

# Revista de Microbiologia

**RESUMOS**

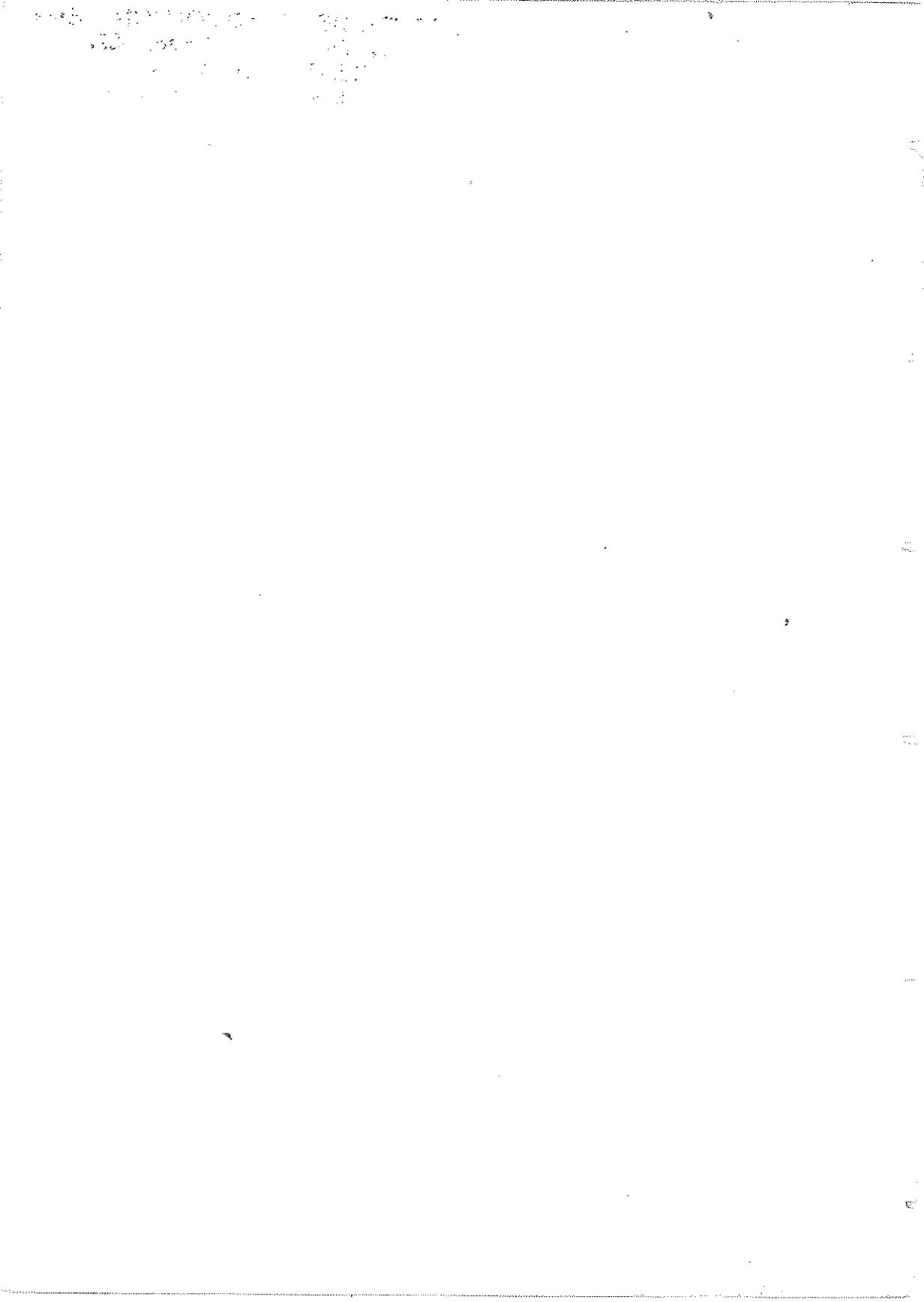
*XV Congresso  
Brasileiro de  
Microbiologia*

**SBM**

Sociedade  
Brasileira de  
Microbiologia

São Paulo — Brasil

Volume 20, Suplemento 1, Julho 1989





REVISTA DE MICROBIOLOGIA - SBM

Av. Prof. Lineu Prestes, 1374

Cid. Universitária - USP

Revista de Microbiologia 05508-900 São Paulo/SP

Sociedade Brasileira de Microbiologia

**Diretoria**

**Presidente**

Maria Therezinha Martins  
Inst. de Ciências Biomédicas/USP  
Deptº de Microbiologia  
Av. Prof. Lineu Prestes, 1374  
05508 São Paulo - SP

**Vice-Presidente**

Walderez Gambale  
Inst. de Ciências Biomédicas/USP  
Deptº de Microbiologia  
Av. Prof. Lineu Prestes, 1374  
05508 São Paulo - SP

**Secretária-Geral**

Lúcia Martins Teixeira  
Inst. de Microbiologia-UFRJ  
Centro de Ciências da Saúde - Bl. 1  
Ilha do Fundão  
21944 Rio de Janeiro - RJ

**Tesoureiro**

Leonardo Perego Jr.  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas/USP  
Conjunto das Químicas  
Cidade Universitária  
05508 São Paulo - SP



## XV CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA

16 a 20 de Julho de 1989

Campus da USP de Ribeirão Preto

### COMISSÃO ORGANIZADORA

**Presidente de Honra:** Carlos Solé-Vernin  
**Homenageado Especial:** Octávio Barachini  
**Presidente:** Julieta Ueta  
**Coordenador:** Célio Lopes Silva  
**Secretário-Geral:** Cláudia Maria Leite Maffei  
**Tesoureiro:** Carlos Emílio Levy  
**Divulgação:** Brasilina de Campos S. Cerqueira  
**Diretor Social:** Ana Lúcia da Costa

**Comissão Científica  
Central:**

Ana Lúcia da Costa  
Ana Maria Palermo Cunha  
Branca de Oliveira Santos  
Brasilina de Campos S. Cerqueira  
Carlos Emílio Levy  
Célio Lopes Silva  
Cláudia Maria Leite Maffei  
Julieta Ueta  
Maria Aparecida de Araújo  
Sérgio L. Souza Salvador

**Comissão Científica  
Regional:**

Aramis Augusto Pinto  
Ely Nahas  
Manoel Victor F. Lemos

USP

Universidade de São Paulo  
Coordenadoria de Atividades Culturais

Capa - Arte-Final: Cida Santos |  
Fotolito e Impressão: Divisão de Artes Gráficas  
A produção deste trabalho (miolo) foi realizada  
a partir de originais fornecidos pelo cliente.

Apoio Financeiro:



CNPq



finep



## RESUMOS

Os trabalhos foram classificados conforme as áreas abaixo:

Microbiologia Agrícola .....	(A)	1 a 24
Microbiologia de Alimentos .....	(B)	25 a 68
Microbiologia Ambiental .....	(C)	69 a 90
Microbiologia Básica .....	(D)	91 a 148
Microbiologia Industrial .....	(E)	149 a 178
Microbiologia Médico-Humana .....	(F)	179 a 360
Microbiologia Veterinária .....	(G)	361 a 384

Observação: A classificação dos resumos em uma das áreas da Microbiologia foi a critério da comissão organizadora e pode não traduzir a intenção dos autores.



## INDICE DE AUTORES

- Abe, L.E. - B1, B27  
Abramo, C. - G10  
Abrantes, M.R. - F144  
Adelino, M.G.F. - F52  
Albertini, P.E.G. - G6  
Aleixo, J.A.G. - D14  
Almeida Cunha, B.C. - D17, D25, E7  
Almeida, M.L. - D16  
Aivariza, M.C.B. - D19  
Alves Cassini, S.T. - A17  
Alves, E.N. - F150  
Alves, J.D. - A11  
Alves, L.M.C. - A20, A21, A22  
Alves, R.M. - C10, F83, F84  
Alves, R.S.A. - D53  
Alviano, C.S. - D4, F171  
Avila-Campos, M.J. - F47  
Amaral, M.P.H. - D27  
Amperssam, M. - F175  
Andrade, A.V.M. - E3  
Andrade dos Santos, J. - G5  
Andrade Filho, G. - A10  
Andrade, G.M. - F161  
Andrade, G.P. - F58  
Andrade, M.L.H. - D34  
Andrade, M.V. - D23, D33  
Andrioli, J.L. - G2, A23  
Angelo, M.J.O. - F182  
Angluster, J. - D4, F171  
Antunes, R.V. - E25  
Anunciação, C.E.A. - A13  
Aquarone, E. - D52, E8, E9, E27  
Aragão, G.M.F. - B30  
Araújo Barreto, N. - F50, F110  
Araújo, C.R.C. - D57  
Araújo, E.F. - A13, B9  
Araújo, F.V. - C7, C8  
Araújo, J.M. - E18  
Araújo, M.A. - F122  
Araújo, M.A.V. - C13  
Araújo, M.C.R. - F23, F112, F113  
Araújo, M.L.C. - G2  
Araújo, R.F. - A12  
Aristides, S.M.A. - F174  
Armôa, G.R.G. - F150  
Aspfeil, M.I.R. - F78  
Assis, C.M. - F157, F176  
Assis, M.B. - F86  
Aulino Silva, O. - A14  
Austrian, R. - F1  
Avila, C.J. - A11  
Avila-Campos, M.J. - D13, F47  
Avila, F.A. - G6, G14  
Azevedo, D.O. - F124  
Bacarati, M.C. - D58  
Bacci, Jr., M. - D45  
Balan, R.G. - F74  
Baldi, M. - B24  
Banzatto, D.A. - C21  
Baptista, R. - A1  
Barbosa, A.D. - F76  
Barbosa, A.J.A. - F16, F17, G11  
Barbosa, A.T. - G21  
Barbosa, F.A.R. - C19  
Barbosa, G.C. - C16  
Barros, H.C. - F65, F66  
Barros, T.F. - F175  
Baruffaldi, R. - B16  
Basilio, C.A. - F19  
Batista, T.G.F.M. - F6, F7, F61, F102  
Bauab, T.M. - F79, F80  
Bechara, G.H. - G15  
Bedendo, J. - F100, F120  
Benchesrit, L.C. - D4, D5, D6, D7, D8, D9, D10, F4, F5, F6, F7, F8, F9, F10, F11, F61, F101, F102  
Berbert, M.A. - E14  
Berchieri, Jr., A. - G14  
Berchielli, S.C.P. - G14  
Bertolini, M.C. - E28  
Blake, P.A. - F89  
Boffo, M.M.S. - D19  
Bonifacio-Souza, E.M. - F162, F163, F182  
Borges, M.R.S. - D19

- Borges-Neto, A.A. - F2  
 Bosshard, R.R. - A16  
 Botosso, V.F. - F182  
 Boughton, E. - G16, G17, G18, G19, G20  
 Brandileone, M.C.C. - F14, F32, F137, F138  
 Bravo, V.L.R. - F90  
 Breda, M. - D26  
 Bregano, J.W. - D16  
 Bronharo, M.C. - F126  
 Bueno, O.C. - A14  
 Buff, K. - A6  
 Buschinelli, S.S.O. - F14, F135  
 Cai, S. - F129  
 Calazans, G.M.T. - E19, E26  
 Caldas, F.T.P. - D45  
 Calderaro, L.F. - D49  
 Caliri, M.H.L. - F37, F38, F42, F43, F105, F106  
 Calzada, C.T. - F51, F91, F114, G10  
 Camargo, Z.P. - F156  
 Campanharo, J.C. - A20, A21  
 Campello-Costa, C.H. - G5  
 Campos-Takaki, G.M. - E29, E30  
 Campos, V.L.B. - A16  
 Candeias, J.A.N. - F89  
 Candido, R.C. - F156, F179  
 Capalbo, D.M.F. - A8  
 Cardoso de Almeida, A.E.C. - D20, D22, D24, D28, F149  
 Cardoso, C.L. - F100, F120, F126  
 Cardoso, D.B.S. - F171  
 Carlos, I.Z. - F171  
 Carnieto Jr., A. - F74  
 Carvalho Alves, P.H. - A7  
 Carvalho, A.C.T. - G9, G11  
 Carvalho, A.S.T. - F17, F18  
**Carvalho, J.C.A.P. - B20**  
 Carvalho, J.L.S. - D23, D33  
 Carvalho, J.M.C. - E9, E27  
 Carvalho, M.A.R. - D13, F47, F140, F141  
 Carvalho, M.G.S. - F154, F155  
 Carvalho, M.T.F. - F179  
 Casa Grande, S.T. - F14  
 Castellucci, R.A. - F158  
 Castelo Filho, A. - F88  
 Castro, A.C.D. - D4, D5, D7, D9, D10, F61, F101  
 Castro, A.F.P. - F87, F72, F73  
 Castro, E.A.R. - F115  
 Castro, L.B.A. - D56  
 Castro, H.F. - D56  
 Castro, M.T.F. - B33, B34  
 Castro, M.V. - G1  
 Castro, O.C. - F122  
 Cavalcante, A.V. - D35  
 Cavalcanti, S.M.F. - D35  
 CavaSin-Oliveira, G.M. - A23  
 Cavazzana Jr., M. - A10  
 Ceballos, B.S.O. - C12, C14  
 Ceccato-Antonini, S.R. - D18  
 Cerqueira, B.C.S. - D2, F3, F30  
 Cerqueira Filho, F.J. - F21  
 Cesario, R.M. - E26  
 Chacon-Reche, N.O. - F169  
 Chartone-Souza, E. - D13  
 Churata-Masca, M.G.C. - A15  
 Cianciaurillo, T.I. - F119  
 Cintra, O.A.L. - F30  
 Cisalpino, E.O. - D13, F47, F140, F141, G9  
 Clementino, M.B.B. - F25  
 Coelho, A.F. - F58  
 Coelho, C.A.R. - F21  
 Coletto, G.M. - C1  
 Colman, G. - F11  
 Colombo, A.J. - D25, D27  
 Colombo, S. - F56  
 Corrêa, B. - F162, F163, F167, F169, F170, F180, F181, F182, G21  
 Correa, C.M.C. - F143  
 Costa, A.L. - F99  
 Costa, C.P. - D29  
 Costa Teles, M. - A23  
 Covissi, V.D.S. - G7  
 Cristovão, E.G. - B14  
 Croci, J. - F180  
 Cruz, S.H. - D50  
 Cunha, A.M.P. - F36, F37, F38, F40, F41, F42, F43, F105, F106, F107  
 Cunha, F.Q. - D2  
 Cunha, R.A.F. - F35

- Cunha, S.P. - F36, F37, F38,  
 F40, F41, F42, F43, F105,  
 F106, F107  
 Cury, A.E. - F163  
 D'Almeida, J.M. - C22  
 Damasceno, C.A.V. - D13, F47,  
 F140, F141  
 Danelli, M.G.M. - F148  
 David, C.M.N. - F142  
 David, M.T.S. - F118  
 Decarlis, R.M.S.T. - F15, F21,  
 F117, F131  
 De Lemos, E.A. - F164  
 DellagosTin, O.A. - D14  
 Del Negro, G.B. - F176  
 Destro, M.T. - B11, B12  
 Dias, A.M.G. - F91, F95, F114  
 Dias, E.S. - A12  
 Dias, J.C.A.R. - F127  
 Dias, J.M.C.S. - A9  
 Dias, M.F.B.F. - F146, F147  
 Dias, T.C. - B17  
 Döbereiner, J. - A4  
 Domingues, R.M.C.P. - F48, F59,  
 F60, F108  
 Duarte, A.N. - F90  
 Duarte, G. - F36, F37, F38, F40,  
 F41, F42, F43, F105, F106,  
 F107  
 Duarte, R. - F90  
 Duranti, M.A. - D26  
 Efstratiou, A. - F11  
 Ehara, M. - F77  
 Eizuru, Y. - F58  
 El Faresi, W.A. - F139  
 Enrici, M.C. - A12  
 Ernandes, J.R. - D50  
 Ernandez, D. - C9, C11, F85  
 Escobar, C.A.M. - E29, E30  
 Esper, M.R.N.R. - B33, B34  
 Espírito Santo Filho, A.R. - D57,  
 E3  
 Esteves, A.C. - D23, D33  
 Falcão, D.P. - B3, C2, C3, C4,  
 D1, F23, F24, F79, F80  
 Faintuch, B.L. - D52, E8  
 Faria, F.P. - F72  
 Faria, M.M.G. - F13  
 Farias, L.M. - F47  
 Farias, R.C. - F150  
 Fava Netto, C. - F175  
 Favarin, V. - B8, B28  
 Felipe, I. - F161, G8  
 Felipe, M.G.A. - D54, E6  
 Ferez, M.C.C. - F30, F63  
 Fernandes, I.V.L. - C17  
 Fernandes, J.B. - A14  
 Fernandes, M. - C5  
 Fernandes, M.J.S. - B30  
 Fernandes, R.M. - F130  
 Fernandes, S.A. - F77, F91,  
 F135  
 Ferracini Junior, R. - C4, C5  
 Ferraz, M.M.G. - F87  
 Ferreira, A.P. - F149  
 Ferreira, A.W. - F177  
 Ferreira, B.T. - D4, D6, D7, D8,  
 D9, D10, D12, F10, F61  
 Ferreira, I.V.L. - C17  
 Ferreira, J.V. - F151  
 Ferreira, M.C. - D29, F48, F59,  
 F60, F108  
 Ferreira, M.S.S. - D57, E3  
 Ferreira, S.H. - D2  
 Figueiredo, A.M.S. - D4, D7, D8,  
 F8, F9  
 Figueiredo, J.A.B. - F25  
 Filippis, I. - D20, D24, D28  
 Filho, F.C.D. - B7  
 Fischmann, O. - F156, F179,  
 F181  
 Fonseca-Faria, G.V. - C7, C8  
 Fonseca, I.M.G.F. - E25  
 Fonseca, L.S. - F118, F145,  
 F151  
 Fonseca, M.E. - D7  
 Fonseca, M.E.F. - G12  
 Fontes, E.M. - B24  
 Forjaz, M.H. - F156, F179  
 Formiga, L.C.D. - F148  
 Fracalanza, S.E.L. - D6, D12, F2,  
 F62, F103  
 França, F.P. - D53, E13, E20,  
 E22  
 Franco, G.M.O. - C7, C8  
 Franco, R.M. - B20  
 Franzot, S.P. - C18  
 Frederico, I.C. - B43

