |

164 participantes da população familial que se submeteram à dosagem da ASO, (79,3%) tiveram títulos abaixo de 250UT; 24 (14,6%), títulos entre 250 e 333UT (6,1%), títulos acima de 500UT. A média foi de 178UT.

população escolar isolou-se de 12 menores entre os 25 com títulos elevados de estreptococos do grupo A; de seis estreptococos do grupo G e, de sete menores, e isolou estreptococos ou mesmo não foram submetidos à pesquisa. Dentre os 39, resultados considerados suspeitos (250-333UT), 15 eram portadores de estrepto- do grupo A; 11 do grupo G; três do grupo C e 10 não eram portadores ou não submetidos à pesquisa.

população familial, das 10 pessoas, com títulos elevados de ASO, três eram dores do grupo A; duas do grupo G; uma do grupo C e sete não eram portadores o haviam se submetido à pesquisa. Dentre os 24 considerados suspeitos, 12 eram dores do grupo A, cinco do grupo G; uma do grupo C e seis não eram portadores ão haviam se submetido à pesquisa. Neste grupo de população, entre os menores anos, 25 (31,6%) tiveram resultados acima de 250UT enquanto que entre os es, apenas 9 o tiveram.

resultados do exame clínico realizado entre os escolares portadores de estrep- os e/ou níveis séricos de ASO acima do normal revelaram dados importantes como ta cardíaca patológica; frequência cardíaca anormal; pressão arterial anor- gânglios hipertróficos; dores articulares; amígdalas hipertróficas.

rto ao questionário apresentado à população familial, entre os portadores de tococos beta-hemolíticos e/ou com níveis séricos de ASO anormais, verifi- que problemas como faringite, impetigo, dores articulares, corea, problemas foram as afirmativas mais frequentes.

bela 5 abrange um grupo de 47 escolares que, no momento da coleta de mate- apresentava inflamação da vias aéreas superiores. Destes menores, 74,5% reve- a presença de estreptococos beta-hemolíticos e tiveram uma média de ASO de

## são

esultados demonstraram alta incidência de indivíduos portadores de estrepto- beta-hemolíticos no nariz, garganta ou nariz e garganta, devendo-se em parte, nicas de isolamento utilizadas (8, 16, 18).

munidade estudada reside em local de alta poluição ambiental (resíduos da a usina) e tem enfrentado numerosos problemas, especialmente ligados às vias superiores, embora venha recebendo boa assistência médica e social. Conside- se a comunidade dividida em população "Escolar e Familial", verificou-se que dência de estreptococos foi mais elevada na primeira população, com prevalên- amostras do grupo A, enquanto que entre os familiais prevaleceu o grupo G.

5 - Grupos sorológicos dos es-
cocos beta-hemolíticos e níveis
s de ASO na população Escolar
fecção nas vias aéreas superio-
Nº de portadores com o título
do

| Grupo sorológico | Portadores | | Níveis de ASO (UT) | | | Nível sérico médio |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Nº | % | <250 | 250-333 | >500 | |
| A | 19 | 40,0 | 3* | 8 | 8 | 406 |
| C | 1 | 2,1 | 1 | 0 | 0 | 166 |
| G | 12 | 25,5 | 3 | 7 | 2 | 336 |
| A e G | 2 | 4,3 | 1 | 0 | 1 | 499 |
| C e G | 1 | 2,1 | 0 | 1 | 0 | 250 |
| Ausência | 12 | 25,5 | 8 | 2 | 2 | 198 |

Para vários investigadores, é certa a comunicabilidade das infecções estre cicas nas coletividades, especialmente no meio familial. Isso tem sido maior, também, das reinfecções em geral de outros tipos específicos (8, 11). ni & col. (8) verificaram a ocorrência de casos de nefrite em 3 (7,8%) dos familiais estudados. Zimmerman & col. (19), verificaram que 97,5% das intro de estreptococos na família deve-se a menores em idade escolar e que as fa portadoras tem maior susceptibilidade para a aquisição e propagação intra-fa da doença do que as portadoras. Nesta observação, verificou-se que, entre as mílias, 24 (54,5%) apresentaram relacionamento com o escolar, dando uma simul dade de 60,8% do mesmo grupo sorológico (Tabela 3). Ainda, observou-se que, e famílias, houve simultaneidade de 43,2% de sorotipos do grupo A, com escolare bela 4), com frequência do padrão T11/14 (quatro famílias com 28 membros, ap taram em 12 deles), seguido do padrão T8/25/Imp.19 (duas famílias, com 14 m apresentaram em seis deles). O importante é que se pode sentir o grau de sus bilidade entre 24 famílias. Em 14, houve presença de grupos diferentes dos do lar, em seis famílias, não se isolou estreptococos e os níveis séricos de A contravam-se dentro da faixa da normalidade.

Quanto aos níveis séricos de ASO, para melhor interpretação clínica deveri realizadas, pelo menos, duas determinações intervaladas. Apesar desta consid vários autores defendem a importância do encontro de títulos elevados, mesmo única dosagem (6, 12), especialmente quando a anmnese e a clínica confirmam do (2). No entanto, sugere-se não desprezar resultados iguais ou acima de sob o ponto de vista clínico de diagnóstico, mesmo que não existam outros Deve-se observar que, apesar de ser um teste de reprodução fiel, as respost nológicas variam grandemente, de indivíduo para indivíduo, havendo também vérsias quanto aos valores que devem ser considerados como normais. Segundo (5), os valores normais de ASO oscilam abaixo de 250UT, devendo-se consider anormal um resultado acima de 333UT para crianças até 5 anos e acima de de para indivíduos de mais idade. Seguiu-se Bonomo & col. (2), mesmo porque seu res normais também estão abaixo de 250UT.

A apresentação das respostas dos questionários, levando-se em consideração os níveis séricos de ASO alterados, demonstra que este dado representa algum boração sob o ponto de vista clínico para um diagnóstico (6, 12).

Examinando-se os dados clínicos e respostas afirmativas às indagações, cou-se que há correlação bem significativa com a presença de estreptococos e séricos de ASO elevados, como já foi verificado (7, 8, 12).

Quando da coleta de material da população escolar, verificou-se que 47 tinham problemas nas vias aéreas superiores. De 35 destes escolares isolou treptococos beta-hemolíticos e a média dos valores de ASO foi de 331UT; entr sintomáticos, porém sem isolamento de estreptococos, a média de ASO foi de 1 restante dos menores, em número de 46, portadores de streptococos, porém sem matologia evidente, forneceu uma média de ASO de 252UT. Esse é um dado impo principalmente quando se considera apenas como portador aquele indivíduo apresenta nenhuma manifestação clínica no ato da coleta de material.

**Agradecimentos**

Os autores desejam expressar os seus agradecimentos aos estagiários da dis de Microbiologia e Imunologia: Denise Raquel Tavares, Silvia Brolo, Custodi laine Leonel, Maria Tereza J. Zanin, Maximina do Céu Fernandes Mogadouro e cia dos Santos; à preparadora da disciplina: Ivone Shizuko Anno e à Usina de e Açúcar Santa Cruz.

**Referências Bibliográficas**

1. Abdin, Z.H. & Eissa, A. - Rheumatic fever and rheumatic disease in below the age of 5 years in the tropics. Ann. Rheumatic Dis., 24:389-29

mono, I.; Batista, R.; Coelho, S.R. & Marinho, M.A.A. - Laboratório em enças reumáticas. J. Bras. Med., 18:15-36, 1970.
stro, H.S. - Dados de um inquérito sobre ocorrência de estreptococos em ianças normais e doentes no Rio de Janeiro. An. Microbiol., 9:329-351, 1961.
court, L.V.; Camargo, M.E. - Estudo dos inibidores sorológicos inespecíficos estreptolisina O. I - Avaliação de sua incidência. Arq. Brasil. Cardiol., :175-180, 1968.
court, L.V. - Doença reumática. 2.ed. São Paulo, Sarvier, 1972.
derico, W.A.; Fava Neto, C.; Amato Neto, V. & Dobes, A.C. - Título de ti-estreptolisina O no soro de indivíduos normais da cidade de São Paulo. spital, 72:269-278, 1967.
plan, E.L.; Top Jr., F.H.; Dudding, B.A. & Wannamaker, L.W. - Diagnosis of reptococcal pharingitis: differentiation of active infection from carrier ate in the symptomatic child. J. Infect. Dis., 123:490-496, 1971.
rtini, A.S.; Solé-Vernin, C. & Silva, E.M.C. - Aspectos bacteriológicos e idemiológicos na glomerulonefrite difusa aguda (pós-estreptocócica) de casos porádicos em Londrina, Pr. Rev. Microbiol. (S. Paulo), 9:62-70, 1978.
llo, J.A.N. - Inibidores serológicos inespecíficos da estreptolisina O. Rev. as. Anal. Clin., 1:30-31, 1969.
ndonça, C.P.; Solé-Vernin, C. & Nogueira, M.Z. - Ocorrência de estreptococos ta-hemolíticos dos grupos A (e seus tipos); C e G em escolares de Araraquara, - setembro de 1979. Rev. Microbiol. (S. Paulo), 14:265-272, 1983.
iveira, A.S. de - Problemas atuais de febre reumática. Rev. Bras. Med., :545-549, 1972.
iveira Lima, A. - Considerações sobre a imunologia dos estreptococos: sultado de uma investigação sobre títulos de antiestreptolisina O e provas tâneas com antígeno estreptocócico em crianças do Rio de Janeiro. An. crobiol., 19:353-405, 1961.
ry, L.W.; Poitras, J.M. & Findlan, C. - Rheumatic fever and rheumatic heart sease among U.S. college freshmen, 1956-65. Publ. Hlth. Rep. (Wash.), :919-936, 1969.
ltz, L.A. & Randall, E. - A modification of the technique for determination the anti-streptolysin titer. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 59:22-25, 1945.
é-Vernin, C. & Castro, H.S. - Estudo sobre estreptococos. IV - Ocorrência de reptococos do grupo A em crianças normais do Rio de Janeiro. An. Microbiol., 81-194, 1957.
é-Vernin, C. - *Streptococcus pyogenes* carriers detection: preservation of ginal throat specimens and their enrichment. Hospital, 65:765-784, 1964.
é-Vernin, C. - Groups A, C and G streptococci and anti-streptolysin O serum el from healty rural school children of Ribeirão Preto, SP, Brazil. Hospital o de Janeiro), 66:331-348, 1964.
orovski, J. - Aspectos bacteriológicos e imunológicos da glomerulonefrite usa aguda (pós estreptocócica) na infância. São Paulo, Faculdade de Ciências icas da Santa Casa, 1975. (Tese de Livre-Docência).
rmann, R.A. & Wilson, E. - Familial susceptibility to acquisition of group eta hemolytic streptococci. Am. J. Dis. Child., 116:292-300, 1968.

## INFORMAÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA SBM

**Sociedade Brasileira de Microbiologia - Reunião de Ex-Presidentes e da Diret**

Realizada no dia 8 de março de 1986, na Escola Paulista de Medicina, Dept? crobiologia, a reunião contou com a presença de:

Luiz R. Trabulsi - Ex-Presidente
Wilson Chagas de Araujo - Ex-Presidente
João Salvador Furtado - Ex-Presidente e atual Vice-Presidente
Marcelo Magalhães - Atual Presidente
Milton de Uzeda - Secretário Geral atual
Walderez Gambale - Tesoureiro atual

Foi discutida a política de atuação da SBM nos últimos anos, bem como recurs nanceiros, Revista de Microbiologia e outros assuntos pertinentes.

Da discussão, ficou deliberado que a Sociedade Brasileira de Microbiologia dar ênfase a atividades, consideradas como prioritárias, como:

. Manter a regularidade da Revista de Microbiologia, bem como aperfeiçoar a dade do conteúdo técnico-científico da mesma;
. Realizar Simpósios Regionais, em áreas específicas da microbiologia;
. Fortalecer os Congressos Brasileiros de Microbiologia;
. Fazer campanha de expansão de sócios da SBM;
. Mobilizar pessoas, a fim de mudar a posição no "Current Contents, da index Revista de Microbiologia, para a seção "Life Sciences";
. Mobilizar profissionais, de diversas instituições, a fim de avaliar o está microbiologia no Brasil.

Ficou deliberado que o Conselho de Ex-Presidentes, deverá propor a chapa, p próximas eleições da SBM, e dar ciência aos sócios, para a realização de para o biênio 1987-1989.

A reunião foi convocada por João Salvador Furtado, Vice-Presidente Execut SBM, para prestar contas do trabalho realizado junto a SBM, nos últimos 13 a que esteve envolvido em atividades, uma vez que, por decisão pessoal, não i concorrer a cargo eletivo, a partir do término de seu mandato, em janeiro de

Assim, foi apresentado aos Ex-Presidentes e à Diretoria da SBM, o relatório, tizado das atividades executadas sob a responsabilidade de João Salvador F bem como, a situação financeira da SBM.

Como deliberado durante a reunião, o relatório está sendo divulgado aos sóc SBM.

## AÇÃO DA SBM NOS ÚLTIMOS 13 ANOS

A julgar pelas atividades realizadas nos últimos 13 anos, já conseguimos trar, inequivocamente, que uma associação científica pode contribuir para a zação profissional, em sua área de atuação, e perfazer funções que nenhuma governamental teria condições de fazê-lo; e desencadear outras, a custos ir velmente inferiores, se realizadas por agências responsáveis pela formulação líticas e financiamento.

Isto não deve ser entendido como crítica às agências, mas afirmado, com toda rança, como espaço que deverá ser ocupado por entidades, como a Sociedade Br ra de Microbiologia. Também é feito no sentido de identificar o papel mais d de tais entidades, no contexto nacional de ciência e tecnologia, como está c do em diversos países.

:ialmente, o papel da associação científica e tecnológica deve ser o de agente .zador e de intermediação, para pesquisa articulada entre grupos e instituicom o setor produtivo, seja este público ou privado.

o sistema governamental de C&T tem muito a lucrar e a tirar proveito, com a :ipação ativa das associações científicas e tecnológicas. Reciprocamente, a dade tem muito a dar e tirar proveito pelo engajamento, através das suas en-s representativas.

co de atividades realizadas, pela direção executiva da SBM, é considerável, almente se comparado a outras entidades afins. Assumimos, inclusive, a resilidade de uma comparação com o que tem sido feito por instituições formalmantidas por orçamentos públicos, pois temos certeza de que os benefícios retes do nosso trabalho, serão apreciáveis.

s, realmente, muita coisa e teremos condições de fazer mais. Hoje, conquistareconhecimento, no País, de que somos uma entidade que busca o engajamento o, científico, econômico, social e, acima de tudo, político para as atividae usam microrganismos em vasto campo de trabalho.

atuação visa, essencialmente, fortalecer grupos, entidades, instituições e as. Consequentemente, nosso esforço é, eminentemente, voltado para a melhoria empenho nacional.

s com que novas linhas de trabalho fossem abertas e implantadas. Muita coisa, je é feita, não existia, e surgiu do nosso trabalho direto. Projetos submetidiversas agências, e outros que poderão ser submetidos, ganharam nova ótica ca e contextual.

camos a conduta de indivíduos, de grupos e de instituições. Conseguimos amo debate, a visão e a conduta ao relacionar atividades de pesquisa, desenvolo e produção. Contribuimos para fortalecer o papel das universidades e instigovernamentais que executam P&D, como agentes de desenvolvimento.

emos a integração de grupos da mesma instituição e ganhamos experiência em lar grupos interinstitucionais. Desencadeamos cooperação internacional. Já meios de propor esforços mais abrangentes, que cobrem pesquisa científica, ogia e mercado. Nossa visão, para formação de recursos humanos, complementa o da universidade, graças a nossos modelos de "educação continuada" e "treinaem serviço".

## \DES PROMOVEM LIDERANÇAS NO TERRITÓRIO NACIONAL

lo de atuação adotado pela SBM visa revelar líderes e destacar grupos atuanirios projetos foram estabelecidos e muitos deles levados a bom termo, resulem atividades de pesquisa, desenvolvimento e prestação de serviços técniıtíficos.

las ocasiões, surgiram oportunidades para que grupos gerassem projetos espe-, que resultaram no obtenção de recursos substanciais para suas próprias ıições.

os de cooperação foram estabelecidos envolvendo diferentes grupos nacionais, sma instituição ou vinculados a distintas organizações. Em alguns casos, con-se articular universidades, institutos de P&D governamentais e empresas pri-

mente, a experiência de integração passou a envolver grupos do exterior. Folciados entendimentos entre brasileiros e argentinos para cooperação bilatevirologia, com boas perspectivas para a cooperação com especialistas de duas sidades dos EUA.

## PROGRAMAS DA SBM CONTRIBUEM PARA O DESENVOLVIMENTO INSTITUCIONAL

Resultados apreciáveis foram atingidos por diferentes grupos de trabalho, c
dos pela SBM, com base na análise de planos de governo, prioridades, estrat
outros componentes da política de C&T, conduzida por diferentes agências.

Amplo processo de divulgação foi desencadeado, envolvendo praticamente to
instituições mais relevantes no País, a fim de fomentar maior participação
cesso decisório.

Simultaneamente à expansão do número e natureza das instituições envolvida
possível cobrir praticamente todas as áreas de interesse da microbiologia, n
mente a microbiologia de alimentos, ambiental, agrícola, industrial, médica
rinária, sem descuidar-se da que se convencionou denominar de microbiologia
que permeia todas as já citadas.

Essencialmente, o modelo de atuação foi montado de maneira a: a. revelar pes
grupos que pudessem se transformar em lideranças; b. fomentar e reforçar o p
de planejamento participativo; c. exercitar a interação e a definição de pr
des, com ênfase em problemas nacionais, sem, contudo, relegar os problemas
nais; d. desenvolver a capacidade para auto-gestão e e. fortalecer a ação, a
das instituições, para o desenvolvimento científico e tecnológico.

Quanto mais ativa e próxima estivesse a instituição, da unidade central admi
tiva da SBM, maiores as posssibilidades de efetivos vínculos de trabalho in
e de conquista de maior projeção, nacional e internacional.

Naturalmente, foi grande a contribuição, da SBM, para a promoção da image
instituições e grupos nacionais, perante agências de formulação de políti
nanciamento, para C&T. Inegavelmente, diversos profissionais e grupos, hoje
tes, viram aumentadas as oportunidades para a conquista de maior visibilidad
to no âmbito político-administrativo, como social e econômico.

### Criação de equipe técnica própria para atuação interdisciplinar

A política de ação, adotada pela SBM, só foi implantada graças à existên
equipe técnica, própria, consolidada nos últimos 7 anos de atividades.

Todo o pessoal, que presta serviços autônomos para a SBM, foi treinado para
interdisciplinar, abrangendo aspectos técnico-científicos próprios da área
crobiologia ou do grupo de microrganismos envolvidos, componentes econômi
ciais e políticos.

A SBM capacitou-se para colaborar com grupos de universidades e institutos
dos à P&D, com vistas à montagem de projetos mais complexos, particularmente
necessitam o envolvimento multiinstitucional.

### Aquisição de competência para levantamentos

O envolvimento mais amplo, na formulação de projetos a nível nacional, perm
quirir habilidades para levantamentos, cadastros, planos regionais e nacion

Hoje, a SBM ganhou condições técnicas e materiais para produzir formulários
nados a levantamento de dados, em quaisquer setores sócio-econômicos nos
microbiologia participa. Adicionalmente, também passou a dispor de habilida
a produção de cadastros de entradas múltiplas.

### Fonte de recursos financeiros da SBM

A manutenção das atividades da SBM foi conseguida através de duas fontes: a
ta derivada de anuidades e b. contratação de projetos, para execução.

idades são calculadas à base de 2 ORTNs. Há cerca de 800 sócios, cujo compor-
o, em relação à tesouraria, está distribuído, aproximadamente, da seguinte
a: 40% dos pagamentos no primeiro trimestre do ano, 40% nos dois trimestres
tes e 20% no último trimestre.

o administrativo, para a cobrança, torna-se elevado, pois são necessárias
expedições postais e duas (pelo menos) emissões de "carnês" bancários, para
enviados a cada sócio. A cada correspondência, é necessário imprimir circula-
om distinto texto apelativo. A função de arrecadação tem que ser mantida
rruptamente, durante os 12 meses de cada ano.

os de 1984-1985, a arrecadação foi estimada em Cr$ 70.000.000 (já deduzidos a
). Todo montante apurado foi aplicado sob a forma de contra-partida, para a
ão, impressão e distribuição da Revista de Microbiologia. Mesmo assim foram
ários mais Cr$ 70.000.000, que, no geral, deriva de contribuições de agências
ento.

timos 13 anos, foram iniciados projetos executivos, para gestão centralizada
centralizada, envolvendo inúmeras instituições e grupos de especialistas, em
as regiões do país. Os projetos foram financiados por agências governamentais
esas privadas, gerando, por consequência, os recursos necessários para a sus-
ão das atividades.

inuidade administrativa, nesse período possibilitou a adoção de um posiciona-
fortemente organizável e uma sociedade civil que não poderá depender para sua
vência de "benemerência institucional" para sustentação das suas necessida-
sicas.

rantia de sua autonomia político-administrativa - em que pese a acolhida por
mentos, universidades ou institutos governamentais - a Sociedade deve ter
s próprios, incluindo recursos humanos e materiais

essários equipamentos especializados, contratos de manutenção, suprimento de
l de consumo e, em especial, meios de comunicação independentes.

sta de suficiência econômica-financeira foi conseguida na medida em que a
sou a desencadear trabalhos específicos para o efetivo estímulo à pesquisa e
licações através de projetos financiados.

ra adotada foi provocada pela situação econômico-financeira da SBM ao térmi-
IAM IV, em 1973, quando havia um débito de Cr$ 150.000 (na época equivalente
4.115).

utros problemas, que exigiam solução eram a melhoria do mecanismo de arreca-
as anuidades; expedição e controle da Revista de Microbiologia; diversifica-
mento no número de artigos submetidos para publicação; e, acima, de tudo, a
ca de condições para garantia da periodicidade e pontualidade da Revista de
ologia.

ais problemas foram resolvidos, a meta seguinte foi o aumento de artigos
nero da Revista; o aprimoramento da forma e conteúdo dos artigos; a redução
os de produção; e a conquista da circulação no exterior.

SBM dispõe de:

ca e ação efetiva para negociação de projetos que garantem o ingresso de
os financeiros para sustentação dos custos básicos da SBM;

mentos e instalações da ordem de Cr$ 150.000.000 (cento e cinquenta milhões
zeiros) (US$ 13.000);

e de material de consumo e de impressos especiais para atividades da SBM no
aproximado de Cr$ 80.000.000 milhões de cruzeiros (US$ 7.000);

em bancos, como reserva para construção da sede própria da Sociedade tota-
o Cr$ 600.000.000 milhões de cruzeiros (US$ 50.000).

Para 1986, está assegurada a produção da Revista de Microbiologia através da cadação das anuidades e de projeto em fase final de análise na FINEP (Prog Apoio a Publicações Científicas CNPq/FINEP).

Nos últimos 5 anos, firmamos 20 convênios, com entidades governamentais, dos 14 com a FINEP.

O fato, inquestionável, é que as fontes de recursos financeiros da SBM sempr incertas, colocando, em risco, a manutenção da estrutura técnico-administ consolidada nos últimos 7 anos e integralmente mantida por recursos captad SBM.

## INFORMAÇÕES INSTITUCIONAIS

A SBM foi fundada em 28 de setembro de 1956, como sociedade civil, sem fins tivos.
Surgiu da manifestação da vontade de microbiologistas brasileiros, que compu capítulo brasileiro da American Society for Microbiology, no Rio de Janeir sentiram a necessidade de ampliar a participação dos integrantes da comunida cional, que se desenvolvia.

Originalmente, a maior concentração de atividades em microbiologia, dava-se de medicina, tendo sido expandida, nos anos seguintes, para diferentes seto cio-econômicos.

A partir de 1973, quando a SBM realizou a GIAM IV - Quarta Conferência Inte nal sobre os Impactos Globais da Microbiologia Aplicada e a II ICCC - Segun ferência Internacional sobre Coleções de Cultura, ambas em São Paulo, ficou lidado o campo de atuação da SBM, em:
i . microbiologia agrícola
ii . microbiologia de alimentos
iii. microbiologia ambiental
iv . microbiologia básica
v . microbiologia industrial
vi . microbiologia médico-animal
vii. microbiologia médico-humana.

Atualmente, as atividades estão sendo concentradas nas seguintes modalida atuação:
i . planejamento de Ciência e Tecnologia (C&T)
ii . organização de cursos, reuniões e diversas modalidades de eventos afins
iii. articulação intra e interinstitucional
iv . publicações técnico-científicas.