## IV

- Freire, J.A. - D17, E7  
 Freitas, A. - B33, B34  
 Freitas, A.C. - F26  
 Freitas, F.I.S. - F125  
 Freitas, R. - D37  
 Fressatti, R. - B40, F173, F174  
 Fuentes, A.M. - D27  
 Funai, C.H. - E18  
 Furlanetto, M.C. - F75  
 Gallardo Arriagada, F.O. - A17  
 Gambale, W. - F162, F163,  
 F167, F169, F170, F180,  
 F181, F182, G21  
 Gandia, C.R.P. - F157  
 Garcia, A.G.P. - F45  
 Garcia Jr., O. - D55, D30, E12  
 Garcia, L.B. - F120, F126  
 Garcia, M. - A16  
 Garcia, N.M. - F176  
 Garrido, T. - B25  
 Gaspari, E.N. - F33, F34  
 Gatti, M.S.V. - F87  
 Gelli, D.S. - B15, B33, B34  
 Genaro, G. - G2  
 Ghenglesh, K.S. - F81, F97  
 Ghilardi, A.C.R. - F33, F34  
 Giampaglia, C.M.S. - F33, F67  
 Gilio, A.E. - F76  
 Gil, M.L. - B2, F53  
 Gil-Turnes, C. - D14, D15  
 Gimenez, Jr. L. - E23  
 Giraldi, R. - F71  
 Gironi, R.H.A.R. - F27, F46,  
 F112, F113  
 Giudice, M.C. - F157, F165  
 Goes, D.S. - B19, C22, F20  
 Goes, I.E.C. - F23  
 Goldoni, J.S. - E18  
 Golman, G. - F11  
 Gomes, L.H. - E2  
 Gomes Pereira, M.M. - B5  
 Gomes, T.A.T. - F68, F88, F89,  
 F128, F130  
 Gonçalves, A.A.M. - D2, F3  
 Gonçalves, C.R. - F51  
 Gontijo Filho, P.P. - F115, F118,  
 F119, F142, F143, F145,  
 F151, F152  
 Gontijo, M. - F140, F141  
 Graton, S.M. - B13, B14  
 Graziano, K.U. - F119  
 Guerra, J.B. - E1  
 Guerreiro, H.M.N. - F154, F155  
 Guevara-Guevara, M.A. - B5  
 Guimarães, V.F. - C13  
 Guimarães, W.V. - A13, B9, E24  
 Guth, B.E.C. - F70, F71, F89,  
 F128  
 Gutierrez, I. - B25, B26  
 Hachich, E.M. - A16  
 Hagler, A.N. - A7, B28, B29, C7,  
 C8, C13  
 Hamdan, J.S. - F175  
 Harnich, F.A.R. - A19  
 Hebling-Beraldo, M.J. - A14  
 Hering, S.E. - F23  
 Herrero, F. - B36, B37, B38,  
 B39, B40, F173, F174  
 Hirooka, E. Y. - B36, B37, B38,  
 B39, B40, B41, B42  
 Hofer, E. - C9, C10, C11, F19,  
 F83, F84, F85  
 Hokka, C.O. - E15  
 Honda, C.S. - A9  
 Hoshino-Shimizu, S. - D1, D3  
 Ichikawa, T. - F153  
 Ichinose, Y. - F77  
 Irino, K. - F32, F51, F112, F135,  
 F137, F138  
 Isaac, M.L. - F63  
 Ishibashi, M. - F77  
 Ito, C.H. - F167  
 Ito, H.T. - F97  
 Ito, I.Y. - F98, F123, F124  
 Ito, L.M.S. - F123  
 Itow-Jankevicius, S. - A10, D16  
 Iwasso, M.T.R. - F178  
 Janene, S.M.A. - D16  
 Jankevicius, J.V. - A10  
 Jessouroun, E. - E21  
 Johnson, D.R. - F5  
 Jorge, J.A. - D38, D39, D40,  
 D42, D43, D44, D47  
 Jourdan, M.C. - C22  
 Junqueira, M.T.M. - F3  
 Jurgensen, C.A. - D31, F44, F45,  
 F49, F50, F104, F110  
 Jurgensen, L.D. - F44, F104

- Kaku, M. - B33, B34, F31  
 Kano, E. - F91, F95, F96, F114  
 Kasuya, M.C.M. - A11, A12  
 Kato, M.A.M.F. - F95  
 Kemmelmeir, C. - E10  
 Kobayashi, A.H. - F74  
 Konig, A. - C17, C16  
 Kosawa da Costa, A.M. - C7, C8  
 Lacava, P.M. - A1, C20, C21  
 Ladeira, E.M. - F7  
 Lage, A.P. - F16, G11  
 Laller, R. - G6  
 Landgraf, I.M. - F28, F29, F31, F32, F52, F137, F138  
 Langenbach, T. - A5, A6  
 Langenegger, C.H. - G1, G13  
 Langenegger, J. - G1, G13  
 Laporta, M.Z. - F69  
 Larsson, C.E. - G21  
 Laurino, J.P. - D19  
 Leal, M.C. - F90  
 Leal, S.C.M. - D32  
 Leite, C.Q.F. - C2, C4, C5  
 Leite, F.P.L. - D15  
 Leite, S.G.F. - E20, E22  
 Leite, V.H.R. - G12  
 Lemos, E.G.M. - A18, A19, A20, A21, A22  
 Levy, C.E. - F2, F3, F23, F24, F27, F46, F99, F112, F113, F158  
 Liberal, M.H.T. - G16, G17, G18, G19, G20  
 Lima e Silva, A.A. - C9  
 Lima e Silva, F.H.A. - F150  
 Lima, G.S.C.T.C. - G7  
 Lima, M. - F144  
 Lima, M.C. - B15  
 Lima, T.M.O. - F70  
 Linardi, V.R. - E1  
 Linardi, M.I.J. - F58  
 Linhares, M.I.S. - F58  
 Lirio, V.A. - F176  
 Lomar, A.V. - F54  
 Lomazi, E.A. - F87  
 Lopes, C. - B25  
 Lopes, H.R. - B35  
 Lopes, J.N.C. - F40, F41, F107  
 Lopes, M.F. - D11  
 Lopes, S.A.R. - E11  
 Luna-Alves Lima, E.A. - D32  
 Luna, L.L. - F19  
 Machado, J.O. - A15, A23  
 Machoshvili, I.A. - B1, B27, D25  
 Maffei, C.M.L. - A23, F158, F168, F172  
 Magalhães, A.P. - E4  
 Magalhães, F.A.C. - F48  
 Magalhães, H. - G3, G4, G5  
 Mamizuka, E.M. - D3, F86  
 Mancilha, I.M. - D46, E6, E16, E17  
 Mano, D.M.S. - A5, A6  
 Marin, J.M. - D37  
 Marques, E. - C1  
 Marques, S.A. - F178  
 Martinez, M.B. - D1, D3  
 Martelli, H.L. - E5  
 Martins, E.R. - E10  
 Martins, F.M. - F115  
 Martins, I. - D32  
 Martins, J.F. - F149  
 Martins, J.R.P. - F175  
 Martins, M.C. - F153  
 Martins, M.T. - C1  
 Massaguer, P.R. - B30  
 Massara, M.L.A. - F13  
 Massuda, A. - F177  
 Mattos, M.C. - F2, F10, F62  
 Mazzocato, T.S. - A23, F168, F172  
 Medeiros, M.A. - F145  
 Medeiros, M.B. - D48  
 Melhem, M.S.C. - F164, F165, F166  
 Meirelles, M.C.A. - F156, F179, F181  
 Meireles Neto, J.R. - G10  
 Melles, C.E.A. - F1, F52  
 Melles, H.H.B. - F56  
 Melo, Z.A. - B23, B24  
 Melo, G.R. - F13  
 Melo, M.S.F. - F57  
 Melo, S.A.C. - F116  
 Mendes, E.N. - B17, F16, F17, F18, F22, F93, F94, G11, G12  
 Mendes-Giannini, M.J.S. - C15, F164, F176, F177

- Mendes, R.P. - F178  
 Mendonça-Hagler, L.C. - A7, C7, C8, C13  
 Menicucci, S. - B15  
 Merquior, V.L.C. - D4, D6, D7  
 Mesquita, A.J. - B6, B7  
 Mesquita, A.L. - B23  
 Mezzacapa Neto, B. - F28, F29  
 Michelin, L.A. - F15, F131, F132  
 Miguel, M.A.L. - B32, F78  
 Milagres, A.M.F. - D46, D49  
 Milagres, L.G. - F14, F92, F96  
 Milhomem, A.M. - F82, F146, F147  
 Mimica, I. - F139  
 Minamishina, Y. - F58  
 Miranda, M.A.R.B. - F35  
 Miyazaki, N.H.T. - D21  
 Mocelin, A.O. - F74  
 Mortana, R.A. - F65  
 Montassier, H.J. - G15  
 Montassier, M.F.S. - G15  
 Monteiro, A.C. - C21  
 Montelli, A.C. - F15, F111, F117, F132  
 Monti, R. - D43  
 Moraes, I.O. - A8  
 Moraes, R. - F164  
 Moraes, R.A. - C15  
 Morais, J.O.F. - E18, E25, E26, E29, E30  
 Moreira, Y.K. - B21, B22  
 Moritani, M. - G21  
 Moriya, T.M. - F100, F120  
 Moro, E.M.P. - B10  
 Moro, M. - F164  
 Motos, J.R. - A15  
 Moura-Costa, J.E.C. - C10, F83, F84  
 Moura, S.B. - F18, G12  
 Muchovej, J.J. - D58  
 Muchovej, R.M.C. - A11, A12, A13  
 Muniz-Medeiros, M.I. - G5  
 Nadaletto, M.E. - F24  
 Nader Filho, A. - G14  
 Nakahara, L.K. - F91, F92, F95, F114  
 Nakamura, T.V. - F126  
 Nami, A.T. - F4  
 Nassu, M.H.T. - C22  
 Neme, S.N. - F31  
 Nery, T.L.V. - E25, E26  
 Neto, J.A. - D17, E7  
 Neves, M.S. - C6, F82  
 Niffineger e Souza, D. R. - A13  
 Nigri, A. - F64  
 Nogueira, A.P.A. - F13  
 Nogueira, A.V. - A11  
 Nogueira, D. - B27  
 Nogueira, M.G.A. - B21, B22  
 Nogueira, R.S.P. - F19, F127  
 Noleto, A.L.S. - B2, B35, F78  
 Noronha, J.C. - F13  
 Novo, M.T.M. - E12  
 Nunes, M.P. - B10, C6, F26, F82  
 Oliveira, C.C. - B8  
 Oliveira, C.M. - F103  
 Oliveira, L.A.T. - B20  
 Oliveira, M. - A2  
 Oliveira, M.G. - F92, F96, G10  
 Oliveira, M.R. - B9  
 Oliveira, M.S. - D51, E11  
 Oliveira, N.C.A. - F124  
 Oliveira, R. - C14, C16, C17  
 Oliveira Santos, B.M. - F121  
 Oliveira Silva, P.P. - B8  
 Oliveira, S.S. - F109  
 Oliveira, T.C.R.M. - B40, F173  
 Oliveira, V.A.B. - A11  
 Ortolan, M. - F33  
 Pacheco, C. - D16, G8  
 Pacheco, M.A.S.R. - B33, B34  
 Pagnano, L.M. - F168, F172  
 Pagnocca, F.C. - A14  
 Palaci, M. - F153  
 Palazzo, S. - F170  
 Palhano Junior, L. - F152  
 Pardini, P.M. - B15  
 Pasquali Jr., E. - F180  
 Paula, C.R. - A23, F162, F163, F167, F169, F170, F180, F181, F182, G21  
 Paulillo, A.C. - G14  
 Paulino, O.F.T. - E15  
 Pavan, M.F.B. - D3  
 Pedroso, M.Z. - F68  
 Pelayo, J.S. - B3, B4, B14

- Pellizari, V.H. - C1  
 Penna, F.J. - F93  
 Peraçoli, M.T.S. - F178  
 Peralta, J.M. - F148  
 Peralta, R.M. - D44  
 Pereira, E. - A3, A4, F150  
 Pereira, J.A.A. - F116  
 Pereira, L.H. - G9  
 Pereira, M.M. - D19  
 Peres, A.G. - F118  
 Perez, J.N. - B17  
 Perrone, V.R.S. - F23, F112, F113  
 Perugini, M. - D16  
 Pessoa, G.V.A. - F92, F96, F133, F134  
 Pessoa da Silva, L.G. - F44  
 Pestana de Castro, A.F. - F72, F73, G9  
 Peters, V.M. - G10  
 Pietro, R.C.L.R. - D39, D40, D47  
 Pilon, J.R. - E28  
 Pimentel, M.C.B. - D57  
 Pinheiro, M.S. - B18, B19, F20  
 Pinho, S.Z. - F111  
 Pinto, A.A. - G15  
 Pinto, A.G. - D51, E11  
 Pires, L.T.A. - D36  
 Pires, M.F.C. - F157, F165, F166  
 Pisani, B. - B33, B34  
 Pitombo, R.N.M. - D26  
 Polizeli, M.L.T.M. - D47  
 Poloni, C.R.A. - D30  
 Pomeroy, D. - E5  
 Porfirio, L.C. - G13  
 Prade, R.A. - D41, D46, D48, D49  
 Pradella, J.G.C. - D51, E11  
 Prata, A.M.R. - E16  
 Presman, R. - B43, F64  
 Pukinskas, S.R.B.S. - F157, F165, F166  
 Purchio, A. - F157, F162, F167, F169, F181  
 Queiroz, D.M.M. - B17, G11, G12, F16, F17, F18, F22, F93, F94  
 Queiroz de Freitas, M.A. - G3, G4, G5  
 Quintana, J.L. - G6  
 Raddi, M.S.G. - F39  
 Raimundo, S.M.C. - B8  
 Ramos, S.R.T.S. - F66, F89  
 Raskim, M. - F29  
 Rassi, V. - F89, F97  
 Ratto, M.A. - B25, B26  
 Raymundo, N.L.S. - F47  
 Regua, A.H. - F90  
 Reis, E.M.F. - F19  
 Reis, E.P. - F149  
 Reis, J.H. - B21, B22  
 Reis, R.B. - B13  
 Renault, C.P. - C19  
 Resende, L.M.H. - F22, F93  
 Resende, M.A. - C18, C19, F175  
 Ribas, J.T. - D14  
 Ribeiro, C.C. - F44  
 Ribeiro, E.G.A. - B33, B34  
 Ribeiro, J.L. - B6, B7  
 Ribeiro, R.V. - C10, F83, F84  
 Ricci, L.C. - F72, F73, F87  
 Ricci, T.A. - C15, F164  
 Ricciardi, I.D. - B10, C6, F26, F82  
 Rios, E.M.M. - E18, E25, E29, E30  
 Robbs, P.G. - B8, B28, B29  
 Robbs, W.K. - B8, B29  
 Roberto, I.C. - D54, E6  
 Rocco, J.R. - F142  
 Rocha, C.L. - D22  
 Rocha, E.R. - F136  
 Rocha, G.A. - F16, F17, F18, G11, G12  
 Rocha, G.M. - F30, F63  
 Rocha, M.M.M. - B33, B34, F29  
 Rodrigues, D.P. - C10, F83, F84  
 Rodrigues, M.B. - A7  
 Rodrigues Valido, C.M.S. - F19  
 Romano, V.P. - D31  
 Romão, C.M.A. - D21  
 Romero, E.C. - F55  
 Rosa, C.A. - C18  
 Rosado, A.S. - F109, B31, B32  
 Roselino-Ribeiro, A.M.F. - F168, F172  
 Rugani, C. - C20  
 Sá, P.M. - B31



CONTRIBUIÇÃO DA CIANOBACTÉRIA Nostoc muscorum NA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO PARA A CULTURA DO ARROZ IRRIGADO

P.M. LACAVAL & R. BAPTISTA

Da superfície do solo de cultura de arroz irrigado (Município de Barrinha, SP), isolou-se a cianobactéria Nostoc muscorum, que foi purificada e mantida em meios de WH - MBL, MFDA, CHU/TO e Rodhes VIII. Para o experimento em vasos, o solo utilizado foi Terra Rocha estruturada, série varzea, analisado mecânica e quimicamente. A variedade de arroz empregada foi a IAC - 435 e a cianobactéria inoculada através de suspensão. Os dois tratamentos empregados foram cultivo do arroz em vasos durante 32 dias e inoculação do N. muscorum em intervalos de aproximadamente 4 dias, num total de 30 dias, com cultivo em seguida do arroz por 32 dias. Ao fim do período constatou-se: a) acréscimo significativo do peso da matéria seca aérea e radicular; b) acréscimo significativo na concentração de nitrogênio total na parte aérea; c) acréscimo significativo na concentração de  $NH_4$ , mas não de  $NO_3$  no solo e d) promoção da manutenção da fertilidade nitrogenada no solo.