A estrutura diretiva e operacional da SBM está composta dos seguintes níveis
i . Diretoria (Presidência, Vice-Presidência, Secretaria Geral e Tesouraria
ii . Conselho de Ex-Presidentes
iii. Comissões de coordenação de programas
iv . Quadro associativo.

Para a manutenção de atividades administrativas e gerenciais (a nível de p e projetos), conta-se com a participação de profissionais liberais remunera

As comissões de coordenação de programas são compostas por especialistas na cobertas, um deles designado para as funções de coordenação, por dois mec escolha pessoal da Presidência, em função de custos, proximidade, circuns envolvimento, motivação, competência e habilidade profissional; ou indicaç pares que, voluntariamente, aceitam convite da Presidência, para participar mulação de programas específicos.

O coordenador de comissão de programa, tem a prerrogativa de falar em nome toria da SBM, em matérias técnico-científicas e para definição de tendência políticas específicas de atuação, no respectivo programa. Todavia, os comp financeiros são, no geral, centralizados, a nível de unidade responsável pe dução de projetos financiados, porém, com a participação das comissões pert

membro, que não o Presidente da SBM, poderá ser autorizado a atuar como Dire-
ecutivo das atividades da SBM, sempre que houver conveniência operacional ou
Presidente encontrar dificuldades ou impedimentos, para exercer as funções de
sentação da entidade.

oria para o biênio (15/01/85 - 16/01/87)

sidência : Marcelo Magalhães, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50000 Recife PE, tel (081) 222-4700.

sidência : João Salvador Furtado, Instituto de Ciências Biomédicas USP, Av. Prof. Lineu Prestes, 1374, Cidade Universitária, 05508 São Paulo SP, tel (011) 813-9647. Designado Diretor Executivo.

etaria
l : Milton de Uzeda, Instituto de Microbiologia UFRJ, Centro de Ciências da Saúde, Bloco I - Ilha do Fundão, 21941 Rio de Janeiro RJ, tel (021) 270-8344.

uraria : Walderez Gambale, Instituto de Ciências Biomédicas USP, Dept? de Microbiologia, Av. Prof. Lineu Prestes, 1374, Cidade Universitária, 05508 São Paulo SP, tel (011) 210-4311.

ro associativo da SBM é composto das seguintes categorias:
ócio profissional
ócio acadêmico
ócio acadêmico-assinante
ócio patrocinador da Revista de Microbiologia
ssinante da Revista de Microbiologia

junto, os sócios realizam atividades de pesquisa, desenvolvimento experimen-
prestação de serviços técnico-científicos.

inistração interna executa funções de:
erência de programas (gestão, acompanhamento técnico-administrativo, orienta-
ão geral e treinamento de estagiários)
ssistência administrativa (coordenação de atividades de rotina e para orien-
ação de planejamento)
litoração de publicações e cadastros técnicos.

## ÇÕES SOBRE PROGRAMA E ATIVIDADES

imos dez anos, foram realizadas inúmeras atividades, relevantes para a ex-
da microbiologia, no Brasil. As informações, apresentadas a seguir, são re-
e divididas em dois blocos: programas em andamento e propostas para expan-

### as em andamento

sos, encontros e eventos afins
resso Brasileiro de Microbiologia (CBM)
orciona a oportunidade de interação entre os profissionais envolvidos em to-
as áreas da microbiologia e discussão de temas de amplo interesse.

ósio Nacional de Fermentação (SINAFERM)
to regular na área de fermentação, realizados desde 1974, com abordagem de
s específicos.

ntro Nacional de Micotoxinas
inado a reunir os profissionais envolvidos na área de micotoxinas, gerando
ramas, cursos e eventos específicos.

d. Encontro Nacional de Virologia
Este evento faz parte das diretrizes do Plano Integrado de Virologia.

e. Simpósio Nacional de Microbiologia de Alimentos
Segue a linha de outros eventos de integração de profissionais da área, co
nando esforços na área de alimentos.

f. I Simpósio Latino Americano sobre Produção de Biogás a partir de Resíduos
nicos
Evento específico, não regular, organizado devido ao interesse na área de
gestão

g. Simpósio Nacional de Microbiologia Ambiental
Simpósio realizado em cooperação com o CLAMA - Comitê Latino Americano de
biologia Ambiental. O evento visa a reunião de profissionais, para elabora
um programa na área.

h. Simpósio Nacional de Microbiologia Clínica
Simpósio desencadeado pela execução do programa da SBM para discussão de p
mas da área.

i. Co-participação
Atividades desempenhadas pela SBM em conjunto com outras entidades:
. Simpósio de Bioquímica de Microrganismos (UNESP)
. Encontro sobre Paracoccidioidomicose (UNESP)
. Encontro de Microbiologistas (UNESP)
. Simpósio sobre Resistência Bacteriana e Infecções Mistas (MSD)

j. Execução técnico-administrativas de eventos
A SBM é contratada por outra entidade para a organização e administraç
evento
. Encontro de Editores de Revistas Científicas CNPq/FINEP

**Publicações**

a. Revista de Microbiologia
Publicação trimestral, iniciada em 1970, destinada a artigos originais de
quisa e desenvolvimento, em todas as áreas da microbiologia.

b. Informações técnico-científicas
Produção de diferentes veículos de disseminação de informação.
b.1. Boletim Informativo - notícias diversas
b.2. Manuais técnicos em temas específicos
Já editados - Fermentações industriais e Transformações microbianas
lo: Novos métodos analíticos para o controle da ferme
alcoólica; Micobactérias; Infecções mistas.

Prontos para edição - Manifestações clínicas e diagnóstico micológico; Manu
normas técnicas de bacteriologia do IPB; Controle de q
de no laboratório de microbiologia clínica; Prevenção
fecções de laboratórios; Diagnóstico etiológico das
goencefalites bacterianas; Técnicas de levantamento da
flora telúrica e isolamento de fungos saprofíticos do

b.3. Diagnóstico - Considerações sobre o Projeto COBA (SBM 1982); Paracoc
domicose.

b.4. Cadastros - Controle e emissão de revistas e anuidades pagas; Ca
de Membros profissionais SBM; Cadastros de virologist
boratórios de análises clínicas; Ficologistas Latinoa
nos; Micotoxicologistas.

b.5. Inter-Vírus

**)biologia de alimentos**

programa inclui: a. realização de Simpósios Nacionais de Microbiologia de Ali-
)s; b. cursos e reuniões regionais, sobre temas específicos; c. organização de
:são Nacional e sub-comissões para temas específicos; d. atividades institucio-
para implantação de recomendações; e. cadastro de profissionais atuantes.

**)biologia industrial**

.zação de a. Simpósios Nacionais de Fermentação; b. cursos; c. Simpósio de Bio-
d. levantamento de oferta de P&D e serviços de digestão anaeróbia; e. publica-
e manuais; f. cadastro de atividades em microbiologia para produção de ener-
g. normalização de linguagem para avaliação de rendimento em biodigestores; h.
ionamento indústria-P&D, para produção de enzimas; i. aperfeiçoamento em simu-
e modelagem em processos fermentativos.

**icotoxinas**

grama de Monitoração e Controle de Micotoxinas abrange: a. Encontros Nacionais
cotoxinas; b. cursos; c. treinamento e assistência para implantação de redes
uais de laboratórios; d. padronização de técnicas e implantação de central de
ência; e. manuais técnicos; f. cadastro de especialistas.

**Programa Institucional de Desenvolvimento da Microbiologia**

na-se à institucionalização das atividades em microbiologia e inclui: a. le-
mento de atividades, especialistas e instituições atuantes, por região brasi-
; b. designação de Consultores, por área de microbiologia e contatos locais;
nálise e proposição de atividades, correlacionadas a programas de governo e d.
lização de Comissões Regionais (por área da microbiologia) e Nacionais (por se-
sócio-econômicos).

**ma Integrado de Virologia**

:etirzes deste programa foram assumidas pela FINEP e CNPq, convertendo-se no
ma Setorial de Virologia. A nível da SBM, as atividades incluem: a. manuten-
: comissão geral e sub-comissões para virologia básica, animal, de plantas, de
pública; b. execução de Encontros Nacionais de Virologia; c. cursos; d. Bole-
nformativo; e. geração de propostas de P&D, para temas específicos; f. cadas-
g. prêmio "Prof. Paulo de Góes".

**diologia clínica**

programa, estão incluídos a. Simpósios Nacionais de Microbiologia Clínica; b.
; c. manuais; d. Projeto COBA; e. Comissão de Combate à Infecção Hospitalar;
etins e informativos.

**s**

te na criação e outorga de honrarias e recursos financeiros, abrangendo: a.
Schering e b. Prêmio Prof. Paulo de Góes.

**cos**

/idades abrangem: a. geração de formulários, para levantamento de informa-
b. análise e tabulação de dados; c. arquivo em máquina EDIT, com busca sele-
: informação; d. produção de listagens.

**nento**

)rograma estão concentradas a organização e administração de numerosos cur-
nas mais diversificadas áreas da microbiologia, distribuídos nas seguintes
; categorias. a. cursos informativos, sobre temas específicos, ministrados
: congressos e eventos afins; b. cursos práticos, de execução irregular; c.
le educação continuada; d. curso para profissionais de instituições e empre-
rticularmente.

**Novos projetos**

Da reunião de idéias captadas via sócios, eventos da SBM ou indicação da diret são desenvolvidas propostas de projetos. O andamento dos projetos depende do dos órgãos de fomento e financiamento. Por isso, a SBM conta com projetos pr para implantação, aguardando apenas liberação de recursos.

**Novos talentos em microbiologia: nível de graduação**

A SBM desenvolveu estudos, com o objetivo de aumentar os conhecimentos microb gicos de estudantes de nível de graduação; selecionar novos talentos; prepar para a iniciação científica em microbiologia; e apoiá-los com atividades compl tares, compatíveis com suas vocações profissionais. Para tanto, foi elabora projeto "Novos Talentos..."

Esta atividade é baseada na realização de cursos, seleção e orientação para in ção científica dos talentos identificados.

**Expansão da Microbiologia Básica**

Com base nos dados produzidos através da execução do PID-Microbiologia, a SBM borou o Plano de Expansão da Microbiologia Básica no Brasil. O documento indic tratégia para preparação de recursos humanos, visando à configuração de grupo terdisciplinares, com formação básica a partir de bioquímicos, fisiologistas e neticistas, e formação complementar em biofísica, citomorfologia, ecologia, nharia bioquímica, estatística, matemática, química e taxonomia.

**Relação Universidade/Setores Econômicos**

Em janeiro de 1984, foi submetido ao Instituto de Ciências Biomédicas da Univ dade de São Paulo, proposta de implantação de atividades de docência, pesqu prestação de serviços técnico-científicos, no Departamento de Microbiologia, vel de pós-graduação e/ou especialização. Em essência, a proposta contém a de ção de estratégia para concepção de projeto básico, de expansão progressiva, do fortalecer as relações entre a microbiologia e os setores sócio-econômicos

**Avaliação de Desempenho Pós-Treinamento**

A SBM está direcionando esforços no sentido de estabelecer metodologia de ava dos cursos e de treinandos. O processo de avaliação prevê três fases distinta tes, durante e após o treinamento.

**Programa interdisciplinar de Patogenicidade Microbiana**

O grande avanço internacional obtido pelos conhecimentos na área da imunologi apoio maciço dado, em nosso meio, a algumas protozooses e helmintoses, foram, vez, fatores de desestímulo para que doenças de natureza bacteriana de grande vância para o nosso meio, deixassem de merecer a devida atenção dos órgãos fi dores de pesquisa. Justificativas falsas para esta situação residem não rar na afirmativa de que a Tuberculose, a Brucelose, as Micoses profundas entre o perdem sua importância frente as armas teóricas de combate existentes. Com vê-se o meio científico brasileiro desfalcado de pessoal de alto nível, cap só de gerar novos conhecimentos nesta área, bem como de direcioná-la adequad para seu fim maior que é o controle dessas enfermidades.

**Projeto: Gestão de Projetos de Pesquisa Científica**

Projeto encaminhado em 15/4/83 à FINEP, com o objetivo geral de aperfeiçoar a petência em gestão de projetos com vistas à qualidade de pesquisa científica giu da necessidade de aperfeiçoamento de recursos humanos nesta área de gest projetos que envolvem geração, adaptação e difusão de conhecimentos científi eventualmente, tecnológicos. Esta ação visa propiciar o estreitamento das re entre a FINEP e a comunidade científica, através da agência, para o desenvolv

tífico, pela melhoria da qualidade das propostas, da execução, do acompanhamen-
e da avaliação de projetos, com os seguintes objetivos: i. capacitar recursos
nos em gerência de projetos, através de treinamento voltado para o pesquisador,
ênfase em administração de pesquisa, e para o administrador, com ênfase em es-
ura de projetos técnico-científicos, ii. fixar a competência criada; iii. ela-
ção de manuais de gestão de projetos.