ESTUDO DO CRESCIMENTO DE Acetobacter diazotrophicus NA PRESENÇA DE DIVERSOS AMINOÁCIDOS E PRODUÇÃO DE FITOHORMÔNIOS.

M. Oliveira; M.P. Stephan

Laboratório de Bioquímica - EMBRAPA/UAPNPBS

O crescimento de Acetobacter diazotrophicus, bactéria fixadora de nitrogênio recentemente isolada de cana-de-açúcar, foi testado na presença de diversos aminoácidos. O cultivo foi efetuado em meio líquido, sob  $pO_2$  atmosférico, 180 rpm, pH 5,5, 30°C., durante 36 h., com os aminoácidos na concentração de  $1g.L^{-1}$ . Entre os aminoácidos testados nenhum foi utilizado como fonte de carbono em meio de cultura suplementado com 10mM de  $(NH_4)_2SO_4$ . A glutamina, isoleucina, alanina, fenilalanina, asparagina, metionina, arginina, triptofano e ácido glutâmico foram utilizados como fonte de nitrogênio na presença de glicose  $5g.L^{-1}$ , o mesmo não ocorrendo com cisteína, treonina, leucina e serina. A maior produtividade celular foi obtida na presença de alanina, atingindo  $2,6 \times 10^9$  cels/ml. Nos tratamentos onde o crescimento foi decorrente da utilização de aminoácidos como fonte de nitrogênio não foi observada a atividade da nitrogenase, avaliada através do método de redução de acetileno. A análise do sobrenadante em cromatografia líquida de alta eficiência mostrou a presença de ácido indol acético nos tratamentos contendo triptofano e  $NH_4^+$ , o mesmo não foi detectado em culturas crescidas somente com  $NH_4^+$ . Outros aminoácidos serão testados.

CARACTERIZAÇÃO DO PROCESSO DE ENCISTAMENTO DAS ESTIRPES Sp<sub>7</sub> E 245 DE A. brasilense SOB CONDIÇÕES DE DISSIMILAÇÃO DE NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

M.P. Stephan; E. Pereira

Laboratório de Bioquímica - EMBRAPA/UAPNPBS - RJ.

O estudo do mecanismo da produção de cistos é um fator que, provavelmente, explicaria o motivo do aumento da produtividade vegetal somente em trigo inoculado com a estirpe 245, e não com a estirpe padrão Sp<sub>7</sub>. As duas estirpes distinguem-se quanto a produtividade de massa cística em cultivo em meio líquido, com NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (5mM), frutose (8mM) e sob baixa aeração, mostrando para a estirpe Sp<sub>7</sub> um peso seco de cistos de 500mg.L<sup>-1</sup> e para a 245 um peso de cistos de 100mg.L<sup>-1</sup>. A diferença na produção de cistos entre as estirpes deve-se, possivelmente, a relação C/N, no cultivo, sendo os cetoácidos precursores dos aminoácidos desviados para a síntese de poliβhidroxibutirato. A análise de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> no sobrenadante mostrou uma redução total de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a NO<sub>2</sub><sup>-</sup> para a estirpe Sp<sub>7</sub>, não havendo nesta condição mais nitrogênio disponível para a síntese proteica. Para a estirpe 245, ao contrário do observado na Sp<sub>7</sub>, houve um acúmulo de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> inferior à quantidade de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> utilizado, havendo ainda NO<sub>3</sub><sup>-</sup> disponível no meio de cultivo. Além do N, o oxigênio mostrou ser importante no processo de encistamento, havendo menor produção de cistos em anaerobiose do que aerobiose.

ESTUDO COMPARATIVO DA CINÉTICA DAS ENZIMAS DA VIA DISSIMILATÓRIA DE  $\text{NO}_3^-$  EM DUAS ESTIRPES DE A. brasilense: Sp7 E 245.

E. Pereira; M.P. Stephan; J. Döbereiner.

Laboratório de Bioquímica - EMBRAPA/UAPNPBS-RJ.

O aumento da produtividade em trigo tem sido observado em resposta à inoculação com a estirpe 245 de A. brasilense. Esta bactéria fixadora de nitrogênio é capaz de utilizar óxidos de nitrogênio como aceptores de elétrons alternativos. Células das duas estirpes de A. brasilense Sp7 e 245 contendo nitrito redutase dissimilatória foram obtidas em cultura tipo batelada contendo 10mM de  $\text{KNO}_3$ , vedada com tampa de borracha em  $\text{pO}_2$  inicial na fase gasosa de 20%. A atividade de NR dissimilatória de células lavadas da estirpe Sp7 foi muito superior à atividade da NR dissimilatória da estirpe 245. A cinética da utilização de  $\text{NO}_3^-$  em anaerobiose foi linear durante 20 minutos, só ocorrendo produção de  $\text{N}_2\text{O}$  quando todo o  $\text{NO}_3^-$  foi reduzido à  $\text{NO}_2^-$ , em ambas as estirpes. Confirmou-se a inibição total da NIR pela adição de  $\text{NO}_3^-$ . Estes resultados modificam a interpretação de experimentos anteriores (Ferreira e Döbereiner 1987) onde foi sugerido que o efeito da SP 245, e não da SP Sp7, sobre a incorporação de  $\text{NO}_3^-$  em trigo se deve a maior atividade da NR desta estirpe. Interpretações alternativas serão discutidas.

NR = Nitrato Redutase

NIR = Nitrito Redutase

INFLUENCIA DE SOLVENTES NA AÇÃO DO KELTHANE SOBRE  
AZOSPIRILLUM LIPQEEBUM: I- EFEITOS BIOLÓGICOS.

T. Langenbach & D.M.S. Mano

Instituto de Microbiologia - UFRJ -

A contaminação do solo pelo uso de inseticidas na agricultura pode afetar processos microbiológicos não alvo. *Azospicillum lipofecum*, bactéria do solo fixadora de N<sub>2</sub>, foi escolhida como modelo. Os experimentos foram realizados "in vitro", excluindo fatores de interferência do solo. Trabalhos anteriores em nosso laboratório estudaram a influência de alguns pesticidas comerciais, sobretudo Kelthane, sobre este microrganismo. O objetivo deste trabalho é esclarecer se os efeitos observados com Kelthane são decorrentes de seu ingrediente ativo (Dicofol) ou de seu solvente comercial (Premix).

Foram realizados diferentes experimentos com o produto comercial Kelthane, com Dicofol dissolvido separadamente em etanol, dimetilformamida e premix e com estes solventes isoladamente. Foram determinados o crescimento (conteúdo proteico), a atividade da nitrogenase (redução de acetileno, medida por cromatografia gasosa), o volume celular (Coulter channelyser) e feitas observações morfológicas em microscopia óptica.

Os dados referentes ao crescimento e à nitrogenase sugerem que o efeito inibitório maior seja resultante da ação dos solventes mais do que do Dicofol. Resultados distintos ocorrem quanto a morfologia celular. A formação de cistos na presença tanto do produto comercial, quanto dos solventes e do ingrediente ativo, é discutida.

Apoio: CNPq, CEPEG, CEE.

INFLUENCIA DE SOLVENTES NA AÇÃO DO KELTHANE SOBRE  
A. LIPOFERUM: II- LIGAÇÃO QUÍMICA DO INGREDIENTE  
ATIVO (DICOFOL) COM A CELULA.

D.M.S. Mano, K. Buff & T. Langenbach

Instituto de Microbiologia - UFRJ -

A ação dos inseticidas pode se estender a organismos não alvo, como os microrganismos. Estudos anteriores, realizados em nosso laboratório constataram que o organoclorado Kelthane apresentou efeitos inibitórios sobre a bactéria fixadora de N<sub>2</sub> *Azospicillum lipoferum*, utilizada como modelo.

O objetivo deste trabalho é estudar a influência do premix, solvente utilizado na formulação comercial, na ligação do Dicofol, ingrediente ativo do Kelthane, com o *A. lipoferum*.

Como as ligações com as células, muitas vezes são muito fracas, podendo se desfazer facilmente por fracionamento celular ou até por lavagem, foi utilizado o método de fotoindução por U.V.. Este método estabelece ligações covalentes estáveis com as moléculas celulares às quais os diferentes produtos se ligam, sendo eficaz para muitas substâncias, inclusive o Dicofol.

Dados iniciais confirmam que a incorporação do Dicofol 14-C utilizando-se o método da fotoindução é muito superior do que nas amostras não irradiadas. A cinética de incorporação radioativa do Dicofol utilizando-se o etanol como solvente mostra que a ligação ocorre nos primeiros 20 minutos de incubação, após os quais os valores se mantêm aproximadamente constantes. Diferentemente a cinética de incorporação celular do Dicofol dissolvido em premix revela, até 2 horas de incubação, um aumento crescente do número de ligações. Experimentos com concentrações variáveis de premix mostraram que este solvente aumenta a incorporação do Dicofol com a célula.

Apoio: CNPq, CEE, CEPEG

EFEITO DE PESTICIDAS SOBRE BACILLUS ISOLADOS DO SOLO.  
P.H., Carvalho Alves; M.B., Rodrigues; ... Mendonça  
Hagler & A.N., Hagler.

Instituto de Microbiologia da U.F.R.J.

Foi testada a ação dos pesticidas Folidol e Kelthane em concentrações de 100 e 500 ppm sobre solos arenoso e orgânico, previamente caracterizados, utilizando-se sistemas de microcosmos com diferentes períodos de incubação que variaram de 30 minutos a 30 dias.

Bactérias heterotróficas, *Bacillus* e Fungos foram determinados como parâmetros microbiológicos e mostraram uma sensível redução em suas populações nas primeiras duas horas de exposição, quando então mudanças quantitativas praticamente desapareceram até o final do experimento.

Estirpes de *Bacillus*, que nestes solos mostraram-se importantes a nível quantitativo, foram isoladas e testadas frente a ação dos mesmos pesticidas, em meio líquido, com concentrações de 10 e 100 ppm em cultura pura. O efeito inibitório no crescimento foi evidenciado nas concentrações de 100 ppm de ambos os pesticidas e de 10 ppm de Kelthane o mesmo não acontecendo com 10 ppm de Folidol.

Observações ao microscópio óptico mostraram efeitos deletérios diversos mas que tinham como principal alvo a morfologia e a mobilidade dos *Bacillus* testados.

O material particulado do solo parece proteger os microorganismos dos efeitos negativos dos pesticidas.

Apoio: LEE

MEIOS DE CULTURA ALTERNATIVOS PARA PRODUÇÃO DE BIOINSETICIDA A BASE DE BACILLUS THURINGIENSIS.

D.M.F. CAPALBO ' e I.O. MORAES "

' CNPDA/EMBRAPA " Centro de Tecnol. - UNICAMP

Atualmente uma das alternativas mais utilizadas em todo o mundo no combate biológico a insetos-praga da agricultura, é o emprego do Bacillus thuringiensis. Sua utilização no Brasil, entretanto tem sido restrita principalmente pelo alto custo do produto.

Na tentativa de viabilizar sua ampla utilização através da produção em meio de cultura de baixo custo, foram testados resíduos agroindustriais, separadamente ou em combinação, sendo o pH final ajustado para 7,3. As fermentações com B. thuringiensis var. thuringiensis foram efetuadas em fermentadores de laboratório, com agitação mecânica, aeração controlada, temperatura de 30 °C, sendo que amostras foram retiradas periodicamente para análise de pH (potenciômetro), absorvância (espectrofotômetro, 600 nm), contagem de esporos (plaqueamento das diluições adequadas da amostra submetida a choque térmico - 80°C/ 10 minutos) em meio agar nutriente.

Os resultados obtidos indicaram a viabilidade de utilização dos resíduos testados, sendo que se destacaram pelo alto rendimento, os meios constituídos pelos seguintes resíduos: resíduo líquido da indústria de glutamato monossódico, melão de cana-de-açúcar, e melão cítrico. A adição de um complexo mineral (normalmente utilizado como suplemento de ração animal), também se mostrou interessante.

Como o produto final deve apresentar atividade biológica contra insetos da ordem Lepidoptera, o material obtido nas fermentações deverá ser avaliado através de bioensaios, numa próxima etapa do trabalho.

-Projeto desenvolvido com apoio do CNPq.

MÉTODOS DE PREPARO DE ÁGUA DE LEVEDURA E INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO INICIAL SOBRE O CRESCIMENTO DE Bacillus sphaericus.

C.S.HONDA, J.M.C.S.DIAS & R.G.M.SCHENKEL

CENTRO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA

EMBRAPA - BRASÍLIA - DF.

O constante aumento da resistência dos insetos aos inseticidas químicos, bem como, a crescente preocupação com o impacto ambiental desses produtos, tem incrementado o interesse no uso de bioinseticidas. Para o controle de mosquitos tem-se pesquisado o uso de Bacillus sphaericus cuja ação larvicida é determinada por uma toxina produzida no início da esporulação. Para a produção do bacilo é importante que se utilize meios de cultura de baixo custo e fácil obtenção. Dentre os diversos substratos estudados escolheu-se água de levedura, uma vez que além de diminuir os custos de produção, possibilita o aproveitamento de um subproduto de destilarias de álcool.

A partir de fermento comercial prensado foi preparada água de levedura através de diversos métodos: esterilização a 121°C ou 130°C, homogeneização, sonicação, homogeneização + esterilização, sonicação + esterilização, esterilização + homogeneização, esterilização + sonicação e esterilização + agitação com pérolas de vidro. Os métodos que resultaram em maior extração de proteínas foram esterilização + homogeneização e esterilização + agitação com pérolas de vidro por 36 horas.

Foi estudada, ainda, a influência da concentração inicial de fermento (entre 100 e 300g de fermento úmido/litro) no crescimento e toxicidade do B. sphaericus 2362, tendo-se obtido concentrações celulares crescentes (entre 0,91 e 3,10g/l) e concentrações de esporos decrescentes (entre 5. e 0,14.10<sup>9</sup> esporos/ml) com o aumento da referida concentração inicial de fermento. Bioensaios efetuados contra larvas de segundo estágio de Culex quinquefasciatus mostraram que a concentração de bioinseticida necessária para matar 50% da população-alvo em 48h (CL<sub>50</sub>) decresceu na proporção aproximada do aumento da concentração de esporos. Tais resultados apontam para a existência de uma concentração ótima de nutrientes, que por um lado conduz a uma elevada concentração de células e que, por outro lado, induz à esporulação e à produção de toxinas. Essa concentração, no caso estudado, era da ordem de 100g de fermento úmido por litro.

LEVANTAMENTO EPIDEMIOLÓGICO DE ENDOMICORRIZAS (MVA) NO MUNICÍPIO DE LONDRINA - PR.

Cavazzana Jr, M; Andrade F<sup>o</sup>,G; Itow Jankevicius, S; Jankevicius, J.V.

Departamento de Patologia Geral, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Caixa Postal nº 6001, CEP 86051, Londrina, PR.