**CFERM Brasil-Japão: Programa Grupo de Especialistas em Tecnologia de Fermenta-
Brasil-Japão**

osta de criação do programa Ge-Tecferm Brasil-Japão, "Grupo de Especialistas em
ologia de Fermentação Brasil-Japão", envolvendo, pelo Brasil, a SBM - Sociedade
leira de Microbiologia, ABEQ - Associação Brasileira de Engenharia Química,
- Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo S/A e CNPq - Con-
) Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e, pelo Japão, a Society
rmentation Technology e Society of Agricultural Chemistry e JICA- Japan Inter-
nal Cooperation Agency. O objetivo do programa era estabelecer grupos de espe-
stas para discussão de temas específicos em tecnologia de fermentação, rele-
s para o desenvolvimento científico e tecnológico brasileiro.

**DECER: Rede Brasileira de Depósitos de Células de Referência (início - 1973)**

úmeras tentativas da SBM para a consolidação de unidades, dedicadas à manuten-
e coleções de células de referência, datam de 1973, quando o Brasil sediou, em
aulo, a Second International Conference of Culture Collections, sob os auspí-
da World Federation for Culture Collections.

77, foram iniciadas gestões, junto ao CNPq, para o assunto. Durante 1980, 1981
2, em oportunidades distintas, a proposta da SBM foi levada ao conhecimento do
e FINEP.

etivo é consolidar uma estrutura de rede livre, organizada, com intenso inter-
o e simultânea autonomia técnico-científica, uma vez respeitadas as normas de
ta comuns para: tipificação, segurança, controle de qualidade, registro, admi-
ação, intercâmbio, identificação, testes, etc. A unidade da rede seria garan-
pela Central de Referência.

**to Indústria**

do o desenvolvimento tecnológico no setor da Microbiologia industrial, a SBM
elaborando projeto para dinamizar, ou até mesmo criar uma interação entre o
científico da SBM e a indústria.

meira área de ação escolhida foi a de controle de qualidade biológico. Através
rego de técnicas apropriadas, treinamento e em alguns casos a inovação tecno-
a, pretende-se incrementar a área de controle de qualidade.

**ma Nacional de Digestão Anaeróbia**

nião de profissionais por ocasião do I Simpósio Latino Americano de Biogás,
u-se esforço para a produção de uma proposta de programa desencadeando ativi-
didáticas em níveis básico e avançado, consultoria, transferência e absorção
petência técnico-científica e eventos afins.

**tas de ação na área de fermentação**

e o VI SINAFERM - Simpósio Nacional de Fermentação (nov. 84), foram realiza-
uniões de grupos paralelamente ao evento, que resultaram em três propostas de
na área de fermentação:

envolvimento da enzimologia industrial
boração de reunião para discussão da situação da enzimologia industrial,
nto ao atual estágio de desenvolvimento e perspectivas.

b. Normalização de termos e métodos em digestão anaeróbia
Em digestão anaeróbia, a utilização de terminologia diversificada impossib
a comparação de resultados. Por isso, foi proposta a realização de reuniã
profissionais da área, para geração de documento contendo: i. definição de
mos e parâmetros para acompanhamento de processo e ii. metodologia comum
adotada.

c. Modelagem e simulação de processos fermentativos
O objetivo é definir estratégia de trabalho conjunto e coordenado, entre i
tuições que trabalham na área, para desenvolver, com profundidade adequa
aplicação técnica de modelagem e simulação de processos fermentativos.

**Treinamento**

Realização de 35 cursos, de curta duração, em diversas áreas da microbiologi
projeto doi submetido a duas áreas da FINEP, para financiamento, em março de 1

Em 30 de maio de 1984, foi submetida ao PADCT-Biotecnologia (CAPES), proposta
treinamento em processos e fenômenos de fisiologia e bioquímica de microrgan
relevantes para a biotecnologia. Segue abaixo a relação dos cursos propostos.

1 . Otimização de condições microbiológicas e enzimáticas para produção de qu
Coordenador: Alda L.L. dos Santos
2 . Bioinseticidas - Cláudio Messias
3 . Tópicos de enzimologia industrial - Michele Vitolo
4 . Biopolímeros bacterianos - Iracema de Oliveira Moraes
5 . Celulases: produção e aplicações - J.E. Thiemann
6 . Manutenção de linhagens de fungos - Adauto Ivo Milanez
7 . Conversão de biomassa em fertilizantes - Young Park
8 . Fermentação sólida para produção de enzimas industriais - Young Park
9 . *Zymomonas mobilis*: Potencial de uso em fermentação alcoólica - José Otam
de Moraes
10. Preparação de (GAMA-32P) e (ALFA-32P) nucleosídeos trifosfatos com alta
dade específica para estudos em biologia molecular - José Carlos da Costa
11. Controle químico, físico e biológico da digestão anaeróbia - José Santo G
12. Produção de antibióticos - Ana Maria Fuentes dos Santos
13. Fermentação anaeróbia - Rubem Pablo Schoken-Iturrino
14. Obtenção de hibridos de leveduras - Cecília Laluce
15. Produção de biomassa de algas unicelulares para uso industrial - José A.
berg
16. Fermentação alcoólica - Maria Cecília Mônaco Furletti
17. Identificação de leveduras - Maria José S.M. Giannini
18. Amostragem para microrganismos de solo - Sâmia M. Tauk
19. Enterobactéria - Deise P. Falcão
20. Aplicação de reações imunoenzimáticas Elisa-teste no diagnóstico microbi
- Hélio José Montassier
21. Manutenção de culturas bacterianas - Percy Sampaio Camargo
22. Técnicas de isolamento e identificação de vírus - Aramis A. Pinto
23. Infecções urinárias - Augusto C. Montelli
24. Identificação de germes patogênicos e antibiograma . Alexandre Adler Per
25. Infecção hospitalar - sem coordenador
26. Antibióticos na prática laboratorial - Elsa M. Mamizuka
27. Diagnóstico rápido de doenças microbianas - sem coordenador
28. Aspectos microbiológico e epidemiológico de doenças transmissíveis - sem
denador
29. Atividades biológicas de mixovírus - sem coordenador
30. Substâncias antivirais - sem coordenador
31. Marcadores genéticos em vírus - sem coordenador
32. Concentração e purificação de vírus - sem coordenador
33. Diagnóstico virológico em humanos - sem coordenador
34. Biologia de vírus de plantas - sem coordenador
35. Publicação em microbiologia: o artigo científico - sem coordenador

## ERAÇÃO INSTITUCIONAL

### CNPq

M e o CNPq firmaram protocolo de intenções para permuta de informações, suporte acional e prestação de assistência técnica.

### ocolo de cooperação SBM/MSD

M e a MSD (Merck, Sharp & Dohme) firmaram acordo de cooperação para fortalecer lacionamento entre geradores de ciência e tecnologia, no campo da microbiologia setor produtivo. As bases deste acordo se deram no sentido de estimular o de- olvimento da capacitação técnico-científica no campo da epidemiologia, implan- habilidades no campo de processamento de dados na área de informação técni- entífica e através da participação de laboratórios de análises bacteriológi- criar um painel da realidade brasileira em doenças causadas por microrganis-

### ocolo de cooperação SBM/B-D

M e a B-D- (Becton Dickinson Ind. Cirúrgicas S/A) manifestaram desejo de forta- o relacionamento entre a pesquisa e o setor produtivo, em benefício dos usuá- de C&T, através de um acordo de cooperação. A SBM teve a incumbência de mobi- microbiologistas brasileiros para delimitação de cursos e treinamento, também participação na elaboração de um manual de Referência Microbiológica.

és deste acordo a SBM conseguiu a criação do prêmio SBM-Becton Dickinson (vide os).

### ocolo de cooperação SBM/ACM

e a ACM (Asociación Chilena de Microbiologia) através de um protocolo de in- es, acertaram termos de cooperação mútua, visando a promoção de pesquisa e de- lvimento nas diversas áreas da microbiologia.

### ocolo de cooperação SBM/UNESP

ocolo de cooperação tem por objetivo definir temas para trabalho conjunto, a finalidade de desenvolver programas de pesquisa, desenvolvimento e serviços o-científicos, treinamento de pessoal e capacitação de recursos humanos, em as áreas da microbiologia.

### ação bilateral Brasil-Argentina

alistas brasileiros, através da coordenação da SBM, estão mantendo contatos irologistas argentinos para estabelecimento de programas bilaterais de coope-

## O PATRIMONIAL ENCERRADO EM 31.12.1985

**Ativo**

| | | | |
|---|---|---|---|
| circulante | | | |
| ível | | | |
| cta. movimento | | | |
| radesco S.A. | 634.521 | | |
| o Brasil S.A. | 4.082.893 | 4.717.414 | |
| os | | | |
| lso de despesas | 50.385.248 | | |
| recuperar | 53.722.378 | | |
| Financ. Merc. aberto | 68.477.000 | | |
| Financ. Crêd. Imob. | 555.801.866 | 728.386.492 | 733.103.906 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Despesas do Exercício seguinte** | | | |
| Seguros a vencer | | | |
| **Ativo Permanente** | | | |
| **Investimentos** | | | |
| Linhas Telefônicas | 9.581.100 | | |
| Ações Bradesco S.A. | 18.578 | 9.599.678 | |
| **Imobilizado** | | | |
| Móveis e Utensílios | 8.754.550 | | |
| Máqs. e Equipamentos | 40.529.513 | | |
| (-) Prov. p/ Depreciação | (14.349.702) | 34.934.361 | 44.53 |
| Total do Ativo ..... | | | 778.27 |

**Passivo**

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Passivo circulante** | | | |
| Honorários a pagar | | | 1.20 |
| **Exigível a Longo Prazo** | | | |
| Prov. p/ Eventos e Seminários | | | 300.00 |
| **Patrimônio Líquido** | | | |
| Superavit do Exerc. anterior | | 203.206.294 | |
| Cor. s/ Exercício anterior | | 445.773.649 | |
| Superavit do Exercício | | (171.907.288) | 477.07 |
| Total do Passivo ..... | | | 778.27 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| **(-) Deduções s/ os Créditos** | | | |
| Cor. Monet. do Balanço | | 411.930.350 | |
| Prov. p/ Eventos e Sem. | | 300.000.000 | |
| Devolução de Anuidades | | 84.423 | |
| Dev. de verba-CBM | | 34.166 | 712.0 |
| Resultado Final do Exercício ..... | | | (171.90 |

João Salvador Furtado
Atual Vice-Presidente e Execut
Programas
Sociedade Brasileira de Microbi
Av. Prof. Lineu Prestes, 1374
Cidade Universitária USP
05508 São Paulo SP

**XIX Congresso Brasileiro de Fitopatologia - Simpósio Latino Americano de Vir Vegetal: Informativo nº 2.**

Sob o patrocínio da Sociedade Brasileira de Fitopatologia, será realizado n tro de Convenções de Brasília, Brasília DF, nos dias 13-18 de Julho de 1986, Congresso Brasileiro de Fitopatologia - Simpósio Latino-Americano de Virolog getal.

ém das sessões técnicas, o programa abrange colóquios sobre patologia florestal
mentes, sessões de posters, visita a Centros de Pesquisas, Conferências, etc.
ra maiores informações: Dr. Hermínio Maia Rocha, CENARGEN/EMBRAPA, SAIN - Par-
Rural, Caixa Postal 202372, 70770 Brasília DF.

Gláucia de Camargo Furtado
Sociedade Brasileira de Microbiologia
Av. Prof. Lineu Prestes, 1374
Cidade Universitária USP
05508 São Paulo SP

**nberg, H.H.; Whitten, H.D. & Ambrogi, F. Immunomodulation: new frontiers and nces. New York, Plenum Press, 1983. US$ 65.00.**

unomodulação é uma área cheia de controvérsias e de grande relevância na clíni-
Poucas são as publicações que resumem seu avanço e ressaltam seu valor como ar-
o combate a tumores e imunodeficiências, de uma forma sistemática.
editores fazem votos no prefácio que o livro seja capaz de auxiliar na com-
nsão dos principais aspectos da imunomodulação, permitindo uma ação inteligente
icaz no manuseio dos principais agentes.
te livro é escrito por experientes e bem conceituados pesquisadores, que repor-
suas experiências, discutindo-as com a de outros especialistas da área. É agra-
l, esteticamente bem apresentado, capaz de oferecer resumidamente subsídios aos
ressados no assunto. A linguagem é clara na maioria dos capítulos, mas pressu-
m leitor familiarizado com imunologia. Como todos os livros multiautoriados, é
ível observar sobreposição de informações, que mais se completam do que se re-
a. O index de conteúdo e de palavras chaves é adequado, e as referências ao fi-
le cada capítulo são atualizadas e bem indicadas.

mportante ressaltar, que não se trata de um livro de terapêutica, no qual dro-
s doses podem ser rapidamente encontradas.
ivro inicia com um grupo de capítulos discutindo o papel de extratos e hormô-
tímicos na diferenciação dos linfócitos T humanos e seu efeito terapêutico nas
deficiências primárias e em alguns tumores. Nestes capítulos é ressaltado o
e número de fatores tímicos, bioquimicamente distintos, isolados na última dé-
Embora a abordagem seja adequada, alguns capítulos são discutidos superfi-
ente, não oferecendo ao leitor bases convincentes para a aplicação clínica
s fatores.
teriormente, outros autores comentam sua experiência clínica e laboratorial
extratos dializáveis de leucócitos, RNA imune, produtos bacterianos e interfe-
Entre estes capítulos, por exemplo, o papel fisiológico do interferon é bem
sado, mas os informes sobre seu papel imunomodulador e anti-tumor são insufi-
es.

apítulo sobre imunomodulação das infecções virais oferece informações relevan-
enquanto o que trata das infecções parasitárias escrito por Binaghi e colabo-
es é abrangente mas superficial. Os capítulos referentes ao papel imunomodula-
dos antígenos bacterianos, adenosina, deoxiadenosina, não convencem quanto ao
o terapêutico destes. Imunomoduladores sintéticos como levamisol, methisompri-
e outros como ciclosphorina A são também analisados. Da mesma forma, uma abor-
terapêutica e diagnóstica dos anticorpos monoclonais em pacientes imunodefi-
es e transplantados pode ser encontrada. Pouca ou nenhuma ênfase é dada a imu-
uladores, como o corticosteroide, amplamente utilizados na prática clínica que
em de informações adequadas para avaliação de seu uso.
ulmente, se trata de um livro bem editado, de interesse para os imunologistas
studiosos nas áreas de fronteira, que queiram familiarizar-se com diversos
es imunomoduladores. Apesar das observações acima contidas, eu recomendo este

livro, no intuito de chamar atenção para uma área pouco estudada entre nós grandes perspectivas terapêuticas futuras.

Alberto José Duarte
Disciplina de Imunopatologia
Faculdade de Medicina USP
Av. Dr. Arnaldo, 715
01255 São Paulo SP

**Huang, P.C.; Kuo, T.T. & Wu, R., eds. - Genetic engineering techniques: recent velopments. New York, Academic Press, 360p., 1982.**

Este volume reúne vários artigos e os protocolos de um curso prático sobre acima. Inicialmente há uma secção dedicada à revisões gerais sobre o estado d com artigos sobre metilação do DNA, superenrolamento e adenovírus. A técni clonagem de DNA é abordada indiretamente no texto através de 4 artigos que a problemas distintos. O problema da expressão de genes clonados é endereçado d ma maneira.

As perspectivas do campo são examinadas discutindo-se o uso de *B. subtilis* veículo de expressão de genes de eucariotos, a expressão de antígenos de hepa em células de mamíferos e o uso de anticorpos monoclonais.

o texto é mal integrado, as comunicações representando em geral apenas os resses dos autores e refletindo o seu trabalho, muito mais do que apresentan visão coerente e integrada da situação e do progresso na utilização das técni DNA recombinante.

A secção mais útil do livro reúne protocolos detalhados de algumas técnic grande aplicação: produção de anticorpos monoclonais pelo método do hibridom croscopia eletrônica, hibridização in situ para seleção de clones recombinant rivados de livrarias genômicas, transformação com DNA plasmidial e sua purifi purificação e uso de enzimas de restrição, preparo de gama $^{32}$p-ATP e marcaç DNA e seu sequenciamento segundo Maxam e Gilbert.

Francisco G. da Nóbrega
Instituto da Química USP
Caixa Postal 20780
01000 São Paulo SP

**Immunology Today, vol. 5(12):336-368, 1984. US$ Dfl. 120.00.**

Immunology Today veio há cinco anos preencher uma necessidade cada vez mais no campo da imunologia que é a de possibilitar aos interessados e estudios imunologia a atualização permanente, rápida e acessível a qualquer leitor.

Através de artigos, na sua maioria encomendados, abrangendo assuntos atuais fronteira permite uma leitura rápida e compreensível.

Simultaneamente todos os artigos permitem uma consulta bibliográfica, atra referências de maior significância e do melhor nível científico.

Cada volume apresenta artigos cuja forma é assim distribuida: Artigo de Re constituido de assuntos atuais onde estejam ocorrendo progressos rápidos; de compasso - constituidos de comentários críticos abrangendo um ou vários lhos recentes que trouxeram contribuições importantes; Artigos de Rostro - vendo opiniões pessoais, hipóteses e especulações; Cartas ao Editor - env comentários dos leitores a respeito de artigos recentes publicados em I.T.

Esta revista devido a sua atualidade, sua compactação e seu preço passou a tituir uma leitura indispensável aos pesquisadores, professores e alunos.

iste uma oferta de preço, muito especial para alunos de graduação e pós-gradua-

Thereza L. Kipnis
Instituto de Ciências Biomédicas USP
Dept? de Imunologia
Edifício Biomédicas III
Cidade Universitária USP
05508 São Paulo SP

**- Latin American Professorship Program**

**que é**

ɔgrama originalmente criado em 1964 por membros da Academia Americana de Micro-
ɔgia e tinha como objetivo dar assistência aos colegas latino-americanos a ex-
r a microbiologia pelo hemisfério.
1977 a responsabilidade do LAPP foi transferida para a ASM (American Society
icrobiology), como um grupo subordinado ao BET (Board of Education and Trai-
.
almente, a principal finalidade do Programa é de elevar a pesquisa e prática
icrobiologia nas regiões latino-americanas, através da realização de cursos em
os especializados, por cientistas altamente qualificados.

**mo atua**

APP é formado por um comitê cujos membros são indicados pelo Presidente da
por recomendação do superindente do BET. As pessoas que compõe este comitê são
epresentantes para uma ou mais regiões latino-americanas nos EUA. Na sua maio-
ão indivíduos familiarizados com recursos para microbiologia, conhecedores das
emáticas existentes, uma vez que exercem ou exerceram atividades na região pa-
ɟual foram designados representantes.
a membro do comitê seleciona um representante no país latino-americano, membro
4, e que preferencialmente tenha alguma experiência em organizar cursos atra-
ɔ LAPP.
ɔaso do Brasil, o representante local é a Sociedade Brasileira de Microbiolo-
ɹatravés de João Salvador Furtado.

**ɹue oferece**

ɔograma oferece a vinda de profesores altamente qualificados e membros da ASM,
ɹnistrarão cursos em centros especializados nas regiões latino-americanas.

**ɒo colabora**

**. Natureza dos cursos**

**Objetivo** - O assunto a ser abordado tem que ser baseado nas necessidades e
ferências regionais, tem que ser fundamentalmente sobre microbiologia ou di-
amente aplicável a problemas que vão de encontro ao bem estar social, tais
ɒ: saneamento, saúde pública, agricultura, processamento de alimentos, mani-
ação de drogas ou microbiologia industrial;

**A quem se destina** - Os cursos não são direcionados para pessoas leigas no as-
to, mas sim, para aquelas que já tiveram competência na área e desejam conhe-
entos adicionados;

**ɒuração** - Geralmente têm duração de 2 a 4 semanas. Cursos intensivos de 1 se-
ɹ também poderão ser feitos se devidamente justificados;

**ɟpoca de realização** - Poderão ser ministrados em qualquer época do ano desde
hajam entendimentos prévios com o professor convidado. Algumas vezes é van-
ɔso incluir o curso antes ou após um encontro nacional ou regional de micro-
ɔogia.

**4.2. Concessão de recursos**

A ASM garante: pagamento da viagem de ida e volta do professor convidado a gião latino-americana; custos de diárias e alimentação,somado a quaisquer d sas diversas durante o transito de viagem à região latino-americana. Adici mente, a ASM garante ao professor convidado US$ 100.00 por semana para curs 1-4 semanas.

Além dos itens acima mencionado, a ASM garante, se devidamente aprovado, o mento do mínimo de despesas extras, impossíveis da organização local arcar

**4.3. Encargos e responsabilidades**

**a. Comitê do LAPP** - Responsável pela aprovação dos pedidos para realizaç cursos. Esses pedidos são submetidos a voto durante a reunião anual da ASM são questionadas relevância dos cursos, disposição e facilidades já provid das que assegurem a eficácia do programa, garantia de que o professor con seja realmente membro da ASM, etc.

**b. Representante nos EUA** - Responsável em manter contato com o coordenador e ajudar na organização do evento junto a instituição que convida; contrib ra a definição do tema lembrando sempre que este deve ir de encontro às ne dades locais; dar assistência a problemas de identificação e comunicação professor convidado;

**c. Representante local** - Garantir que todos os arranjos preliminares, bem as facilidades, estejam asseguradas pela instituição local;

**d. Coordenador local e sua instituição** - Responsável pelos arranjos pr nares, que incluem: delineamento do tema; identificação do professor conv determinação da data e local a ser ministrado o curso; assegurar inscriç pessoal qualificado; determinar a fonte financeira para despesas que não cobertas pela ASM (transporte, hospedagem e alimentação durante o perío curso); cópia e impressão de material a ser distribuído pelo professor co do;

**e. Professor convidado** - Responsável pela elaboração do curso e produção d terial necessário para distribuição aos participantes.

**5. Procedimentos preliminares**

O pedido para realização do curso deve ser feito por um membro latino-ame local, sócio da ASM. Uma proposta específica deve ser submetida a ASM qu coordenador local considerar que os arranjos preliminares já tiverem sido fei

**6. Solicitação de formulários**

Sociedade Brasileira de Microbilogia, a/c João Salvador Furtado, Av. Prof. Prestes, 1374, Cidade Universitária USP, 05508 São Paulo SP.

**7. Encaminhamento e prazos**

É prudente encaminhar a proposta com pelo menos 9-12 meses de antecedência ta do curso. Como os pedidos são submetidos a voto, é conveniente garantir su messa com um mês de antecedência à reunião anual da ASM.

**8. Relatórios**

Após um mês do término do curso, o coordenador local submete ao representa EUA um relatório de avaliação que deve incluir comentários pessoais e dos tos, juntamente com quaisquer sugestões que sirvam para aperfeiçoar o progra

Gláucia de Camargo Furtado
Sociedade Brasileira de Microb
Av. Prof. Lineu Prestes, 1374
Cidade Universitária USP
05508 São Paulo SP

**rg-Holm, K. & Philipson, L. ed. - Virus receptors. Part 2 - Animal viruses. ork, vol. 8, Series B, 217p., 1981.**

ta-se de um livro que relata, em 11 capítulos, o princípio geral envolvido no hecimento de receptores virais em células eucarióticas. Dá ênfase a diversidade estruturas que constitutem sítios receptores de partículas virais. Fornece ncias de que a especificidade da interação vírus-célula é bastante acentuada, possível, pois, classificar as viroses em duas famílias distintas com base na iação vírus-receptor. O capítulo introdutório consiste de técnicas essenciais a medida da interação dos vírus com as células, incluindo alguns comentários entes a problemas técnicos na detecção da associação vírus-receptor durante o mento e caracterização do receptor "in vitro". Os diferentes segmentos da cação, apesar do elevado nível, são compreensíveis, redigidos por especialistas respectivas áreas e podem, portanto, ser consultados separadamente. Este e é de interesse não só para microbiologistas como também para bioquímico e gistas celulares e moleculares. Constitui também, por exemplo, um estímulo pautilização de vírus, com receptor de conhecida especificidade, para a caracteção de componentes celulares de superfície. Nesse sentido, em nossa linha de isa, foi utilizado o vírus Sendai, através reação de aglutinação em microscotica e eletrônica, para o reconhecimento de resíduos de ácido siálico expostos perfície celular de protozoários pertencentes ao gênero *Herpetomonas*.