Foi realizado um levantamento epidemiológico de endomicorizas abrangendo o município de Londrina - Pr, visando obter a incidência de esporos destes fungos em solos considerados ricos em minerais. Foram escolhidas 20 propriedades (estações) representativas das várias regiões do município, sendo propriedade dividida em 4 subestações, de onde foram colhidas 3 amostras de 1 Kg de solo, da superfície até  $\pm$  30 cm de profundidade. As amostras das subestações da cada propriedade eram homogeneizadas, retirando-se 200 g que eram tratadas por peneiração úmida em tamizes de 0,71; 0,35 e 0,053 mm de malha e o material depositado na última peneira, exaustivamente lavado em água corrente, era transferido para a placa de Petri e realizada a contagem de esporos de fungos com morfologia sugestiva de endomicorizas em lupa estereoscópica. O 1º levantamento foi realizado antes do plantio de verão 86/87 e o 2º durante a cultura. Obtivemos, para o 1º levantamento, média de 3.378 esporos/200 g de solo homogeneizado, com as propriedades individuais oscilando entre o mínimo de 846 e o máximo de 6.625. Para o 2º levantamento, já as culturas em desenvolvimento, obtivemos, nas mesmas propriedades, média de 4.192 esporos/200 g de solo, com mínimo de 2.803 e máximo de 7.085 esporos. Estes esporos estão sendo identificados e comprovadas a sua infectividade no sistema de cultivo hidropônico "in vitro" de soja. Estes dados estão sendo correlacionados com tipo de solo, adubação, pH, tipo de cultivo, condições climáticas, cultura, cultivar e produtividade.

CRESCIMENTO DE MICÉLIO VEGETATIVO DE FUNGOS ECTOMICORRIZICOS EM MEIO LÍQUIDO. I. EFEITO DE AL E P

R.M.C. MUCHOVEJ; M.C.M. KASUYA; J.D. ALVES; C.J. ÁVILA;  
A.V. NOGUEIRA & V.A.B. OLIVEIRA.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA, DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA GERAL, VIÇOSA - MG.

O presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito de Al- $\text{AlCl}_3$  (concentrações de 0, 1, 10, 100 e 1000 $\mu\text{g}$  Al/ml) e de P -  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  (concentrações de 0, 25, 50, 100 e 200  $\mu\text{g}$  P/ml) sobre o crescimento micelial de Pisolithus tinctorius isolado RV-82 e Rhizopogon rearii em meio líquido MNEA. Dois discos com 6mm de diâmetro, contendo micélio do fungo, foram adicionados a frascos Erlenmeyer contendo 50 ml das soluções. O delineamento experimental utilizado foi em esquema fatorial  $(2 \times 5) 6$ , com dois fungos e cinco níveis do elemento, em seis repetições, dispostas de maneira inteiramente casualizada. Após um período de incubação de 30 dias a 25°C, foram feitas as avaliações da massa micelial seca produzida. A produção de micélio foi crescente até o nível de 100 $\mu\text{g}$  Al/ml para ambos os fungos. Entretanto, na concentração de 1000 $\mu\text{g}$  Al/ml a massa micelial de ambos os fungos foi em torno de 50% menor do que a obtida no nível de 100 $\mu\text{g}$  Al/ml. Em todos os níveis de P estudados, R. rearii apresentou maior produção micelial que P. tinctorius. Entretanto, verificou-se que, apesar dessa diferença, ambos apresentaram crescimento máximo em 25 $\mu\text{g}$  P/ml.

APOIO CNPq - FINEP

CRESCIMENTO DE MICÉLIO VEGETATIVO DE FUNGOS ECTOMICORRIZICOS EM MEIO LÍQUIDO II. EFEITO DE pH E Mn

M.C.M. KASUYA; R.M.C. MUCHOVEJ; M.C. ENRICI; E.S. DIAS;  
J.B.P. SIMÃO & R.F. ARAÚJO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA, DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA GERAL, VIÇOSA - MG

Foram avaliados os crescimentos de Rhizopogon reaii, isolado CK7 e Pisolithus tinctorius, isolados 185 e RV-82, em meio líquido, em cinco níveis de pH (3,2; 4,0; 4,8; 5,6 e 6,4) e Manganês-MnCl<sub>2</sub> (0, 5, 10, 100 e 500µg Mn/ml). Cinquenta ml de cada meio foram inoculados com discos de 6mm de diâmetro, contendo micélio dos fungos, retirados das bordas das colônias com 15 dias de crescimento. Após a inoculação, os frascos foram incubados no escuro a 28°C, com agitação manual diária. O delineamento experimental utilizado foi em esquema fatorial (3x5)<sup>5</sup>, com os três fungos e cinco níveis de pH ou de Mn, em cinco repetições, dispostas de maneira inteiramente casualizada. Após 35 dias foi feita a avaliação da matéria micelial seca produzida pelo fungo Rhizopogon reaii e o isolado RV-82 apresentaram crescimento mais intenso nos valores de pH mais elevados, enquanto o isolado 185 não teve seu crescimento alterado em função do pH. O isolado 185 foi estimulado por concentrações crescentes de Mn, até 100µg/ml no meio.

APOIO CNPq-FINEP

OTIMIZAÇÃO E CONDIÇÕES PARA PRODUÇÃO DE PROTOPLASTOS  
Pisolithus tinctorius.

Anúnciação, C.E.A.; W.V. Guimarães; E.F. de Araújo; R.M. C. Muchovej; \*D.R. Niffeneger e Souza.

Depto. Biologia Geral/UFV, \*Depto. Biologia Geral  
(UFMG)

O uso de fungos micorrízicos como inoculantes em programas de reflorestamentos tem sido largamente preconizados. Para aumentar a eficiência dessa associação, trabalhos de melhoramento genético devem ser conduzidos. A fusão de protoplastos é uma técnica que apresenta grande potencial para melhoramento em fungos. Nesse trabalho foram estudadas as condições para produção e regeneração de protoplastos em P. tinctorius. Os protoplastos foram obtidos utilizando-se micélio crescido a 27°C por 15 a 17 horas e tratado com uma mistura digestora constituída de enzima e estabilizador osmótico. Foram testadas as enzimas CP-celulase e NovoZym 234 e varios estabilizadores em diferentes concentrações. O melhor método foi obtido quando se utilizou NovoZym 234, micélio e manitol 0,6M na proporção de 10:15:0,15 (p/p/v) e 4mg/ml de BSA, tendo sido produzidos  $1,2 \times 10^7$  protoplastos/ml. A adição de B-mercaptoetanol ou DTT no frasco de digestão, ou durante o crescimento do micélio com tween-80, não elevou a produção de protoplastos. Usando-se diferentes técnicas de regeneração, em meio sólido MNM-0,6M manitol, foi possível obter até 40% de regeneração.

EFEITO "in vitro" DE EXTRATOS BRUTOS DE GERGELIM (*Sesamum indicum* L.) SOBRE O DESENVOLVIMENTO DO FUNGO CULTIVADO POR FORMIGAS COR-DE-TADEIRAS (*Atta sexdens rubropilosa*) FOREL, 1908 (HYMENOPTERA, FORMICIDAE).

F.C.PAGNOCCA, M.J.HEBLING-BERALDO, O.C.BUENO, O.AULINO SILVA, E. C. VIDO JUNIOR, J.B.FERNANDES & P.C.VIEIRA

Instituto de Biociências - UNESP. Rio Claro (SP); Instituto de Química UFSCar. São Carlos

Para avaliar a hipótese de que o efeito observado por Bueno et alii (1989) durante o forrageamento de ninhos de *Atta sexdens rubropilosa* poderia ser consequência da ação de compostos metabólicos secundários sobre o fungo simbionte, folhas, frutos e sementes de gergelim (*Sesamum indicum* L.) em diferentes estágios de desenvolvimento foram secados, triturados e submetidos à extração com diferentes solventes (clorofórmio, metanol e água). Esses extratos foram adicionados ao meio de ensaio para obtenção das seguintes concentrações finais: 7,5; 15,0; 30,0 e 60,0 mg p.s./ml para os extratos obtidos de folhas de 30,0mg p.s./ml para os demais extratos. Um inóculo com 4,0mg p.s.micelial/ml foi preparado a partir de culturas-estoque de aproximadamente 30 dias de desenvolvimento. A incubação foi à temperatura ambiente durante 30 ± 5 dias mantendo-se os tubos inclinados. Foi preparado um controle específico para cada tipo de solvente. Para a avaliação do crescimento procurou-se observar a quantidade e a densidade do inóculo presente nos tubos. Nos extratos foliares obtidos com clorofórmio e metanol a maior inibição do desenvolvimento do fungo foi observada na concentração de 60,0 mg p.s/ml. Os extratos aquosos não causaram inibição, mesmo nas mais elevadas concentrações experimentais.

Os resultados indicam claramente, a ocorrência nas diferentes partes de *S.indicum*, de compostos lipossolúveis que tem ação fungistática em relação ao fungo cultivado por essas formigas e nós estamos atualmente isolando esses compostos com o objetivo de avaliar o potencial dos mesmos no controle desses insetos.

TÍTULO: AVALIAÇÃO DE SUBSTRATOS A BASE DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR PARA O CRESCIMENTO DO COGUMELO Pleurotus ostreatus

AUTORES: J.O. MACHADO

M.G.C. CHURATA-MASCA

J.R. MOTOS

INSTITUIÇÃO: FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS DE JABOTICABAL - UNESP.

O presente trabalho avaliou o crescimento do fungo comestível P. ostreatus, utilizando como substrato bagaço de cana hidrolisado e não hidrolisado e como fonte de nitrogênio, o farelo de soja, a levedura seca e uréia até se atingir as doses de nitrogênio total de 0,50%, 1,00% e 1,50% na matéria seca. Os inoculos foram obtidos a partir do crescimento do fungo em semente de trigo e todos os substratos foram esterilizados em autoclave a 120° C por 20 minutos.

A partir dos resultados obtidos conclui-se que os melhores tratamentos para obtenção de cogumelos foram aqueles em que se utilizou bagaço não hidrolisado, nas seguintes combinações: Farelo de soja 0,50% de N total, Levedura seca 0,50% de N total, Ureia adicionada após a autoclavagem 0,50% de N total, Levedura seca 1,00% de N total e a testemunha.

Ocorreu inibição do crescimento do fungo nos tratamentos com doses de Nitrogênio total igual a 1,50% N e nos tratamentos em que se utilizou bagaço hidrolisado como substrato.

## ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE PLANTAS BRASILEIRAS

R. R. BOSSHARD  
V. L. B. CAMPOS  
M. GARCIA  
E. M. HACHICH

Departamento de Substâncias Ativas Naturais, Centro de Pesquisas-RHODIA SA.

Objetivos: Como parte de um programa de pesquisas de novos antibióticos a partir de plantas brasileiras, investigamos a família ERIOCAULACEAE, através do estudo de 14 espécies coletadas em diferentes regiões do Brasil.

Material e Métodos: As plantas foram submetidas a extração com hexano e acetona a temperatura ambiente, seguido de precipitação. As amostras solubilizadas em DMF/H<sub>2</sub>O foram testadas quanto a atividade antibacteriana pelo método de difusão em ágar de Muller-Hinton sobre as seguintes cepas: Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Clostridium perfringes, Clostridium septicum e Bacteroides fragilis.

Resultados e conclusões: A atividade concentra-se no precipitado obtido a partir do extrato acetônico. Quatro espécies do gênero Paepalanthus coletadas em diferentes regiões mostraram-se ativas sobre todas as cepas testadas. Uma análise preliminar da composição do precipitado indica a vioxantina como o principal princípio ativo. É a primeira vez que a vioxantina é encontrada em plantas, o que sugere uma possível interação do gênero Paepalanthus com fungos.

RESPOSTA DE DUAS VARIEDADES DE SOJA INOCULADAS COM DUAS ESTIRPES DE Bradyrhizobium japonicum A DIFERENTES DOSES DE N-NÍTRICO

F.O. GALLARDO ARRIAGADA E S.T. ALVES CASSINI

DEPTO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO - UFV, Viçosa, MG.

Objetivou-se avaliar o desempenho de duas variedades de soja e duas estirpes de Bradyrhizobium japonicum, cultivadas em solução nutritiva contendo diferentes doses de N-nítrico, com relação à produção de matéria seca, nodulação e eficiência de fixação de nitrogênio.

Realizou-se o cultivo de duas variedades de soja (IAC-8 e DOKO) inoculadas individualmente com Bradyrhizobium japonicum, estirpes 5019 e 587, em vases com solução nutritiva de Clark modificada, contendo quatro doses de N-nítrico (0, 1, 5 e 10 mM). Aos 66 dias após emergência foi efetuada a coleta do material vegetal para posterior determinação do número de nódulos e peso da matéria seca e conteúdo de nitrogênio e fósforo da parte aérea e do sistema radicular.

Na combinação da variedade IAC-8 com a estirpe 5019 verificou-se diminuição significativa na matéria seca da planta (43%) quando a dose de nitrato foi de 10 mM, em relação as plantas tratadas com dose de 5,0 mM, sendo que nas outras combinações de variedade e estirpe a redução foi menor (5,3 a 20,3%). A matéria seca e o número de nódulos apresentaram resposta diferenciada em função da estirpe utilizada. As variedades inoculadas com a estirpe 587 apresentaram redução acentuada no número de nódulos, quando cultivadas nas soluções contendo 1,5 e 10mM de nitrato. O nitrogênio e fósforo tenderam a acumular-se em níveis crescentes, na parte aérea da planta até a concentração de 5,0 mM de nitrato na solução nutritiva, estabelecendo-se um patamar de até 10 mM de nitrato. O suprimento contínuo de 5,0 mM de nitrato em soja da variedade IAC-8, inoculada com a estirpe 5019 de Bradyrhizobium japonicum, resultou em ganho significativo de matéria seca, conteúdo de nitrogênio e fósforo na parte aérea em comparação com as mesmas plantas inoculadas e crescidas em solução nutritiva sem nitrato.

A UTILIZAÇÃO DE CARBOIDRATOS POR *BRADYRHIZOBIUM* spp

E.G.M. LEMOS &amp; J.L. SARTORI

Departamento de Tecnologia - FCAV/UNESP - Jaboticabal - SP

Critérios provisórios fundamentados no tempo de geração em meio "manitol-levedura" tem levado à classificação de rizóbios do grupo Cowpea como do gênero *Bradyrhizobium*.

Entretanto, linhagens como a ORS 571, que nodula *Sesbania rostrata*, e a IHP 100 que nodula *Cajanus cajan*, têm apresentado comportamentos semelhantes aos de crescimento rápido (menor que 6 horas) o que parece evidenciar a necessidade de estabelecimento de novos critérios bioquímicos dentre os quais os diretamente relacionados à utilização de carbono. Nesse sentido, estirpes de rizóbios do grupo Cowpea, com capacidade de nodulação para leguminosas forrageiras tropicais, foram estudadas por técnicas auxonográficas objetivando determinar suas habilidades em utilizar manitol, arabinose, xilose, galactose, manose, sacarose, sorbitol lactose e succinato como fonte de carbono. O melhor desenvolvimento das estirpes foi obtido quando se empregou o manitol, ou a arabinose, embora se tenha observado disponibilidade semelhante em relação à utilização de xilose e de galactose, o que contraria os resultados encontrados por outros estudiosos pelos quais os rizóbios de crescimento lento seriam seletivos quanto à habilidade de utilização desses substratos.

Para a linhagem Semia 6158, as curvas de crescimento indicaram ainda ser a frutose, a arabinose e a xilose, agentes eficientes principalmente nas 58 horas iniciais, período em que produziram crescimento semelhante ao manitol. As medidas dos valores de pH, nesse período, indicaram uma acidificação, o que provavelmente tornou o meio inadequado ao desenvolvimento celular, após 60 horas de incubação. Em relação à afirmação de que somente estirpes de crescimento rápido apresentam capacidade de utilização de sacarose, os resultados mostraram que, essa linhagem, foi capaz de utilizar também a maltose e a lactose.