Jayme Angluster
Instituto de Microbiologia da UFRJ
Centro de Ciências da Saúde
Bloco I - Ilha do Fundão
21941 Rio de Janeiro RJ

**biological Sciences, 1(1):1-28, April 1984.**

ca-se de um novo periódico mensal patrocinado pela União Internacional de Soles de Microbiologia (IUMS), da qual faz parte a SBM. A revista se propõe a ar revisões, artigos originais e cartas dentro de todas as áreas da microbio- com especial ênfase a bacteriologia, micologia e virologia. Além disso, tracada número uma revisão de cunho didático.
respondência para maiores informações ou exemplares deverá ser remetida para: ellScientific Publications Ltd., Osney Mead, Oxford OX2 OEL, England.

Ilvan D. Ricciardi
Instituto de Microbiologia UFRJ
Centro de Ciências da Saúde
Bloco I - Ilha do Fundão
21941 Rio de Janeiro RJ

**Landecker, E. & Cliffs, E.N.J. - Fundamentals of the fungi. 2.ed. New York, ce-Hall, 578p., 1982. US$ 39.95.**

anos após o lançamento da primeira edição do seu livro "Fundamentals of the surge a segunda edição, pela mesma editora, com modificações no formato e na ntação gráfica, além de razoável aumento do número de páginas impressas. Esta iação de alterações permitiu uma edição cujo conteúdo é 44% maior que o ante-

rnamente, a autora manteve a mesma estrutura básica do texto da edição antedividido em três partes: Morfologia e taxonomia; Fisiologia e reprodução, e a : Ecologia e utilização pelo homem.

A ampliação do texto se deu principalmente na primeira parte com a inclus novos grupos, como Trichomycetes e Endogonaceae. Por outro lado, houve apro mento de tratamento de grupos anteriormente mencionados. Ainda assim, os Myx tes continuam excluídos e as explicações da autora (página 19) não parecem se vincentes. Principalmente se atentarmos para o fato dela utilizar o esquema p to por G.C. Ainsworth (1973) para o tratamento desses organismos.

Ainda nesta parte do livro, há um certo desiquilíbrio no tratamento de grupos, que pode ou não se repetir em outros não analisados aqui com profund e que será ilustrado pela abordagem dada aos Mastigomycota. Inicialmente, a fugiu ao tratamento dado ao texto como um todo, para seguir a linha propos Sparrow (F.K. Sparrow) em 1973 e 1976. Neste último trabalho,o autor sugere a tência de dois grandes grupos ou séries nos Oomycetes, aos quais dá o nome d láxias": Saprolegniana (com seis famílias) e Peronosporacena (com três famí Não houve qualquer proposição nomenclatural de instalação dos táxons. Além sem qualquer justificativa maior aceita determinados grupos e rejeita outr proposta do maior estudioso dos fungos zoospóricos é coerente e avançada, mas incompleta. Em um livro didático como o analisado, não parece cabível aceita posta no estágio em que se encontra a de F.K. Sparrow. Além disso, os demais cialistas nos grupos envolvidos ainda não apresentaram as suas opiniões a re de tal esquema.

Por outro lado, nem todas as ordens são tratadas e nem poderia ser dife pois não haveria espaço suficiente para tanto. Porém, deveriam, no mínimo, s tadas, ou então uma observação, tal como consta na página 125 - "not treated her" seria suficiente. Diferenças a nível de ordem ou família poderiam ser c das como aparecem na página 104, sob a forma de quadro, porque seriam mais mente visualizadas.

No que diz respeito às demais partes (Fisiologia e reprodução e Ecologia e zação pelo homem) estas não foram sensivelmente ampliadas, porém sofreram a sária atualização.

O livro é profusamente ilustrado. Fotografias, microfotografias (óptica, e nica e de varredura) e desenhos a traço convivem em uma diagramação que poc clusive, fugir ao espaço destinado à mancha gráfica (páginas 34 e 35). Elas s qualidade variável, de razoáveis a excelentes, predominando porém, as últimas cas são muito claras (página 219), outras tantas carregadas demais (página prejudicando com isso a compreensão dos detalhes.

Os ciclos de vida, bem como os esquemas apresentados são de fácil assimilaç

Ao final de cada capítulo as referências foram ampliadas e atualizadas. O aos termos mais específicos foi facilitado pela inclusão de um glossário tamb dernizado. Índices para autores e assuntos completam o volume, cujo acabamer capa dura, é de boa qualidade.

O incremento na abordagem da taxonomia e da morfologia fez desta edição um mais aprofundado nestas áreas, sem porém deixar de tratar dos aspectos funda da fisiologia, bioquímica, ecologia, reprodução e utilização dos fungos pelo e nisto se distancia dos recentes lançamentos de livros similares, como a edição de "Introduction to fungi" de John Webster e a terceira edição de "In tory mycology", de C.J. Alexopoulos e C.W. Mims. O tratamento dado por Moo decker à utilização dos fungos pelo homem é excelente (p. 514-545).

Os iniciantes no estudo da micologia estão bem servidos pelos lançamentos citados e ainda terão uma oportunidade de comparar abordagens diferentes mesmo assunto: micologia.

Adauto Ivo Milanez
Seção de Micologia e Liquenolo
Instituto de Botânica
Caixa Postal 4005
01000 São Paulo SP

ien, S.J., ed. - **Genetic maps 1984. New York, Cold Spring Harbor Laboratory,** ›., 1984. US$ 33.60.

›ublicação Genetic maps resultou da 5ª Conferência Internacional sobre Mapea- › de Genes Humanos realizada em Edinburg, Escócia, em 1979. Esse congresso foi ıizado para discutir mapeamento gênico comparativo de mamíferos e a extensão de ;ões parentescas conservadas entre genes homólogos, durante a evolução.
mapas genéticos de muitos organismos que apareceram originalmente, em diferen- ›ublicações, tornavam o trabalho comparativo dessas estruturas quase que impos- .. A reunião desses trabalhos resultou no Genetic Maps 1, publicado em 1980.
›olume 3 de Genetic Maps 1984 apresenta-se atualizado e é surpreendente o núme- organismos envolvidos nessa compilação de mapas de ligação e de restrição. m 85 mapas que abrangem 75 diferentes organismos. São encontradas informações sas sobre o mapeamento de vírus bacterianos e de animais, bactérias, algas, zoários, fungos filamentosos e leveduriformes, nematóides, insetos, peixes, ios, roedores e outros mamíferos, aves, primatas e plantas.
sa edição aparecem também informações precisas referentes ao sequenciamento de s nucleicos e proteínas.
ta-se de um livro de grande interesse para aqueles que estão envolvidos em uer área de genética.

Sérgio Olavo Pinto da Costa
Instituto de Biociências USP
Cidade Universitária
Caixa Postal 11461
01000 São Paulo SP

**ıelhorar a apresentação em congressos**

longo de 15 anos, verifica-se que os eventos da Sociedade Brasileira de Micro- ;ia ainda surpreendem pela forma como grande parte de conferencistas e apre- lores de grandes temas, relegam técnicas didáticas básicas. A título de cola- io, são apresentados alguns pontos a serem considerados e se de interesse, di- lo.
›a conferência deve dar vida a fatos e idéias muitas vezes frias e impessoais ırados em textos. Para se atingir a este fim, o conferencista não deve se res- .r a repetições de textos; deve, sim, através de sua experiência, reflexão e crítico, vivificar as informações transmitidas. A exposição oral proporciona ınidade de esclarecimento de conceitos difíceis e enfatização de informações antes, desde que transmitidos de uma forma clara. Além disso, este tipo de ção é a maneira "econômica" de transmitir a informação que, de outra forma, ia a pesquisa, através de enorme quantidade de material, às vezes relevantes, é, sem importância. Outro aspecto a se considerar é que a apresentação oral ejo a que o conferencista selecione, compare, analise e sintetize, racional e osamente, a informação advinda de textos, periódicos e experiência pessoal. a-redonda ou painel, onde as apresentações orais se sucedem e particularmen- congressos, onde os debates deveriam ser a tônica do evento, os conferencis- evem criar atmosfera que permita perguntas e os coordenadores ou apresentado- evem cuidar para que as mesmas sejam respondidas, no período destinado aos s.
a apresentação exige aptidão técnica e cabaeria aos organizadores dos eventos r para este aspecto. É curioso como os alunos, de uma forma geral, têm muito consciência desta limitação que os próprios professores; mais curioso ainda é ando um daqueles alunos se torna professor, comporta-se da mesma maneira que rofessores!
:er a pretensão de abordar todos os pontos que favoreçam a boa apresentação, /antados alguns, a título de ponderações para expositores.
ıbelecer os objetivos da apresentação. No caso de mais de um, ter a certeza o plano expositivo permite a realização de todos eles.

2. Planejar a sequência de apresentação para evitar o fato muito frequente de
ceber, que, no meio de uma idéia, não ter completado a idéia anterior, lev
platéia à confusão.
3. Atentar ao limite de tempo; procurar encaixar, com senso de realidade, t
que puder no prazo estabelecido, para alcançar os objetivos propostos. Respe
tempo dos oradores seguintes!
4. Dar motivação a seu tema. É muito comum o apresentador partir do pressupos
que sua exposição despertará interesse dos assistentes, apenas porque ele p
se interessa, ou ainda de que a platéia irá compreender a matéria apresentada
plesmente porque ele a compreende.
5. Estar inteiramente familiarizado com o conteúdo da apresentação e tentar
zer quais as eventuais perguntas críticas dos assistentes e como respondê-las
6. Elaborar um esquema de notas sucintas e facilmente legíveis. Isto permit
desenvolvimento da apresentação, dentro de sequência conveniente, além de se
tir contra o esquecimento.
7. Não discursar, não ler nem regorgitar, decorativamente. O tom deve ser aud
natural. Ao falar ao microfone, certifique-se de que todos estão ouvindo. Lem
de que, se os assistentes não forem capazes de ouví-lo, sua apresentação se
fracasso! Olhar para a platéia e não para a janela, quadro negro ou paredes
deve perceber se está se comunicando e a vista é uma das formas de averiguaçã
8. Nem sempre a palavra é o único meio de comunicação. Utilize-se de materia
dio-visual ("slides", transparências, filmes), porém sem exagero. Inspecion
viamente a sala, a fim de verificar a propriedade de luz, ventilação, ruídos
posição dos lugares. Verifique, antes da apresentação, se os aparelhos estão
cionando. Caso vá usar o quadro negro, faça-o de forma legível e lembre-se do
ticipantes que estão no fundo da sala e que devem enxergar e entender o que f
crito. Isto é válido para transparências ou "slides". Procure colocar a info
de forma clara e não em tabelas ou gráficos, que não permitam ao assistente
brir os dados, considerados ou que devam ser importantes, ressaltados. Não
"slides" desnecessários, dizendo ao ser projetado, "este não é importante" o
mos em frente" (por quê os colocou, então?).

Um aspecto, que nem sempre cabe aos conferencistas e sim aos organizado
quanto ao horário das palestras; imediatamente após as refeições ou nas últi
ras da tarde favorecem a maior desatenção.

Sem ter tido a pretensão de explorar todos os aspectos relativos a este a
espera-se com estes comentários, fornecer subsídios aos conferencistas,
forma, tornar as reuniões mais atraentes e proveitosas.

Flávio Alterthum
Instituto de Ciências Biomédic
Deptº de Microbiologia
Av. Prof. Lineu Prestes, 1374
Cidade Universitária USP
05508 São Paulo SP

**Ratledge, C. & Stanford, J., eds. - The biology of the mycobacteria: immuno
and environmental aspects. New York, Academic Press, vol. 2, 554p., 1983. US**

Trata-se do segundo volume de uma série de dois, com 554 páginas, que po
dividido em três partes:
a. os aspectos imunológicos dos constituintes destes microrganismos no que d
peito ao papel como adjuvantes e antígenos; o espectro histopatológico das m
terioses, com ênfase na discussão do granuloma micobacteriano e na análise
pectro hanseniano; e, as interações parasito-hospedeiro, em que os fagócito
nucleares são analisados quanto as suas características "in vitro" e "in viv
sim como em relação ao seu ambiente intracelular; b. dedicada à aspectos rel
dos com as micobactérias encontradas no ambiente e sobretudo sua implicações
imunidade frente a tuberculose e a hanseníase, bem como a interferência com
nação BCG, e as micobacterioses que ocorrem em animais em condições naturai

ando entre outros aspectos, a vacinação e os diversos métodos diagnósticos; c.
cute doenças de possível etiologia micobacteriana, especificamente a doença
tinal inflamatória inespecífica (Chron) e sarcoidose.
ta-se de um volume de uma obra de revisão que na nossa opinião é importante
consulta em institutos, departamentos, etc, interessados em micobactérias e
acterioses.