Fonte Financiadora: FUNDUNESP, CNPq

EFEITOS DE EXTRATOS DE LEGUMINOSAS NO CRESCIMENTO DE *Bradyrhizobium* spp

E.G.M. LEMOS; F.A.R. HARNICH; J. SUZUKI

Departamento de Tecnologia - FCAV/UNESP - Jaboticabal - SP

A incorporação de leguminosas nos solos como um recurso de adubação natural tem sido prática usual, visando uma maior produtividade com menor custo financeiro. Com o objetivo de verificar os efeitos provocados pela incorporação ao solo destas leguminosas sobre o crescimento das bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico, realizou-se experimentos com extratos aquosos de 20 leguminosas tropicais. Estirpes de *Bradyrhizobium* spp (SEMIA 6158 e 656) tiveram crescimento monitorizado em Klett Summerson. As culturas foram crescidas em meio extrato de levedura-manitol (YML - VINCENT 1970) utilizadas como controle, e em YML contendo o extrato aquoso de cada uma das leguminosas em estudo. Observou-se um estímulo ao crescimento dos rizóbios da ordem de 20 a 90% dependendo do extrato utilizado. Contagem dos rizóbios em câmara de Neubauer confirmam o crescimento da massa celular. A substituição de extrato de levedura do meio utilizado, por extrato das leguminosas, foi efetivo em manter o crescimento das bactérias, enquanto que a substituição da fonte de carbono manitol pelo extrato resultou no não crescimento dos rizóbios. Após as curvas de crescimento com os diferentes extratos terem sido determinadas, testes de nodulação foram realizados usando *Macroptilium atropurpureum* (Siratro) como planta teste.

Estudo da composição de tais extratos estão em andamento procurando identificar o(s) fator(es) responsável(is) por tal estímulo no crescimento de *Bradyrhizobium*.

IDENTIFICAÇÃO DE *BRADYRHIZOBIUM* spp: ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA, SOROLOGIA E MARCAS DE RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS.

E.G.M. LEMOS; L.M.C. ALVES; J.C. CAMPANHARO.

Experimento de inoculação, em condições de campo, objetivando esclarecer aspectos da ecologia de rizóbios apresentam sérias dificuldades pela inexistência de uma metodologia rápida e segura em relação à caracterização de estirpes. A presença de estirpes, introduzidas e/ou nativas, no nódulo, solo e/ou rizosfera, tem motivado os estudiosos a desenvolverem inúmeras técnicas que aplicadas isoladamente não resultam na eficiência desejada. Técnicas de sorologia, de caracterização em gel de poliacrilamida dos perfis protéicos e de resistência a antibióticos mostraram-se promissoras na diferenciação de estirpes principalmente as do grupo Cowpea. Preliminarmente, resultados de caracterização antigênica de inúmeras estirpes de *Bradyrhizobium* (obtidas junto ao MIRCEN-RS) sugeriram a presença de antígenos comuns, e específicos, dentre várias dessas estirpes. A análise dos respectivos perfis protéicos, obtidos via eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), mostrou que a estirpe SEMIA 6158 não apresentava características que a pudesse diferenciar das de SEMIA 695 ou das de SEMIA 6132. Os resultados dos antibiogramas, revelaram que as estirpes SEMIA 6158 e 6132 apresentavam padrões de resistência iguais em relação a tetraciclina, clorafenicol, eritromicina, ácido nalidíxico e novobiocina enquanto a 695 apresentava sensibilidade à maioria delas. Em relação aos antibióticos do grupo dos aminoglicosídeos, essas três estirpes apresentaram padrões de sensibilidade semelhante mas passíveis de diferenciação (SEMIA 6158: Pen<sup>R</sup>, Amp<sup>S</sup>, Carb<sup>S</sup>, Gent<sup>S</sup>, Neo<sup>R</sup> e Sis<sup>S</sup>; SEMIA 6132: Pen<sup>R</sup>, Amp<sup>R</sup>, Carb<sup>R</sup>, Gent<sup>R</sup>, Neo<sup>R</sup> e Sis<sup>R</sup> e SEMIA 695: Pen<sup>S</sup>, Amp<sup>R</sup>, Carb<sup>R</sup>, Gen<sup>S</sup>, Neo<sup>S</sup> e Sis<sup>S</sup>). Entretanto, esse conjunto de técnicas mostrou que para as estirpes SEMIA 6146, SEMIA 6152 e SEMIA 6070 somente os resultados referentes aos respectivos padrões protéicos já são suficientes à diferenciação. Os géis de poliacrilamida mostraram-se suficientes à diferenciação principalmente pelas bandas referentes às regiões de pesos moleculares 29000 (SEMIA 6146), 36000 (6152) e 14200 e 15000 (SEMIA 6070). Estudos semelhantes serão estendidos para outras estirpes a serem obtidas junto ao MIRCEN-RS como também para outras nativas da região de Jaboticabal, SP objetivando informações que subsidiem um melhor conhecimento da biologia desses fixadores do nitrogênio atmosférico.

Fonte Financiadora. FUNDUNESP, CNPq.

## ESTUDO COMPARATIVO ENTRE ESTIRPES DO GRUPO COWPEA

E.G.M. LEMOS; L.M.C. ALVES; M.C. VICARI; J.C. CAMPANHARO

Departamento de Tecnologia - FCAV/UNESP - Jaboticabal - SP

Bactérias fixadoras do nitrogênio atmosférico em associação simbiótica com leguminosas são genericamente denominadas de rizóbios. Recentemente estes microrganismos foram subdivididos em dois gêneros: *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*. Os primeiros, com tempo de geração (TG) de 2 a 4 horas, quando crescidos a 28°C em meio extrato de levedura-manitol (YML) produzem ácido, enquanto que os *Bradyrhizobium* com tempo de geração de 6 a 8 horas, não alteram significativamente o pH do meio de cultivo. Entretanto, rizóbios com TG intermediário a estes já foram descritos em outros trabalhos. Rizóbios isolados de diferentes leguminosas tropicais estão sendo estudados neste laboratório. Rizóbios reconhecidamente de crescimento rápido (*R. leguminosum* ATCC 10004) e de crescimento lento (*R. japonicum* SEMIA 5019 e 587) utilizados neste estudo como estirpes padrões e *Bradyrhizobium* spp (SEMIA 6132, 6146, 6148, 6154, 6155, 6156, 6158, 6070, 656), tiveram seus tempos de geração determinados em cultivo a 28°C em YML. Curiosamente a estirpe SEMIA 6070 (*Pueraria phaseoloides*) apresentou tempo de geração de 2,8 horas, o que a colocaria como em rizóbio de crescimento rápido e, portanto, do gênero *Rhizobium*. Esta estirpe produz ácido moderadamente em YML, já que a variação do pH inicial (6,84) para o final (5,84) foi de apenas uma unidade.

Uma outra característica dos rizóbios de crescimento lento é a ausência de plasmídios que os diferenciam dos de crescimento rápido; entretanto, a análise em gel de agarose não revela a presença de DNA plasmidial para a estirpe SEMIA 6070, assim como para as outras características como *Bradyrhizobium*. Além disso, esta estirpe apresenta especificidade sorológica, o que a distancia das estirpes do grupo Cowpea.

## CARACTERIZAÇÃO ANTIGÊNICA DE DIFERENTES ESTIRPES DE RIZÓBIO DO GRUPO COWPEA

E.G.M. LEMOS &amp; L.M.C. ALVES

Departamento de Tecnologia - FCAV/UNESP - Jaboticabal - SP

O conhecimento das características biológicas das bactérias do gênero Rhizobium e Bradyrhizobium é necessário não só para um controle adequado da qualidade dos inoculantes comerciais para uma maior eficiência na reação de fixação de nitrogênio que ocorre na simbiose planta-rizóbio, como também em estudos ecológicos de competição e recuperação dessas bactérias da natureza. O estudo das propriedades antigênicas de várias linhagens de rizóbio e a utilização de técnicas sorológicas para a identificação e purificação dessas bactérias tem apresentado grande desenvolvimento, entretanto, pouco se conhece a respeito das várias linhagens constituintes do grupo Cowpea. Nesse trabalho pretendemos iniciar um estudo das propriedades antigênicas de 8 estirpes do grupo Cowpea, assim como duas de Bradyrhizobium japonicum e duas de Rhizobium leguminosarum, provenientes do MIRCEM. Como podemos observar pela técnica de aglutinação direta, existe uma certa especificidade entre os soros obtidos em coelhos e as estirpes utilizadas para produzi-los, entretanto, muitas reações com outras estirpes também ocorrem. As células da estirpe SEMIA 6158 reagem com quase todos os soros em estudo e quando tais soros são adsorvidos com essas células, muitas das reações inespecíficas desaparecem e aquelas entre os anticorpos e seus antígenos de origem permanecem com títulos elevados. Esses resultados sugerem a existência de diferentes concentrações ou apresentações de antígenos comuns entre as várias estirpes em estudo, assim como a presença de antígenos específicos de cada bactéria em questão. Acreditamos, portanto, que através de reações sorológicas possamos obter um perfil antigênico das diferentes estirpes de rizóbio, o qual poderá ser utilizado para a identificação, separação e classificação de estirpes semelhantes na natureza.

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE MICROORGANISMO DO INTERIOR DO TUBO DIGESTIVO DOS TRÊS ESTÁGIOS LAVRAIS DE ANASTREPHA OBLIQUA (DIPTERA: TEPHRITIDAE).

G.M.Cavasin-Oliveira<sup>1</sup>; M.da Costa Teles<sup>1</sup>; J.Q. Machado<sup>2</sup>; C.R.Paula<sup>3</sup>; C.M.L.Maffei<sup>4</sup>; T.S.Mazzocato<sup>4</sup>; J.L. Andrioli<sup>2</sup>.

1 FFCLRP-USP, 2 FCAVJ-UNESP, 3 ICB-USP, 4 FMRP-USP

O objetivo do presente trabalho foi estudar a flora microbiana do tubo digestivo da larva de Anastrepha obliqua, que tem como hospedeiro Spondias purpurea (Ceriguêla). Foram coletados 90 frutos provenientes de três árvores, distantes uma das outras, pertencentes ao pomar da fazenda experimental Copersucar. De cada fruto foi retirada apenas uma larva, de forma a obter como contagem final, 30 larvas de cada estágio. Cada larva foi primeiramente banhada em água destilada esteril, e em seguida dissecada sob condições assépticas e o conteúdo do tubo digestivo íntegro, foi coletado através de um microcapilar esterilizado. Esse material foi semeado em meio de Vecchi & Zambonelli (1966) e Sabouraud Dextrose modificado e incubado a 28°C. Em 100% dos casos obtivemos apenas o isolamento de uma levedura. A identificação foi realizada através de testes morfofisiológicos segundo Kreger & Van-Rij (1984). A confirmação taxonômica foi feita pelo Instituto de Ciências Biomédicas da USP, classificada como Kloeckera apiculata; levedura isolada com relativa frequência em frutos silvestres e cultivados. Investigações a respeito do tipo de relação existente entre o microorganismo e a mosca-da-fruta estão sendo realizadas, a fim de se saber mais a respeito do tipo de associação existente entre ambas. Acredita-se que tal levedura exerça um papel importante para o desenvolvimento da larva, bem como, atue como fonte de proteína para adultos de Anastrepha obliqua. Sabe-se hoje, que fêmeas de várias espécies de Anastrepha, para obtenção de maturidade sexual, alimentam-se de "honeydew", suco de fruta e microorganismos encontrados na superfície das folhas e frutos da planta hospedeira o que reforça nossa suspeita de participação no ciclo de vida da mosca, uma vez que Kloeckera apiculata também foi isolada de todas essas fontes de alimento.



RESISTÊNCIA TÉRMICA DA CEPA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EM SOLUÇÃO TAMPÃO FOSFATO, EM LEITE DE VACA E EM LEITE DE SOJA NATURAL.

Maschoshvili, I.A.; Vessoni Penna, T.C. e Abe L.E.  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP. C.P. 30.786  
CEP 01051 São Paulo, SP

A produção do leite de soja natural em escala piloto envolve uma série de etapas passíveis de contaminar o produto final com microrganismos patogênicos. Resultados das análises microbiológicas do leite de soja indicam contagens de mesófilos, psicrófilos, bolores, leveduras, coliformes totais e fecais maiores que  $10^6$  UFC/ml. Após higienização adequada da máquina as contagens destes microrganismos foram sensivelmente reduzidas, em até 4 ciclos logarítmicos. A última etapa do processamento, antes da embalagem, é a pasteurização do leite, indispensável na eliminação total da flora microbiana potencialmente patogênica, com simultânea manutenção dos nutrientes do produto. O presente trabalho estabelece a comparação entre os parâmetros de resistência térmica da cepa F de *Staphylococcus aureus*, produtora de enterotoxina E, em solução tampão fosfato pH 7,0, em leite de vaca e em leite de soja, com o objetivo de se determinar tempo, temperatura de pasteurização do leite de soja natural, produzido em escala-piloto. Os tempos de redução decimal (valor D) apresentados pela cepa F de *S. aureus* foram de 219 seg a 60°C em solução tampão fosfato pH 7,0; 198 seg a 60°C em leite de vaca e 388 seg a 60°C em leite de soja natural. Os tempos de redução decimal da mesma cepa em leite de soja às temperaturas de 61, 62, 63, 64, 65 e 66°C foram, respectivamente, 230, 130, 125, 117, 84 e 67 seg. Resultados parciais têm demonstrado elevado efeito protetor dos componentes do leite de soja natural sobre a cepa F de *S. aureus* submetida ao calor.

CARACTERIZAÇÃO DE AMOSTRAS DE Staphylococcus hyicus subsp. chromogenes ISOLADAS DO LEITE BOVINO " IN NATURA " .

A. Smânia Jr., E.F.A. Smânia, M.L. Gil, A.L.S. Noletto UFSC, Florianópolis - SC e UFRJ, Rio de Janeiro - RJ.

Estudos recentes tem demonstrado que estirpes de Staphylococcus hyicus subsp. chromogenes podem sintetizar enterotoxinas capazes de provocar intoxicações alimentares, mais comumente associadas com Staphylococcus aureus. Considerando que na análise de 159 amostras de leite bovino "in natura" foram isoladas 10 amostras de S. hyicus subsp. chromogenes, este trabalho teve por objetivo caracterizar as cepas isoladas. As amostras foram isoladas a partir do crescimento no meio de ágar sangue onde desenvolveram colônias circulares, com pigmento amarelo e sem hemólise. A identificação presuntiva foi realizada de acordo com os aspectos morfo tintoriais, produção de coagulase e utilização de carboidratos. As amostras foram coagulase negativas, utilizaram a lactose, maltose, manose, sacarose e trealose com produção de ácido e não utilizaram o manitol, rafinose e sorbitol. As estirpes isoladas também foram testadas quanto a síntese de enterotoxinas dos tipos A, B, C, D e E, porém mostraram-se negativas. A sensibilidade aos antimicrobianos foi verificada pela técnica da difusão em ágar. Todas as amostras testadas foram sensíveis a ampicilina, cefalotina, eritromicina, gentamicina, lincomicina, tetracilcina e tobramicina e resistentes a estreptomomicina. Somente uma amostra foi resistente ao cloranfenicol.

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE ESCHERICHIA COLI ENTEROPATOGÊNICA CLÁSSICA (EPEC) EM AMOSTRAS DE LEITE CRU TIPO "C".

J.S. PELAYO\*; D.P. FALCÃO\*\*

\*Departamento de Patologia Geral - CCB - Universidade Estadual de Londrina.

\*\*Departamento de Microbiologia - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP.

Foram estudadas 59 amostras de leite cru tipo C, coletadas em uma usina de beneficiamento da região de Londrina-Pr., com o objetivo de verificar a presença ou não de EPEC. As cepas de E. coli foram isoladas a partir dos tubos de caldo E.C. positivos, empregados na determinação do NMP de coliformes fecais transferindo-se uma alçada do caldo para placas de ágar MacConkey.

As colônias sugestivas de E. coli eram identificadas pelos testes bioquímicos nos meios EPM, MILi e Citrato de Simmons. Todas cepas de E. coli foram submetidas à sorologia para identificação do grupo EPEC utilizando-se anti-soros poli e monovalente. Das 59 amostras de leite analisadas 15,3% apresentaram cepas de EPEC pertencentes aos sorogrupos: O<sub>55</sub>, O<sub>114</sub>, O<sub>125</sub> e O<sub>142</sub>. Este grupo de microrganismo tem sido isolado na região, de vários produtos de origem animal, sugerido sua importância, como agente causador de diarréia.

MODELOS DE RESISTÊNCIA A DROGAS ANTIMICROBIANAS DE AMOS-  
TRAS DE ESCHERICHIA COLI ENTEROPATOGÊNICA CLÁSSICA  
(EPEC) ISOLADAS DE LEITE CRU TIPO "C".

J.S. PELAYO; H.O. SARIDAKIS; M.M. YAMAGUCHI

Departamento de Patologia Geral - Centro de Ciências  
Biológicas. Universidade Estadual de Londrina.

Os modelos de resistência a drogas antimicrobianas foram estudadas em 9 cepas de EPEC, pertencentes a diferentes sorogrupos isoladas de 59 amostras de leite cru tipo C. O teste de sensibilidade foi realizado pela técnica de difusão (BAUER et alii), utilizando 13 drogas antimicrobianas: Estreptomina, Cloranfenicol, Ac. pipemídico, Gentamicina, Ac. Nalidíxico, Canamicina, Cefalotina, Ampicilina, Tetraciclina, Tobramicina, Amicacina, Fosfomicina, Trimexazol.