Paulo Pinto Gontijo Filho
Instituto de Microbiologia UFRJ
Centro de Ciências da Saúde
Bloco I - Ilha do Fundão
Caixa Postal 68040
21941 Rio de Janeiro RJ

**ta Internacional de Laboratórios Médicos - Medilab, 2/3:1-56, 1985.**

evista Internacional de Laboratórios Médicos (MEDILAB) divulga trabalhos de
e interesse para os profissionais da área, satisfazendo plenamente os seus
sitos.
ia publicação inclui assuntos referentes a abordagens clínicas e laboratoriais
ea de bioquímica, hematologia, banco de sangue, imunologia e microbiologia,
ndo aspectos polêmicos e atuais de cada área citada, de forma objetiva e sin-
t. A qualidade dos trabalhos científicos divulgados nesta Revista é comparável
riódicos de alto nível da área. Além daqueles dados, a Medilab apresenta ain-
otícias de laboratórios de diversos países de vários continentes, divulgação
ernos aparelhos, equipamentos, reagentes químicos e biológicos de utilidade
ea, de forma bastante ilustrativa, além de publicações técnicas específicas
ivros, periódicos, catálagos e um intenso calendário internacional sobre
s como: congressos, simpósios, reuniões científicas, exposições de equipamen-
boratoriais da área hospitalar relacionadas a área.
revista é editada nos EUA, em vários outros idiomas além do inglês, o que
ta a consulta por profissionais de vários países.
a-se enfim de um veículo de divulgação de grande utilidade, não só para pro-
nais da área, mas também para estudantes, professores, pesquisadores, esta-
s, residentes, médicos, que mantêm estreito intercâmbio com o laboratório
o.

Elsa M. Mamizuka
Deptº de Análises Clínicas e Toxicológicas
Instituto de Química USP
Caixa Postal 20780
01000 São Paulo SP

**n, B., ed. - The herpesviruses. New York, Plenum Press, vol. 3, 416p., 1985.
.00.**

vro, terceiro de uma série sobre os herpes vírus, está dividido em nove capí-
segundo três linhas de discussão. Os capítulos sobre a epidemiologia e a la-
do vírus do herpes simples (HSV) como aqueles sobre as glicoproteínas codi-
s pelo HSV e o vírus da citomegalia (CMV), constituem uma introdução aos as-
da imunologia e patogênese a serem apresentados no próximo volume 4 da cole-

idemiologia do HSV é apresentada com base na sua disseminação nas populações
s através da sua característica fundamental que é estado de latência no hos-
).

Os mecanismos envolvidos na formação desta latência, inclusive os substrato
tômicos ao nível do sistema nervoso, são detalhados constituindo-se em um dos
interessantes capítulos do livro. O papel das glicoproteínas da membrana na
ção inicial da célula é discutido amplamente, considerando que estas proteína
recem não só na superfície da partícula viral, como na superfície de células
tadas produtoras de vírus, com implicações diretas na resposta imune.

Nos capítulos sobre o potencial de transformação do HSV e CMV, bem como so
papel do HSV em neoplasias humanas, apresenta-se uma avaliação crítica deste
plexos campos de pesquisa aos quais tem sido dedicados, nos últimos anos g
esforços, em especial sobre as bases genéticas da transformação morfológica.

Finalmente, nos capítulos em que se discute a transcrição do HSV e a biolog
lecular do vírus da pseudoraiva (doença de Aujeszky), apresentam-se dados de
significado especialmente no caso de vírus da pseudoraiva, para um melhor en
mento da biologia molecular dos herpes vírus em geral. Estes aspectos dever
mais amplamente discutidos nos próximos volumes da série.

Em resumo, trata-se de um livro de grande valor, como parte de uma coleçã
pode ser considerada indispensável aos que tenham interesse direto nos aspect
boratoriais do grupo e em biologia molecular de vírus em geral e mesmo para
lhor entendimento das expressões clínicas das infecções pelo grupo herpes.

Ressalta-se, não por último, a clareza do texto e das numerosas figuras que
tram a publicação.

Hermann Schatzmayr
Fundação Oswaldo Cruz
Deptº de Virologia
Caixa Postal 926
21040 Rio de Janeiro RJ

**Schenck, N.C., ed. - Methods and principles of mycorrhizal research. St. Pau
American Phytopathological Society, 244p., 1982. US$ 24.00.**

A obra editada por N.C. Schenck é constituída por 18 capítulos escritos p
nhecidos especialistas em endo e ectomicorrizas e inclue técnicas que ve
utilizadas em todo mundo.

Alguns capítulos abordam a morfologia, anatomia e histologia, incluindo
teóricas, principais características que permitem a delimitação de gêneros,
de coloração e técnicas para detecção de componentes orgânicos e inorgâni
cluindo enzimas.

A parte de ecologia, engloba principalmente técnicas para avaliação do núm
propágulo no solo, hiperparasitismo, variáveis ambientais, relações fungo-ho
ro e outros microrganismos do solo.

A fisiologia da associação fungo-planta hospedeira, juntamente com o probl
germinação dos esporos é o tema de outros 4 capítulos.

Além disso, os métodos de produção de inóculo e avaliação de inoculação, s
cutidos e mostram a possível aplicação prática das micorrizas em agricultu
florestamento e conservação do solo.

Finalizando, são abordadas algumas técnicas de radioisótopos e microscopi
trônica, mostrando seu uso no estudo das micorrizas.

O livro é portanto, muito oportuno, apresentando um condensado das inúmera
nicas e métodos para o estudo das micorrizas, desenvolvidas nos últimos 50
inclusão de princípios ou noções básicas, permite a utilização do livro tamb
principiantes no assunto e a relação das técnicas dá ao especialista uma av
rápida dos meios, já à disposição, evitando consulta aos numerosos traball
vêm sendo continuamente publicados em todo mundo.

n disso, a obra apresenta, para cada tema, uma bibliografia específica, o que ita sobremaneira o trabalho de todos interessados.

Vera Lucia Ramos Bononi
Instituto de Botânica
Caixa Postal 4005
01000 São Paulo SP

**WORLD BANK/WHO - Quartely Bibliography of Major Tropical Diseases, vol. 1-137, 1984, vol. 8(1):1-123, 1985.**

cial Programme for Research and Training in Tropical Diseases - O Programa Es- l para Pesquisa e Treinamento em Doenças Tropicais apresenta dois objetivos relacionados: a. Pesquisa e desenvolvimento de métodos novos e melhorados para olar seis doenças tropicais importantes - malária, esquistossomose, filariose, osomiose (Doença do sono e Doenças de Chagas), leishmaniose e lepra; e b. ecer as instituições nacionais, através de treinamento, para aumentar a capa- de pesquisa de países tropicais afetados por estas doenças.
segundo aspecto que o "Quarterly Bibliography of Major Tropical Diseases" é buído. Trata-se de uma bibliografia resultante da colaboração entre a "US Na- Library of Medicine" e o "UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research aining in Tropical Diseases". A partir do seu sistema de armazenamento de in- ão bibliográfica computadorizado (MEDLARS) a "National Library of Medicine" e cópias da bibliografia para impressão e distribuição pelo Programa Espe- Esta bibliografia relaciona todas as entradas pelo assunto e pelos autores. nalmente, muitas das referências na bibliografia têm resumos em inglês que em na seção dos autores.

Paulo Pinto Gontijo Filho
Instituto de Microbiologia UFRJ
Centro de Ciências da Saúde
Bloco I - Ilha do Fundão
21941 Rio de Janeiro RJ

# PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DE RESÍDUOS ORGÂNICOS

De 6 a 17 de dezembro de 1982, a SBM - Sociedade Brasileira de Microbiologi
CLAMA - Comitê Latino Americano de Microbiologia Ambiental realizaram o I Si
Latinoamericano de Produção de Biogás. Durante o evento, foram apresentadas
rências e comunicações a respeito de programas mantidos por agências governam
e empresas atuantes na área de energia.

Com as dificuldades encontradas para editar textos, relativos às apresen
durante o evento, a SBM inicia a divulgação de informações fornecidas pelos
res, através da Revista de Microbiologia.

Os artigos não foram submetidos à revisão editorial, na forma adotada pa
contribuições regularmente submetidas para publicação na Revista. Por razões
cionais, as matrizes não foram revistas pelos respectivos autores. Consequen
te, a editoração da Revista de Microbiologia antecipa o pedido de desculpas a
tores, pelos erros que vierem a ser introduzidos, inadvertidamente.

# BIOGÁS: PESQUISA OU APLICAÇÃO - PERSPECTIVAS

Elfride Anrain

Fundação de Amparo à Tecnologia e ao
Meio Ambiente FATMA
Caixa Postal 1254
88000 Florianópolis SC

A Fundação de Amparo à Tecnologia e ao Meio Ambiente - FATMA, é o orgão e
responsável pela preservação dos recursos naturais e controle da degradação
tal, em Santa Catarina.

Por ser um Estado de significativa exploração agropecuária e de indústria
mentícias, também são representativas as cargas orgânicas poluentes produzid

No início de 1979, buscando soluções para a disposição final adequada dos
duos gerados pela criação de animais confinados, especialmente suínos, uma
de alternativas técnico-econômicas, entre elas, dispersão no solo, lagoas
bias, aeróbias ou aeradas, bem como biodigestores indicou as vantagens dest
mo, como um instrumento de saneamento rural, além de produção de energia e d
fertilizante.

Os biodigestores em nº de 221 para o setor rural são hoje divulgados pela
Eletrificação Rural de Santa Catarina ERUSC, como fonte energética em áreas
vidas de eletrificação e também através da EMATER-SC, o que tem inclusive pe
a fixação do homem à terra evitando, em alguns casos, o êxodo rural, pela m
da qualidade de vida alcançada.

Continuando em seus estudos para o tratamento das cargas poluentes a FATMA
a adequação do modelo de biodigestor ao tipo de efluente a ser tratado. Resi
características mais fluidas, com grandes vazões mas também menor concentra
cessitam de equipamentos que propiciem um tempo de retenção hidráulico, co
com o necessário aos tratamentos físico-químicos ou biológicos aeróbios co
nais, isto é, em torno de horas.

A crise energética mundial, também permitiu que o tratamento anaeróbio, c
desde os primórdios, fosse reestudado e testado em universidades e centros
quisa como uma opção saneadora mais convincente e atrativa economicamente.

A experiência bem sucedida na Europa, mormente na Holanda foi aplicada no
para o tratamento de efluentes líquidos industriais de características not
orgânicas.

Rev. Microbiol., São Paulo, 17(1):95-97, Jan./Mar. 1986.

mportância da produção de álcool, a partir da cana-de-açúcar, com a consequen-
ração do vinhoto a níveis nacionais, representa algo semelhante à produção de
ios pelo processamento de mandioca na produção de amido e álcool, em Santa Ca-
a.

cargas orgânicas lançadas em época de safra conferem ao rio condições compro-
oras, chegando inclusive a remover totalmente o oxigênio dissolvido das águas.
características peculiares de nosso estado levaram a realização das pesquisas
n andamento.

*isa aplicada ao tratamento de efluentes - 1. Biodigestor em fluxo ascendente
esíduo de fecularia* - O biodigestor piloto usado no experimento, com um volu-
6,5m³, caracteriza-se pela alimentação em fluxo ascendente, formação de leito
do microbiano na porção inferior do reator e existência de decantador interno
ção superior.

nte a operação de 1981, em 74 dias de fermentação, obteve-se um tempo de re-
hidráulica de 2 dias e uma taxa de aplicação orgânica de 8,4kg DQO/m³.d, com
ficiência em destruição de sólidos voláteis e totais, bem como redução de DQO
em torno de 90%.

síduo de fecularia usado para alimentação do reator apresenta DQO média em
de 6.000mg/l e DBO em torno de 3.500mg/ml.

am adicionados nutrientes na forma de fosfato de amônia $(NH_4)_2 HPO_4$ e uréia,
omo usou-se cal hidratado $Ca(OH)_2$, para a elevação de pH de um valor original
a 4,5, ou mais, antes da introdução do influente no reator.

ndimento do gás manteve-se crescente e os resultados obtidos, extrapolados ao
ento global dos resíduos gerados no processamento de mandioca para produção
do, com o uso direto do gás produzido para a geração de vapor para consumo na
a indústria permitiria a substituição de 77% de lenha consumida. Como o ba-
energético de uma fecularia é bastante deficitário, além de um sistema de
ento dos efluentes tem-se a produção de uma fonte energética de utilização
ta.

peração de 1982, buscou-se a otimização econômica da pesquisa pela escolha
criteriosa dos parâmetros de acompanhamento analítico, isto é, realizando me-
mero de análises físico-químicas e escolhendo parâmetros mais significativos.
ém, adotando-se uma relação de nutrientes mais flexível como $\frac{DQO}{350} = \frac{N}{5} = \frac{P}{1}$, po-
eliminado uso de fontes externas de nitrogênio e fósforo.
n sendo, um controle laboratorial mínimo considerado satisfatório para a se-
a da operação seria composto de:

es do influente e efluente:
aracterização: pH, DQO, DBO, N e P
limentação: pH, DQO
es de biomassa: ST, SV, SST, SSV.