Os resultados mostraram que apenas uma cepa de EPEC foi sensível a todos os antibióticos testados. Todas as cepas apresentaram-se sensíveis ao trimexazol. Das bactérias estudadas, 90% apresentaram resistência a tetraciclina e 80% a ampicilina. Uma cepa apresentou resistência a 8 drogas e apenas 2 cepas apresentaram igual modelo de resistência.

Concluiu-se, portanto que é importante conscientizar o produtor de leite sobre o uso correto destes antibióticos, pois sua aplicação abusiva e indiscriminada traz consequências desastrosas, não somente a nível de saúde pública, como também para as indústrias de laticínios.

ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS E FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE PASTEURIZADO TIPO "C", DISTRIBUÍDO AO CONSUMO EM TERESINA, PI, NO PERÍODO DE JANEIRO A JUNHO DE 1988.

M. A. GUEVARA GUEVARA

M. M. GOMES PEREIRA

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Microbiologia de Alimentos e no Setor de Laticínios do Núcleo de Estudos, Pesquisas e Processamentos de Alimentos (NUEPPA) do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal do Piauí (UFPI). Foram analisadas três marcas (identificadas como  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ ) de leite pasteurizado tipo "C" comercializado em Teresina-Pi no período de Janeiro a Junho de 1988. Utilizou-se 14 amostras por marca, perfazendo um total de 42.

As análises microbiológicas e físico-químicas obedeceram os Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes do Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA) do Ministério da Agricultura, 1980.

Os parâmetros determinados nas análises microbiológicas foram: Contagem total de microorganismos mesófilos aeróbicos estritos e facultativos viáveis e o número mais provável (NMP) de coliformes totais. Nas provas físico-químicas foram avaliados: volume, densidade, acidez em Graus Dornic (OD), teor de matéria gorda, extrato seco total (EST), extrato seco desengordurado (ESD) e ponto crioscópio. Os padrões microbiológicos e físico-químicos adotados foram os contidos na Resolução nº 13/78 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos do Ministério da Saúde (CNNPA-MS) e no Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal (RIISPOA), 1980.

Os resultados microbiológicos, revelaram que 100,0% das amostras da marca  $\alpha$  e 78,57% da marca  $\beta$  apresentaram-se fora do padrão. Já para a marca  $\gamma$ , encontraram-se 71,43% das amostras em conformidade com o padrão.

Para as provas físico-químicas, obteve-se fora da legislação, 27,55% das amostras da marca  $\alpha$ , 19,38% da marca  $\beta$ , e 22,45% da marca  $\gamma$ .

ESTUDO DE ALGUNS FATORES RELACIONADOS COM A QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE CRU OBTIDO NA FONTE DE PRODUÇÃO.

A.J.MESQUITA; A.B.SERAFINI; J.C.SERAPHIN & J.L.RIBEIRO.

Escola de Veterinária e Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

O presente trabalho teve por objetivo estudar alguns fatores correlacionados com a qualidade microbiológica e higiênica do leite cru obtido na fonte de produção, tendo a preocupação de correlacionar algumas variáveis importantes na produção do leite "in natura", tais como: cauda solta ou presa, tipo de piso dos currais, tipo de coador empregado, etc.,.

Colheu-se 63 amostras de leite cru de latões, imediatamente após a ordenha matutina, em propriedades localizadas na bacia leiteira de Goiânia-GO, compreendendo 16 municípios e 33 fazendas, sorteadas ao acaso.

Foram efetuadas contagens de microrganismos aeróbios mesófilos viáveis, termodúricos e o Número Mais Provável de coliformes totais (NMP), de acordo com as recomendações da FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (1978).

A prova de lactofiltração foi realizada utilizando o filtro de "Minit", segundo STANDARD METHODS OF MILK ANALYSIS (1934).

A variável cauda solta/presa não apresentou diferença significativa em relação as médias das contagens de microrganismos aeróbios mesófilos viáveis, termodúricos e Número Mais Provável de coliformes totais. Entretanto, as médias obtidas para a prova de lactofiltração, mostraram diferenças significativas.

As variáveis que tratam do local onde é colocado o balde durante a ordenha, a forma como o leite é recolhido ao latão, a presença ou não de coadores nos vasilhames, assim como, o fato de o proprietário residir ou não na fazenda não interferiram, no presente experimento, na qualidade microbiológica do leite, visto que não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre as médias, para nenhuma das variáveis dependentes estudadas.

CORRELAÇÃO ENTRE DIVERSOS PARÂMETROS DE QUALIDADE DO LEITE OBTIDO NA FONTE DE PRODUÇÃO.

A.J.MESQUITA.; J.C.SERAPHIN.; J.L.RIBEIRO & F.C.D.FILHO

Escola de Veterinária e Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS.

O presente trabalho objetivou avaliar as condições higiênicas do leite cru, obtido de latões, na fonte de produção.

Foram colhidas 63 amostras logo após a ordenha matutina (manual ou mecânica), em propriedades localizadas na bacia leiteira da região de Goiânia-GO, compreendendo 16 municípios e 33 fazendas sorteadas ao acaso.

Realizou-se as contagens de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrófilos viáveis, Numero Mais Provável de coliformes totais (NMP), coliformes fecais e de E. coli, de acordo com "FOOD AND DRUG ADMINISTRATION" (1978), bem como para as contagens de S. aureus coagulase positiva e para as provas bioquímicas que sugeriam a espécie. A contagem de microrganismos termodúricos seguiu a metodologia usada para a de mesófilos, porém mantendo as amostras em banho-maria a 63°C por 30 minutos antes da semeadura.

A prova de lactofiltração foi realizada através do filtro de "Minit", segundo as indicações do STANDART METHODS OF MILK ANALYSIS (1934).

Na prova de lactofiltração apenas 3,4% classificaram-se como prova regular, 53,5% como má e 43,1% como péssima.

Verificou-se correlação negativa entre a prova de lactofiltração e as contagens de microrganismos mesófilos, psicrófilos, coliformes fecais (NMP) e de E. coli. No entanto, embora baixa, foi positiva com as contagens de termodúricos, S. aureus e coliformes totais (NMP).

ELABORAÇÃO DE SUGESTÕES PARA LIMITES MICROBIOLÓGICOS EM PRODUTOS DE LATICÍNIOS - MANTEIGA

C.C. de Oliveira; E.G.C. dos Santos; P.P. de Oliveira Silva; V. Favarin; S.M. da C. Raimundo; N.K. Robbs; P.G. Robbs

DEPT. TECNOL. ALIMENTOS/UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

Visando fornecer subsídios para o estabelecimento de padrões microbiológicos à nível de indústria, para manteiga, foram desenvolvidas três linhas de pesquisa: a) - Microbiologia de processo que acompanhou microbiologicamente todas as etapas de fabricação em três laticínios de diferentes portes e 120 amostras de manteiga recém produzidas de 9 indústrias; b) - Estabilidade microbiológica, que verificou o comportamento microbiológico de produtos recém produzidos, de três indústrias, armazenados sob diferentes condições de estocagem, c) - Condições microbiológicas no comércio, que levantou as condições de 216 amostras de 11 diferentes marcas comercializadas no Rio de Janeiro. Todas as linhas estudaram microrganismos deteriorantes, indicadores e alguns patogênicos.

C.P.P. máxima de  $10^5$ UFC/g; contagem de lipolíticos de até  $10^3$ UFC/g; contagem de bolores e leveduras de até  $10^3$ UFC/g, ausência de coliformes fecais/g máximo de 10 s.aureus/g e ausência de Salmonella em 25g, foram alguns dos limites sugeridos para produtos na indústria.

Estudo comparativo de bacteriófagos que lisam Streptococcus cremoris e Streptococcus lactis.

Márcia R. Oliveira, W.V. Guimarães e E. T. de Araújo.  
Departamento de Biologia Geral (U.F.V. Viçosa - MG).

As bactérias S. cremoris e S. lactis, responsáveis pela produção de acidez durante a produção de queijos, são lisadas por bacteriófagos. Este trabalho tem como objetivo, isolar bacteriófagos de S. cremoris e S. lactis e fazer um estudo comparativo entre eles. Foram obtidos 4 isolados oriundos de um mesmo laticínio, sendo uma amostra coletada em outubro de 1987 e os outros três entre janeiro a fevereiro de 1988. A análise dos fagos por microscopia eletrônica mostrou o mesmo tipo morfológico, com uma cabeça hexagonal e cauda longa com superfície estriada. A clivagem dos DNAs dos fagos com enzimas de restrição, Eco RI, Hind III, Pst I e Rsa I, mostrou que o isolado de 1987 apresentou um padrão de restrição diferente dos isolados de 1988. Resultados preliminares da análise protéica também indicaram que o isolado de 1987 apresenta padrão diferente dos outros isolados. Novos fagos serão isolados, caracterizados e comparados com os já estudados.

YERSINIA SP. EM QUEIJOS TIPO "MINAS FESCAL": ISOLAMENTO E ESTUDO DE SUAS CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS.

E.M.P. Moro; M.P. Nunes & I.D. Ricciardi

Departamento de Microbiologia Médica do Instituto de Microbiologia da UFRJ.

Foram examinadas 50 amostras provenientes de dez diferentes marcas comerciais de queijos tipo "Minas Frescal", comercializados na cidade do Rio de Janeiro, observando-se os prazos de validade para o seu consumo. As amostras (100g) foram transportadas ao laboratório, sob refrigeração, até o momento da análise. Foram isoladas onze amostras de Yersinia sp. quando se utilizou o pré-enriquecimento à 26°C/48 horas com agitação, com posterior tratamento alcalino, logo seguido de semeadura em Agar Desoxicolato Citrato. Uma amostra foi isolada após plaqueamento direto em Agar MacConkey. As estirpes classificadas no gênero Yersinia foram submetidas a biotipagem, sorologia e fagotipagem, caracterizando-se 11 amostras como sendo Yersinia frederiksenii 16a, 16b-XO e 1 amostra como Yersinia intermedia-NAG-Xz.

As amostras isoladas foram ainda submetidas aos testes da auto-aglutinação, cálcio dependência, atividade pirazinamidase e propriedade de absorção do cristal violeta, com o objetivo de avaliar o comportamento biológico "in vitro". Todas comportaram-se negativamente.

Paralelamente, foi determinada a sensibilidade das amostras frente a diversos antimicrobianos, pela técnica dos discos. O estudo mostrou uma multi-resistência em relação a vários antimicrobianos, notadamente ampicilina, amoxicilina, carbenicilina, cefalexina, cefalotina, colistina e sulfazotrin. Apresentaram melhor sensibilidade ao ácido nalidíxico, cloranfenicol, gentamicina, kanamicina e tobramicina.

Órgãos financiadores: CEPG, CAPES, CNPq e FINEP

AValiação DE MEIOS SELETIVOS PARA O ISOLAMENTO DE Listeria spp A PARTIR DE ALIMENTOS

M.T. Destro & A.M. Serrano

Depto. de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP, Campinas - SP.

OBJETIVO: Face a inexistência de metodologia padronizada para isolamento de Listeria a partir de alimentos, avaliou-se a utilização de 3 meios seletivos empregados com esta finalidade.

MATERIAIS E MÉTODOS: Amostras de carne previamente moída e de leite pasteurizado tipo B foram inoculadas com L. monocytogenes Scott A, de modo a conter aproximadamente  $3,0 \times 10^3$  UFC/G ou ml. Alíquotas destas amostras foram diluídas em solução salina peptonada e homogeneizadas por 1 min. em homogeneizador de pistões ("stomacher"). Diluições decimais foram espalhadas superficialmente nos seguintes meios: Ágar McBride modificado - MLA (LOVETT et alii, 1987), Ágar Vogel-Johnson modificado - MVJ (BUCHANAN et alii, 1987) e Ágar de Cloreto de Lítio-Feniletanol-Moxalactam - LPM (LEE & McCLAIN, 1986). As placas de MLA e MVJ foram incubadas a 35°C, e as de LPM a 30°C com leituras após 24, 48 e 72 h.

RESULTADOS: Para as amostras de leite os três meios mostraram-se equivalentes. Para as amostras de carne a eficiência dos 3 meios diminui sensivelmente, sendo que o meio MLA mostrou-se menos eficiente que os demais, possibilitando o crescimento da microbiota acompanhante, o que dificultou sobremaneira a identificação de colônias suspeitas.

CONCLUSÕES: Os meios MVJ e LPM forneceram melhores condições para o isolamento de colônias suspeitas de Listeria, a partir de alimentos, após a incubação por 48 h. O meio MVJ apresenta a vantagem adicional de não necessitar de iluminação transmitida, para identificação das colônias suspeitas.

Realizado com auxílio financeiro do CNPq.

## ISOLAMENTO DE Listeria spp A PARTIR DE PRODUTOS CÁR - NEOS

M.T. Destro & A.M. Serrano

Depto. de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP, Campinas - SP

**OBJETIVO:** Verificar a incidência de Listeria spp em alguns produtos cárneos comercializados na região de Campinas - SP.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** Amostras de lingüiça frescal, salsicha a granel e carne previamente moída, foram coletadas em alguns estabelecimentos comerciais da região de Campinas, SP e avaliadas quanto a presença de Listeria spp, segundo a metodologia proposta por McCLAIN & LEE (1988). Simultaneamente ao meio de isolamento seletivo recomendado por estes autores, utilizou-se o meio Ágar Vogel-Johnson modificado - MVJ (BUCHANAN et alii, 1987), incubado a 35°C por 48 h. As colônias suspeitas foram estriadas em Ágar soja trip-tose (TSA) enriquecido com extrato de levedura (YE) e incubadas a 35°C por 24 h, a fim de verificarmos sua pureza. As colônias típicas (cor verde-azulada quando examinadas sob luz transmitida) foram testadas para coloração de Gram; motilidade em lâmina e em tubo; produção de H<sub>2</sub>S e indol; produção de catalase, oxidação e produção de hemólise em Ágar sangue de cavalo. As culturas com reações bioquímicas típicas foram consideradas como pertencentes ao gênero Listeria.

**RESULTADOS:** Das amostras examinadas, 85% das salsichas, 100% das lingüiças frescal e 100% das carnes previamente moídas foram positivas para Listeria spp.

Realizado com auxílio financeiro do CNPq.

Isolamento de Salmonella sp em linguiça frescal comercializada em açougues e feiras livre de Londrina.

J.M. GRATON<sup>\*</sup>; E.C. VESPERO<sup>\*</sup>; R.B. REIS<sup>\*\*</sup>; H.O. SARIDAKIS<sup>\*\*\*</sup>.

Departamento de Patologia Geral - Centro de Ciências Biológicas - Universidade Estadual de Londrina.

Foram coletadas 144 amostras de linguiça frescal suína em 3 açougues e 3 feiras livre de Londrina durante 12 meses. As amostras eram inicialmente semeadas em água peptonada 1% para pré-enriquecimento e encubadas 18 hs 36°C. Em seguida eram transferidas para caldo tetrationato com 40 mg/ml e após 24 horas eram semeadas em Agar Verde Brilhante (AVB) e Salmonella-Shigella (SS). As colônias típicas eram semeadas em EPM, mili e citrato. As bactérias com série bioquímica característica para Salmonella eram submetidas à sorologia com soro polivalente PROBAC, sendo, as positivas, enviadas para o Instituto Adolfo Lutz para a tipagem sorológica.

Obteve-se nove sorotipos diferentes sendo eles : S. meleagridis, S. brandenburg, S. agona, S. panama, S. infantis, S. givè, S. oranienburg, S. coeln, S. I 4,5, 12:Y-.

Os resultados obtidos sugerem que as condições sanitárias desse alimento não oferecem segurança à população que o ingere, principalmente quando se considera o hábito de comê-la mal cozida ou crua.

\* Bolsistas CNPq.

\*\* Mestranda em Ciências de Alimentos - UEL

\*\*\* Docentes do Depto. de Patologia Geral. CCB/FUEL.

Modelos de resistência a drogas antimicrobianas de amostras de Salmonella sp isoladas de linguça.

E.C. VESPERO \*; J.M. GRATON\*; E.G. CRISTÓVÃO \*; J.S. Pe layo\*\*.

Departamento de Patologia Geral - Centro de Ciências Biológicas - Universidade Estadual de Londrina.

Os modelos de resistência a drogas antimicrobianas foram estudadas em 29 cepas de Salmonella, pertencentes a diferentes sorogrupos isoladas de 144 amostras de linguça frescal comercializada em açougues e feiras livres de Londrina. O teste de sensibilidade foi realizado pela técnica de difusão (BAUER et alli), utilizando 9 drogas antimicrobianas : Cloranfenicol, Ampicilina, Amicacina, Pefloxacina, Gentamicina, Cefalotina, Tetraciclina, Fosfomicina e Co-trimoxazol.

Todas as cepas apresentavam sensibilidade ao Co-trimoxazol, Gentamicina, Pefloxacina e Cefalotina. Somente uma cepa foi resistente ao Cloranfenicol e outra cepa resistente à Amicacina. quatro cepas foram resistentes a Fosfomicina e seis resistentes à Ampicilina.

A frequência de cepas resistentes a Ampicilina encontrada no presente trabalho causa preocupação dada a importância desse antibiótico no tratamento da salmonelose humana.

\* Bolsistas CNPq.

\*\* Docente do Depto. de Patologia Geral. CCB/FUEL.

## TÍTULO - SALMONELAS EM CARNES FRESCAS E EMBUTIDAS - INCIDÊNCIA E MEIOS DE CULTURA PARA O SEU ISOLAMENTO

**AUTORES**- D.S.GELLI; P.M.PARDINI; S.MENICUCCI; M.C.LIMA

**INSTITUIÇÃO**: LABORATÓRIO NACIONAL DE REFERÊNCIA ANIMAL - LANARA

**OBJETIVO**: Comparação dos meios de enriquecimento no isolamento de salmonelas. Verificação da incidência do microrganismo em produtos cárneos. **MATERIAL**: Amostras de carnes frescas de equinos, bovinos e suínos e embutidos frescos de suíno, entregues pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF). Caldos de pré-enriquecimento: CL, APT, SR. Caldos de enriquecimento seletivo: SC, TK, RV. Meios seletivos diferenciais: BGA e BSA. Meios de identificação presuntiva: TSI e LIA. Meios de identificação bioquímica. Antiseros polivalentes. **MÉTODO**: Cada amostra foi picada em triplicata (25g) e colocada em 225 ml de CL, APT e SR. Incubadas a 37 C/18-21 hs. Transferidos 1 ml/10 ml de SC e TK e 0,1 ml/10 ml de RV e incubados a 37 e 43 C/24 e 48 hs. Cada caldo então foi semeado em BGA/24 hs e BSA/48 hs a 37 C. Colônias suspeitas isoladas em meios presuntivos a 37 C/24 hs. Reações compatíveis de salmonela foram testadas bioquimicamente e confirmadas com antiseros polivalentes O e H.

**RESULTADOS/CONCLUSÃO**: Foram analisadas 89 amostras de carnes frescas e embutidas, verificando-se que 80% (4/5) das carnes suínas, 50% (8/16) das linguiças frescas, 6,8% (4/59) das carnes bovinas e 0% (0/9) das carnes de equídeos, foram positivas para salmonelas.

Das 62 cepas isoladas, 27,42% foram através de pré-enriquecimento não seletivo em água peptonada a 1% tarponada (APT), 45,16% em solução de RINGER diluída a 1/4 (SR) e 27,42% em caldo lactosado (CL).

Dentre os caldos de enriquecimento seletivo, o tetrationato modificado por KAUFFMANN (TK) permitiu isolar 32,36% das 62 cepas, o selenito-cistina (SC) 24,19% e o Rappaport-Vassiliadis (RV) 43,54%. 73 amostras foram analisadas em duplicata, incubando-se os caldos de enriquecimento seletivo em 2 temperaturas: 37 e 43 C. A combinação SR-RV e CL-RV a 43 C, permitiu isolamento de maior nº de cepas comparativamente à combinação CL-TK e CL-SC a 37 C (7 e 1 cada, respectivamente ou 11,29% e 1,61%). Os testes em duplicata mostraram 5 amostras positivas só pela incubação a 43 C; 7 amostras para ambas (37 e 43 C) e nenhuma só a 37 C. Das 62 cepas isoladas, 69,35% foram pela incubação a 43 C e 30,64% a 37 C. O meio seletivo diferencial de bismuto de sulfito (BSA), foi mais efetivo que o agar verde brilhante (BGA).

Pelos dados obtidos recomenda-se a incubação dos caldos de enriquecimento seletivo a 43 C e a combinação SR-RV.

- Pesquisa financiada pelo ONPq - Proc. nº 823070/87-5/Bm/DF.

## VERMELHÃO E FERMENTAÇÃO DO CHARQUE

M.N.O. Stabile; R. Baruffaldi e T.C. Vessoni Penna  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP C.P. 30.786 CEP  
01051 São Paulo, SP

Os problemas relacionados com o charque em sua grande maioria podem ser resumidos a apenas dois principais: a vermelhidão, causada por bactérias halófilas, e a fermentação, de vida principalmente à demora de perda de água por parte da carne.

Esses são muito importantes sobre os mais diferentes aspectos, porque aparecem sobre o produto um exudato viscoso, de coloração rósea avermelhada, cheiro penetrante, peculiar e repugnante.

Os tópicos mais importantes a serem investigados são: higiene do local, tempo de secagem, localização da charqueada, água de lavagem e higienização.

Os resultados das análises microbiológicas tem demonstrado de forma cabal o ponto mais sensível que deve ser atacado prioritariamente. Amostras coletadas indicaram a presença de uma população bacteriana superior a  $1 \times 10^4$  UFC/g, inclusive de coliformes fecais e clostrídio sulfito redutores.

Nas diversas etapas estudadas foi possível verificar que o vermelhão pode se desenvolver mesmo antes de se dar os 4 tombos, antes do fim do processo.

CARCAÇAS DE FRANGO PRONTAS PARA CONSUMO COMO FONTE DE INFECÇÃO ENTÉRICA PELO Campylobacter jejuni.

T.C. Dias, D.M.M. Queiroz, E.N. Mendes, J.N. Peres

Laboratório de Pesquisa em Bacteriologia - Faculdade de Medicina da UFMG

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de investigar fontes e modo de transmissão da infecção entérica causada pelo C.jejuni em Belo Horizonte, onde este microrganismo é um importante enteropatógeno. C. jejuni foi pesquisado em carcaças de frangos prontas para o consumo e em fezes de magarefes de abatedouros "clandestinos" e industriais, tendo sido isolado de 19 (38%) dentre 50 carcaças e de 2 (13%) dentre 13 amostras de fezes provenientes de abatedouros "clandestinos" e de 1 (2%) dentre 50 carcaças de abatedouro industrializado. Nestes últimos, o microrganismo não foi isolado de nenhuma das 40 amostras de fezes examinadas. Os perfis em gel de poliacrilamida, as características bioquímicas e os padrões de susceptibilidade aos antimicrobianos apresentados pelas amostras isoladas das carcaças foram muito semelhantes aos das amostras isoladas de magarefes. Conclusão - As diferenças observadas, quanto ao isolamento do microrganismo nos diversos tipos de abatedouro, provavelmente, se devem às particularidades de cada um deles, como as baixas condições de higiene observadas nos "clandestinos".

NÍVEL DE CONTAMINAÇÃO POR CAMPYLOBACTER JEJUNI E CAMPYLOBACTER COLI EM CARÇAÇAS DE FRANGO RECÉM ABATIDO NA CIDADE DO RIO DE JANEIRO.

M.S. Pinheiro e A. Tibana

Departamento de Microbiologia Médica do Instituto de Microbiologia da UFRJ.

Poucas são as informações disponíveis sobre o nível de contaminação por Campylobacter jejuni e Campylobacter coli em carcaças de frango no nosso meio. Neste estudo, 15 carcaças de frango recém abatido, comercializadas na cidade do Rio de Janeiro, foram examinadas quanto ao nível de C. jejuni e C. coli.

Três alíquotas de 20 µl das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  preparadas a partir da água de lavagem das carcaças, foram semeadas nos meios seletivos Agar Skirrow e Agar Camp-Bap. Após incubação a 42°C durante 48 horas em atmosfera de microaerofilia, foi calculado o número de unidades formadoras de colônias por mililitro. Níveis de Campylobacter entre  $1,2 \times 10^2$  ufc/ml e  $8,0 \times 10^5$  ufc/ml foram observados.

Embora a dose mínima infectante para humanos não tenha sido determinada, infecção experimental foi induzida em humanos pela ingestão de 500 células de C. jejuni isolado de surto por leite contaminado. Os elevados níveis observados nesta pesquisa, indicam o risco de contaminação humana a partir desta fonte de alimento em nosso meio.

Orgãos financiadores: CNPq, FINEP e CEPG da UFRJ.

CARACTERIZAÇÃO E BIOTIPAGEM DE CEPAS DE CAMPYLOBACTER TERMOFÍLICOS ISOLADAS DE CARCAÇAS DE FRANGO NA CIDADE DO RIO DE JANEIRO.

M.S. Pinheiro, D.S. Côes e A. Tibana

Departamento de Microbiologia Médica do Instituto de Microbiologia da UFRJ.

Campylobacter jejuni e Campylobacter coli são atualmente um dos mais importantes agentes de gastroenterite de origem alimentar, destacando-se a galinha como um dos principais veículos de transmissão. Visando um melhor esclarecimento sobre as relações epidemiológicas entre os reservatórios animais e as campylobacterioses humanas, um total de 60 cepas de Campylobacter termofílicos isoladas de 91 carcaças de frango, foram identificadas por suas características bioquímicas e fisiológicas e biotipadas de acordo com os esquemas propostos por Skirrow & Benjamin (1980) e Lior (1984).

Entre as cepas biotipadas pelo esquema de Lior, 9 (15,0%) foram C.jejuni biotipo I, 28 (46,7%) foram C.jejuni biotipo II, 4 (6,6%) foram C.coli biotipo I e 19 (31,7%) foram C.coli biotipo II. De acordo com o esquema de Skirrow & Benjamin todas as cepas de C.jejuni e C.coli foram classificadas no biotipo I e nenhuma cepa foi resistente ao ácido nalidíxico. Os resultados indicam que os biotipos de maior prevalência nos casos de campylobacterioses foram também observados entre as cepas estudadas. Entretanto, torna-se necessário o estudo de outros marcadores visando um maior esclarecimento sobre a epidemiologia deste microrganismo.

Órgãos financiadores: FINEP, CNPq e CEPG da UFRJ

CONTAGEM E IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS PRODUTORAS DE HISTAMINA E AVALIAÇÃO DOS RISCOS DESTA EM PESCADO E EM PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL.

J.C.A.F. CARVALHO; R.M. FRANCO; L.A.T. OLIVEIRA  
FACULDADE DE VET ZINÁRIA - UFV

Os nossos objetivos foram avaliar a ocorrência de bactérias histamina positivas (produtoras de histamina) e os níveis desta. Em nosso país são escassos os trabalhos científicos nesta área. Não estão definidos os níveis de contaminação de diferentes alimentos, e os germes envolvidos, que são dados imprescindíveis para se minimizar os riscos de intoxicação ou envenenamento alimentar.

Foram analisadas amostras de pescado (fresco e enlatado), queijo mineiro frescal, linguiça frescal e presunto cozido. Para contagem utilizou-se o meio proposto por NIVIM et alii, 1978. A dosagem de histamina foi realizada através de fluorometria (AOAC, 1980) e a identificação dos germes seguiu o SPECK, 1976.

Os níveis de histamina observados nos diversos tipos de alimentos analisados foram baixos (0,0 a 3,775mg/100g). Isso, de certa forma, era esperado, pois as amostras analisadas, quando adquiridas, se encontravam com bom aspecto e em condições satisfatórias de conservação (refrigeração). A produção de histamina por alguns germes isolados variou de 50 a + de 600mg/100g. A contagem de bactérias histamina positivas (UFCs características) ficou em média, para todos os tipos de alimentos analisados, em torno de  $10,6 \times 10^6$ . Os gêneros de maior incidência foram os da fam. Enterobacteriaceae.

Os resultados obtidos demonstraram que os alimentos mantidos em boas condições de conservação (sob refrigeração) e preparados a partir de matéria-prima de boa qualidade (sardinha enlatada, visto que a histamina é termorresistente) apresentaram níveis baixos de histamina. Os mesmos apresentaram microrganismos histamina positivos (descarboxiladores de histidina), que se submetidos a condições favoráveis ao seu desenvolvimento (mas condições de conservação e temperatura ambiente por volta de 25°C), podem se desenvolver e, dependendo do teor de histidina no alimento e do tempo que este estiver sob condições desfavoráveis (conservação), podem produzir histamina em níveis suficientes para desencadear um processo de intoxicação, em função da resistência do organismo do ingestor.

MICROBIOTA LEVEDURIFORME DA PORÇÃO FINAL DO TRATO INTESTINAL DE Rana catesbeiana (SHAW 1802) EM DIFERENTES FASES DE CRESCIMENTO:

J.H.REIS; Y.K.MOREIRA; M.G.A. NOGUEIRA

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA - INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DA UFMG.

Entre novembro de 1987 a março de 1988 foram estudadas as porções terminais do intestino grosso de 64 rãs da espécie Rana catesbeiana, criadas em confinamento. Os objetivos foram conhecer a microbiota leveduriforme do trato intestinal de Rana catesbeiana em diferentes fases de crescimento, correlacionar a microbiota encontrada com os diferentes tipos de alimentos fornecidos aos animais e verificar a presença de leveduras potencialmente patogênicas para o homem. Isolou-se 129 espécies de leveduras que foram identificadas pela morfologia macro e microscópica e por testes fisiológicos. A análise dos resultados permitiu estabelecer que: as leveduras fazem parte da microbiota do trato alimentar da Rana catesbeiana; animais submetidos a dietas diferenciadas, resultaram no isolamento de 129 espécies de leveduras pertencentes aos gêneros Candida, Cryptococcus, Rhodotorula, Saccharomyces e Trichosporon; a transição do ambiente aquático para o terrestre parece contribuir na qualidade da microbiota leveduriforme; foram isoladas leveduras potencialmente patogênicas para o homem, como: C. tropicalis, C. Krusei; Cr. luteolus, S. cerevisiae e T. cutaneum. Os dados numéricos encontrados sugerem com relação a Cândida rugosa, tratar-se de levedura autóctone do trato alimentar destes animais.

FLORA FÚNGICA EM CARNES DE RÃS ABATIDAS PARA O CONSUMO HUMANO - Rana catesbeiana (SHAW, 1802)

\* M.G.A.NOGUEIRA; \*\* J.H.REIS; \*\*\* Y.K.MOREIRA

\* EF/UFOP \*\* PUC/MG \*\*\* ICB/UFMG

Vários fungos leveduriformes e filamentosos têm sido isolados de intestino e órgãos internos de anfíbios no Brasil. Entre os fungos isolados, alguns são conhecidos pela patogenicidade para o homem e animais, apesar dos animais examinados não apresentarem lesões macroscópicas e histopatológicas. Nesse trabalho pretende-se conhecer a microbiota fúngica encontrada em carnes de rãs de abatedouros artesanais e industriais e comparar os resultados obtidos. As amostras obtidas, até o momento, procederam de quatro abatedouros de diferentes pontos do Brasil, compreendendo lotes de 10 animais. Em laboratório as coxas foram processadas pelos métodos da submersão e maceração, em meios de enriquecimento. As leveduras isoladas estão em processo de identificação de acordo com as técnicas de KREGER-van RIJ (1984), e os fungos filamentosos pela morfologia macro e microscópica. OS resultados parciais revelaram a presença de 137 fungos dos quais 106 compreendiam fungos leveduriformes e 31, filamentosos. Os gêneros de leveduras encontrados foram: Candida, Trichosporon, Rhodotorula, Cryptococcus, Geotrihum, Kloeckera, Kluyveromyces, Debaryomyces e Hansenula, sendo que algumas espécies isoladas (C.albicans, C.krusei e T. cutaneum) são conhecidas pelo seu potencial patogênico para o homem. Dentre os fungos filamentosos foram isolados os gêneros Rhizopus, Fusarium, e Paecilomyces. Os resultados preliminares sugerem que a contaminação da carne pode ser proveniente do conteúdo intestinal no processo de evisceração, ou ainda da excessiva manipulação durante o processamento de rãs.

INFLUÊNCIA DO PROCESSAMENTO DE CARNES, EM RESTAURANTES  
INDUSTRIAIS, NO DESENVOLVIMENTO DE CLOSTRÍDIOS  
SULFITO REDUTORES

A.L. Mesquita; T.C. Vessoní Penna e Z.A. Mello  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP. CxP. 30.786. CEP  
01051 São Paulo, SP.