.inidade total e bicarbonato e acidez volátil são fundamentais para o período
matação e de aplicação de cargas orgânicas crescentes e análises devem ser
das diariamente.

elevação de pH e para propiciar o tamponamento do sistema acrescentando su-
e alcalinidade passou-se a preferir o uso de bicarbonato de sódio, em subs-
o a cal hidratado.

sultados desta operação estão ainda em processamento.

*igestor rural para resíduos animais* - O biodigestor rural é resultado de
o com outras instituições do Estado e coube à FATMA a operação e acompanha-
nalítico.

modelo misto, construído em concreto, com duas câmaras, sendo uma para fer-
o ácida e a outra para fermentação metanogênica, e adotando recursos opera-
como a quebra do sobrenadante por descompressão do gás armazenado, evitando
peças móveis de mistura e homogeinização.

za esterco de suínos para alimentação e está em fase decrescente do tempo de
o hidráulica (atualmente 26 dias).

ostras são coletadas em sete pontos, ou sejam, influente, efluente e cinco
rior do reator.

Por ser uma biomassa de alta concentração é preferível para a caracterizaçã cargas de carregamento, o uso de expressão de sólidos totais e voláteis ao in DQO, mais usado para águas residuárias.

Objetiva-se além da produção de biogás, a determinação da redução de orga patogênicos do esterco, permitindo a aplicação mais diversificada do bioferti te.

**3. *Biodigestor em fluxo ascendente para efluente de industria têxtil*** - A densidade de indústrias do têxtil em Santa Catarina, a necessidade de trat que demanda, através dos processos físico-químicos ou biológicos aeróbios, si cativos investimentos e/ou existência de grandes áreas disponíveis levou a FA testar, em escala de laboratório, o efluente desta atividade industrial em gestores tipo fluxo ascendente e leito de lodo anaeróbio.

Estão sendo realizados 6 ensaios em reatores de 1 litro, fundamentalmente testes de digestibilidade.

Apesar da grande diversidade de componentes químicos e da potencialidade de alguns destes componentes presentes no efluente têxtil os resultados até alcançados não apresentam sinais de inibição a nível significativo.

No reator de 30ℓ, em fluxo ascendente é observada a remoção da carga po em termos de Demanda Bioquímica de Oxigênio.

Operando com um tempo de retenção hidráulica de 1 dia, a DQO tem sido r crescentemente indicando a aclimatação microbiana a esta nova biomassa.

Como o pH deste efluente é alcalino (pH = 10-12) um floculante de caracter alcalinas como é a cal não seria o mais adequado.

Estão em testes o uso de outros produtos auxiliares da coagulação para mel formação de flocos mais densos e decantáveis buscando a utilização global do pamento UASB, que é a soma de um processo de filtração, digestão e decantaçã

**4. *Biodigestor em fluxo ascendente para efluente do processamento de cana-de*** - Buscando, especialmente, a melhoria da formação de grânulos, característic liar do modelo de biodigestor adotado, está sendo operado um reator em esc laboratório (30ℓ).

Os critérios de partida e aclimatação que propiciam a granulação, entre são: a. necessidade de usar-se grandes quantidades de inóculo, isto é, adaptado em outros reatores; b. permitir ótimo crescimento bacteriano suple a alimentação com adição de nutrientes extrato de fermentos e fertilizantes ciais; c. manter a temperatura próxima a 35ºC; d. usar vários tipos de i dois ou mais para obter-se diferentes microrganismos; e. usar um inóculo de manter o pH próximo a neutralidade; g. reciclar o efluente para recuperar mi nismos; h. manter um baixo tempo de retenção hidráulica (em torno de 1 di manter a taxa de lodo em torno de 0,6kg DQO/kg SSV.dia (relação alimento:mi nismos). Para partida usar 0,05kg DQO/kg SSV.d; j. ter ácidos voláteis em altos e observar a sua degradação; l. possuir íons divalentes. Ex: $Ca^{2+}$ par recer a floculação.

Uma biomassa com excelentes propriedades de granulação pode ser usada para tida de outros reatores, como acontece atualmente na Europa.

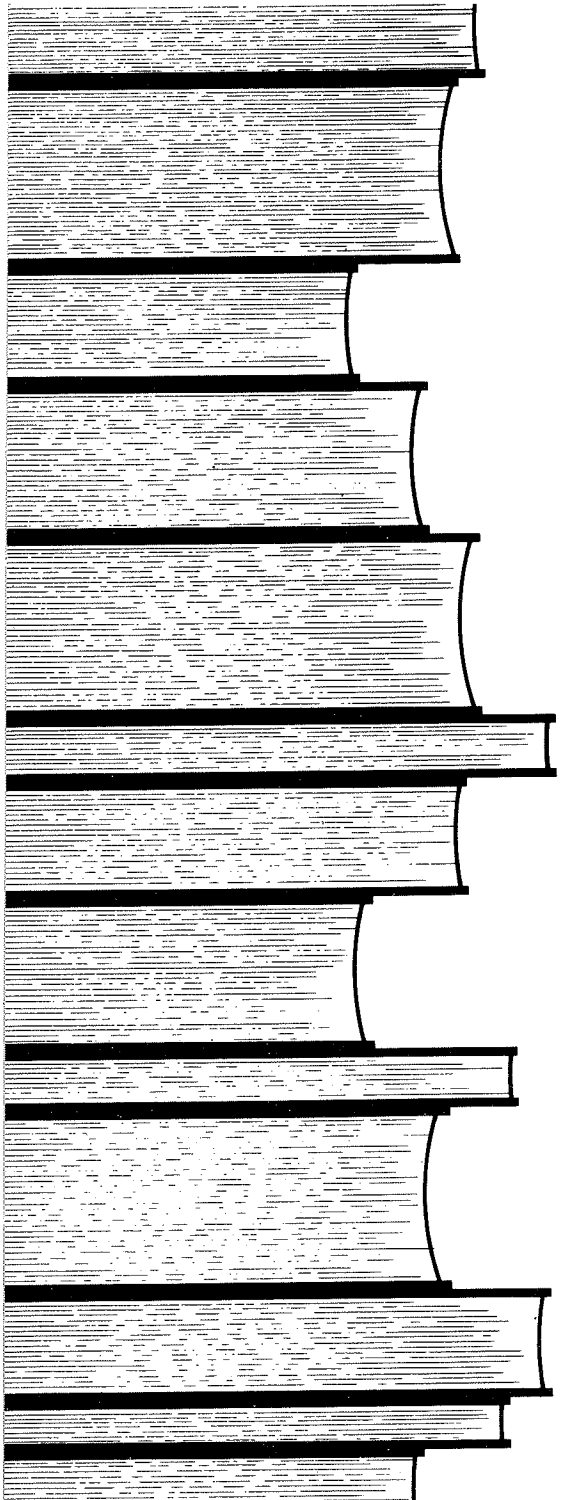
Estes são os experimentos ora em operação e o objetivo que perseguimos é dos resultados satisfatórios em escala de laboratório e de demonstração, a ção diversificada e ampla do processo para, ao comprovar a praticabilidade ternativas mais econômicas, acelerar a recuperação da qualidade ambiental d Estado.

Impresso em offset

GRÁFICA EDITORA HAMBURG

Avenida Bogaert, 64
Vila das Mercês São Paulo
Fone: 914-0233
CEP 04298

com filmes fornecidos pelo editor



# Através
# COMU
# você pas
# a ter aces
# ao acer

# periódic
# c
# princip
# bibliotec
# do P

Informe-

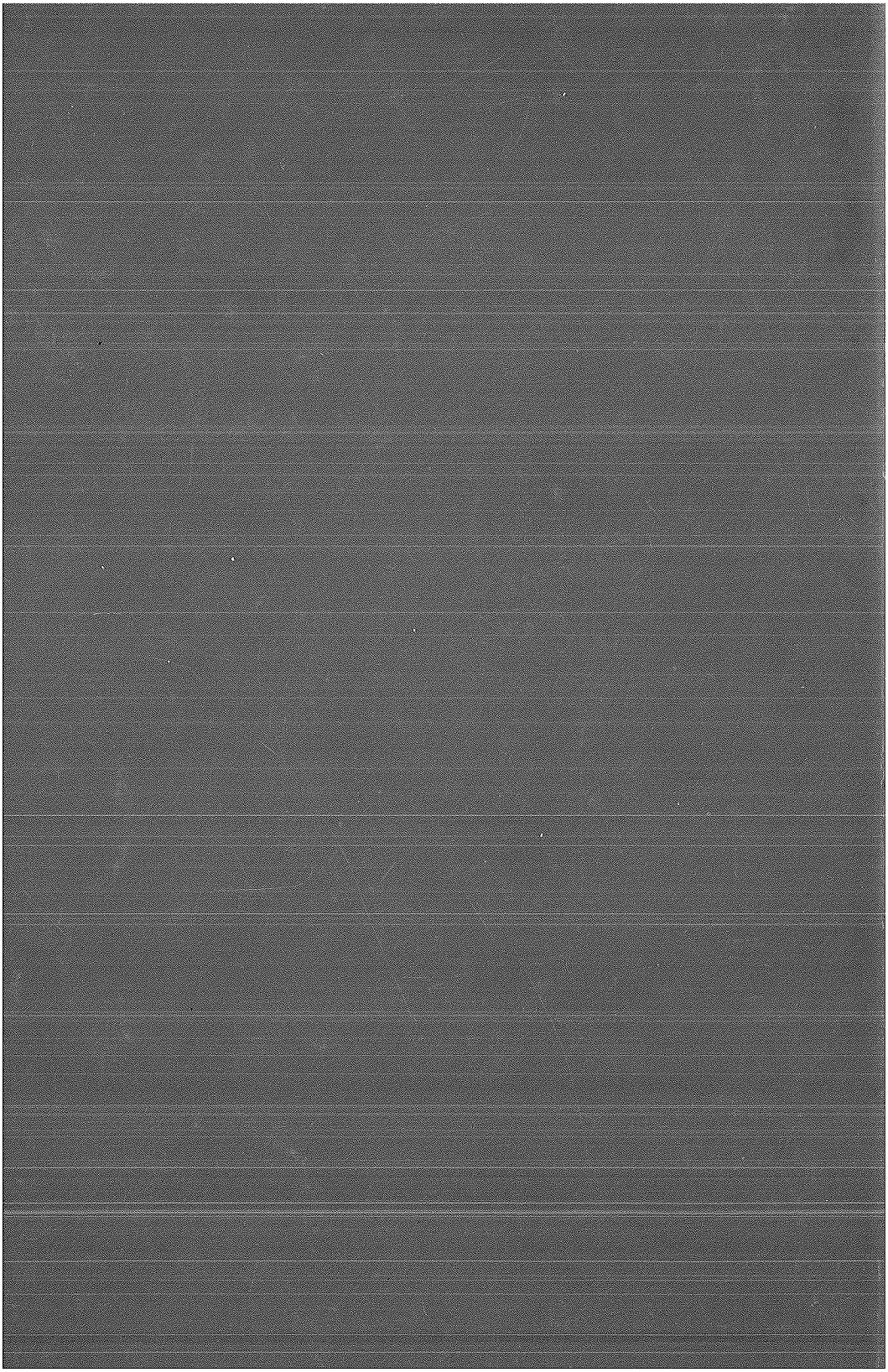
**SISTEMA DE INTERCÂMBIO BIBL**

junto à Secretaria Executiv

Ministério da Educação e Cultura — Anex

Caixa Postal 07/1127 — CEP 70000 —

Tel.: 226-457

Telex: (06

COMUT PROG DE CO BIBLIO