No grupo dos clostrídios sulfito redutores, o Clostridium perfringens tem sido isolado, com frequência, em carnes "in natura" e processadas, coletadas em diferentes restaurantes industriais. Objetiva-se estabelecer o par tempo-temperatura de ativação e inativação dos esporos deste microrganismo, durante a cocção do alimento e adotar medidas corretivas e/ou preventivas, padronizando as diferentes etapas de processamento, afim de e eliminar a carga microbiana final. O processamento de alimentos em restaurantes industriais estende-se desde o recebimento da matéria-prima até a distribuição do alimento pronto para consumo. A população de clostrídios sulfito redutores está diretamente relacionada à qualidade da matéria-prima e do par tempo-temperatura durante as diferentes etapas de processamento. Utilizando-se ágar S.P.S., seletivo para clostrídios, obtem-se o número de clostrídios sulfito redutores presentes por grama de alimento. Procede-se então, a série bioquímica para isolamento e identificação de Clostridium perfringens. A incidência de ocorrência de clostridium sulfito redutores, em amostras de carnes analisadas, nas diferentes etapas de processamento, em diferentes restaurantes industriais da região de São Paulo é de 60%, com positividade para Clostridium perfringens em 40% das amostras.

OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES FÍSICAS DE INSTALAÇÃO NA MANIPULAÇÃO E PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS EM RESTAURANTES INDUSTRIAIS

Z.A. Mello; T.C. Vessoni Penna; E.M. Fontes e M. Baldi  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP. C.P. 30.786.  
CEP 01051 São Paulo, SP.

Levantamento das condições higiênico-sanitárias, em restaurante industrial, foi realizada incluindo pesquisas microbiológicas das áreas físicas, das etapas de manipulação e processamento de alimentos; e, dos próprios alimentos, como matéria-prima, pré-processadas e no momento da distribuição. Os recursos físicos que influenciaram negativamente para o desenvolvimento de boas práticas de manipulação do trabalho operacional deste restaurante são destacados em: a) área total de 100 m<sup>2</sup>, inadequada para a preparação de 2.200 pratos por refeição; b) presença de moscas devido ao cultivo de larvas em canaviais próximos; c) como frigorífico diretamente exposto ao sol, armazenando todo gênero de matéria-prima pré e processado; d) ausência total de infra-estrutura de canalização de água potável e água servida; e) inexistência de separação física entre as diferentes áreas de preparação; f) ausência de sistema de refrigeração; g) temperatura da área de preparação atingindo pico de 40°C; g) ausência completa de higienização pessoal e inclusive durante a lavagem de utensílios e equipamentos. Foi organizado plano de trabalho para adequar às condições físicas de instalação objetivando o melhoramento das condições higiênico-sanitárias durante as diversas etapas de processamento de alimentos. Os principais resultados obtidos foram: a) redução de pelo menos 3 ciclos logarítmicos na contagem de microrganismos mesófilos, coliformes totais, fecais, E.coli e S.aureus nos alimentos pré e processados, com excessão de clostrídios sulfito redutores; b) margem de segurança de pelo menos 2 ciclos log de microrganismos em utensílios; c) redução de 1 ciclo log na contagem padrão de áreas.

ANALISIS DE RIESGOS Y DETERMINACION DE PUNTOS CRITICOS DE CONTROL (ARPCC) EN 50 RESTAURANTES DE LA CIUDAD DE LIMA.

M.A.Ratto S, C. Vega., T.Garrido, C. López, I.Gutiérrez.

Centro Latinoamericano de Enseñanza e Investigación de Bacteriología Alimentaria (CLEIBA). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima (PERU)

Se realizó una Inspección Higiénico Sanitaria y un Análisis de Riesgos asociado con la preparación de comidas en 50 establecimientos de servicio de alimentos, seleccionados al azar.

El estudio comprendió un examen visual de la limpieza y orden en los diferentes ambientes y una evaluación microbiológica de superficies, utensilios y vajilla; higiene del personal y comidas preparadas.

La evaluación visual de ambientes dió como resultado: 30% presentaba la cocina limpia, 62% el comedor limpio; 30% almacenamiento correcto de los alimentos y 36% de utensilios y vajilla limpios; 22% ubicación correcta del material de limpieza y 16% el material de desperdicios.

Los resultados obtenidos revelan que las condiciones higiénicas de manos de manipuladores son inaceptables en un 88%, de cubiertos en un 70%, de vajilla en un 94% y de las superficies de trabajo de las cocinas, como mesas y tablas de picar se consideran inaceptables en un 100%.

Finalmente, se rechazaron el 25% de platos cocidos calientes, el 100% de platos cocidos fríos y el 100% de platos fríos (entradas).

EVALUACION MICROBIOLOGICA DE PRODUCTOS AGRICOLAS PROCEDENTES DE MERCADOS EN LA CIUDAD DE LIMA.

M.A. Ratto S., I. Gutiérrez, V. Yrei

Centro Latinoamericano de Enseñanza e Investigación de Bacteriología Alimentaria (CLEIBA). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. PERU.

Se han analizado 1,250 productos agrícolas procedentes de los diferentes mercados, los cuales fueron clasificados por el tipo de crecimiento en tres grupos:

Vegetalis que crecen bajo tierra (VBT).

Vegetalis que crecen a flor de tierra (VFT)

Vegetalis de tallo alto (VTA).

El Plan de Muestreo y los métodos empleados han sido los recomendados por el Comité Internacional sobre Especificaciones Microbiológicas de los Alimentos (ICMSF).

Los parámetros microbiológicos analizados fueron: Numeración de Coliformes Fecales y E. coli e Investigación de Salmonella.

La calificación de los productos fue basada en el Programa de Muestreo de tres clases, obteniéndose los siguientes resultados:

Aceptables 6%, Provisionalmente Aceptables 16% y Rechazables 78%.

PARÂMETROS DE RESISTÊNCIA DE CEPAS DE ESCHERICHIA COLI  
FRENTE AO AGENTE QUÍMICO CLORO DURANTE A HIGIENI  
ZAÇÃO DE HORTALIÇAS

L.E. Abre; T.C. Vessoni Penna; D. Nogueira e I.A. Ma  
choshvili

Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP. C.P. 30.786,  
CEP 01051, São Paulo, SP

A determinação de parâmetros de resistência de ce-  
pas de E. coli e a avaliação de procedimentos de higieni-  
zação de hortaliças, utilizando-se o agente químico cloro, fo-  
ram realizados em 2 etapas. Na 1ª etapa, 5 cepas de Escheri  
chia coli, isoladas de alface (Lactuca sativa), e 2 com-  
provadamente toxicogênicas (TR69 e TR101), isoladas de alimen-  
tos, foram submetidas aos ensaios de determinação da resistên-  
cia ao cloro ativo à concentração de 10 ppm, em solução aquo-  
sa ao valor de pH 6,8 e à temperatura de 30C. A cepa de Es-  
cherichia coli isolada de alface (1A) mostrou resistência si-  
milar à cepa TR69 toxicogênica (valor D igual a 60 seg.). A  
cepa toxicogênica TR69 foi submetida aos mesmo ensaios de re-  
sistência, mantendo-se constante a concentração de cloro li-  
vre de 10 ppm, a temperatura de trabalho de 30C e variando-se  
o valor de pH da solução de cloro em tampão fosfato, obtendo-  
se os seguintes valores de D :

Concentração de cloro livre	Valor de pH da solução	Valor D (s)
10	5,4	15,4
10	5,6	18,0
10	6,8	60,0
10	8,2	32,0

Na 2ª etapa, pés de alface previamente contaminados com sus-  
pensão de cepa 1A de E.coli foram submetidas ao processo de  
higienização utilizando-se concentrações da ordem de 30,40,50  
e 60 ppm de cloro livre ao valor de pH 8,2 e temperatura am-  
biente pelos tempos de 5,15 e 30 minutos de exposição. Houve  
redução de 2 ciclos logarítmicos do número inicial de E.  
coli 1A.

OSCILAÇÕES DAS ESPÉCIES DE LEVEDURAS DURANTE A FLORAÇÃO E O DESENVOLVIMENTO DO FRUTO DO ABACAXIZEIRO.

P.G. Robbs<sup>1</sup>, V. Favari<sup>1</sup> e H.N. Hagler<sup>2</sup>

1- DEPT. TECNOL. ALIM. / UFRRJ; 2. INST. MICROBIOL. / UERJ.

As contagens de leveduras e as proporções de cada espécie na população, foram determinadas desde a emissão das flores até a maturação dos frutos de abacaxi.

Durante a floração, Rhodotorula rubra, Candida guilliermondii e Cryptococcus flavus predominaram. Cryptococcus flavus estava em número reduzido nos frutos imaturos e C.guilliermondii constituía mais de 80% da população de leveduras. Hanseniaspora guilliermondii e C.guilliermondii eram as espécies predominantes na superfície de frutos maduros e C.guilliermondii na polpa.

COMPORTAMENTO DA POPULAÇÃO DE LEVEDURAS EM UMA PLANTAÇÃO DE ABACAXI DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO.

P.G. Robbs<sup>1</sup>, N.K. Robbs<sup>1</sup> e A.N. Halger<sup>2</sup>

1. DEPT. TECNOL. ALIMENTOS/UNIV. FED. RURAL DO RJ; 2. INST. MICROBIOLOGIA UNIV. FED. RJ.

FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO E INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO.

A população de leveduras de uma plantação de abacaxi localizada no Município de Araruama, Rio de Janeiro, foi estudada com relação a sua distribuição e associação com outras populações microbianas.

As populações de leveduras foram predominantes entre os grupos de microrganismos estudados, tendo as contagens nas flores e frutas variado de  $2,2 \times 10^5$  a  $1,1 \times 10^6$  UFC/g. As populações de bolores aumentou da fase floração até o início da formação dos frutos. Bactérias gram negativas tiveram uma participação significativa nas flores e frutos imaturos. Bactérias lácticas e acéticas não foram encontradas em grande proporções na cultura.

IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS TERMORRESISTENTES ISOLADOS DE POLPA MORANGO

G.M.F. ARAGÃO\*; P.R. MASSAGUER\*; M.J.S. FERNANDES\*\*

\*Depto de Ciências de Alimentos - FEA - UNICAMP-Campinas, SP.  
 \*\*Depto de Micologia. Centro de Ciências Biológicas - UFPE - Recife, PE.

OBJETIVO: Identificação de fungos termorresistentes, que podem sobreviver ao tratamento térmico utilizado na pasteurização de suco de morango e outros produtos desta fruta.

MATERIAIS E MÉTODOS: ISOLAMENTO: Foram colocados 100 g de polpa de morango em erlenmeyer estéril de 250 ml, onde foi submetida a um tratamento térmico de 70°C por 2 horas, seguido de imediato resfriamento em banho de gelo. O plaqueamento foi feito em Batata-Dextrose-Agar (B.D.A.) + 8.3 µg/mg de Rosa de Bengala com incubação a 30°C por 5 a 7 dias e as colônias posteriormente isoladas em tubo com B.D.A. IDENTIFICAÇÃO: A identificação foi feita pela observação macroscópica da colônia em placas de Czapeck, B.D.A. e microscopia por cultivo em lâmina, utilizando-se como corante o Azul de Amann.

RESULTADO: Foram isolados 58 fungos à partir de 15 amostras de polpa de morango escolhidas aleatoriamente. O resultado da identificação foi o seguinte: FUNGOS PERFEITOS: 4 Byssochlamys nivea; 2 Neosartorya fischeri; 3 Talaromyces flavus var. flavus; 2 Talaromyces trachyspermus; 1 Talaromyces wortmannii; 1 Talaromyces sp.; 19 Eupenicillium javanicum var. javanicum; 5 Eupenicillium euglaucum; 6 Eupenicillium sp. FUNGOS IMPERFEITOS: 1 Paecilomyces penicillatus; 3 Paecilomyces varioti; 1 Paecilomyces lilacinus; 1 Penicillium chermesium; 1 Penicillium steckii; 3 Penicillium sp.; 3 Aspergillus fumigatus; 2 Mycelia sterilia.

TOXINFECÇÃO ALIMENTAR - DIAGNÓSTICO EPIDEMIOLÓGICO E BACTERIOLÓGICO DE UM CASO OCORRIDO NO RIO DE JANEIRO

A.S. Rosado \*  
K.R.A. da Silva \*  
P.M. Sá  
J.C.O. Tórtora

Instituto Gonzaga da Gama Filho - UGF - RJ

\* Bolsistas do CNPq

Em março de 1989, dez pessoas consumiram pernil de porco assado e, após 11 horas, apresentaram náuseas, cólicas intestinais e diarreia que permaneceram por 12 horas. O alimento foi preparado na própria residência, na cidade de Volta Redonda-RJ e transportado por 4 horas até Rio das Ostras-RJ, onde foi congelado por 2 dias.

Os dados epidemiológicos sugeriram a pesquisa de B.cereus e C.perfringens.

O isolamento, a identificação e os testes de enterotoxigenicidade para C.perfringens foram segundo Tórtora (Microbiol.Immunol.29:509,1985), enquanto que os bacilos aeróbios esporulados foram identificados pela morfologia colonial (agar gema-manitol, Merck), morfologia celular, Gram, motilidade, redução do nitrato, hidrólise da gelatina, ação sobre o leite e fermentação de carboidratos. Os enterococos foram crescidos em pH 9,6, a 46°C, em 6,5% de NaCl, em bile-esculina e em leite com 0,1% de azul de metileno. A pesquisa de mesófilos foi feita em agar padrão para contagem (Merck).

Os resultados evidenciaram  $9,0 \times 10^6$  ufc/g de C.perfringens. Dez colônias foram examinadas e dadas como termossensíveis e ent-. Não se isolou B.cereus. Mesófilos ( $5,2 \times 10^7$  ufc/g) foram identificados como enterococos.

Concluiu-se que a contaminação deu-se pós-preparo e a conservação foi inadequada. Pelos padrões legais vigentes o alimento apresentou-se "potencialmente capaz de causar toxinfecção" e que os enterococos tenham sido as bactérias de maior significado clínico neste caso.

Staphylococcus aureus - INTOXICAÇÃO ALIMENTAR DE UMA FAMÍLIA NO RIO DE JANEIRO.

K.R.A. da Silva \*  
A.S. Rosado \*  
R.L.R. Seixas  
M.A.L. Miguel  
J.C.O. Tórtora

Instituto Gonzaga da Gama Filho - UGF - RJ

\* Bolsistas do CNPq.

No Natal de 1988, 4 membros de uma família da cidade do Rio de Janeiro consumiram carne de peru defumada, preparada numa confeitaria do bairro das Laranjeiras. Todos apresentaram náuseas, vômitos, diarreia e sudorese, num período de 5 horas, permanecendo por duas horas após medicação anti-emética e anti-espasmolítica. As contagens de mesófilos e Staphylococcus aureus foram realizadas, respectivamente, em agar padrão para contagem e em agar-manita-sal (Merck). A identificação de S. aureus foi feita pela morfologia e pigmento coloniais, coloração de Gram, morfologia celular, fermentação do manitol e teste da coagulase. A pesquisa de enterotoxina nas amostras isoladas foi realizada no Instituto de Microbiologia da UFRJ (cortezia da Dra. Alba L. Noletto).

Os resultados evidenciaram  $5,9 \times 10^7$  ufc/g e  $4,0 \times 10^7$  ufc/g, respectivamente, para mesófilos e S. aureus. As amostras de S. aureus, examinadas por imunodifusão, apresentaram capacidade de sintetizar enterotoxina tipo A.

Concluiu-se que o alimento encontrava-se em desacordo com os padrões legais vigentes e que S. aureus foi o agente causador da intoxicação.

Pelo fato do alimento ter sido consumido cerca de duas horas após o preparo, evidenciou-se que a contaminação ocorreu no próprio estabelecimento comercial, sugerindo que o mesmo possa ter ocorrido com outros alimentos e pessoas, naquela ocasião.

INTOXICAÇÃO ALIMENTAR POR ENTEROTOXINA ESTAFILOCÓCICA NO ESTADO DE SÃO PAULO

GELLI, D.S.; TANAKA, A.Y.; ROCHA, M.M.M.; PISANI, B.; FREITAS, A.; ESPER, M.R.N.R.; RIBEIRO, E.G.A.; KAKU, M.; PACHECO, M.A.S.R.; CASTRO, M.T.F. e VICENTE, M.P.

Instituto Adolfo Lutz - Laboratórios Central e Regionais.

OBJETIVO: Análise dos dados de doenças transmitidas por alimentos (DTA), para avaliação epidemiológica e sanitária de alimentos.

MATERIAL E MÉTODOS: Dados epidemiológicos e clínicos (nº de afetados / expostos), pesquisa e quantificação de *S. aureus* nos restos dos alimentos veiculadores, conforme os dados de campo.

RESULTADOS: Nos anos de 1987 e 1988, foram relatados 43 surtos com características clínicas de intoxicação por estafilotoxina, assim distribuídos: São Paulo (20); Ribeirão Preto (11); Santos e Sorocaba (4 cada); São José do Rio Preto (1); Presidente Prudente (1) e Bauru (2). Os alimentos veiculadores mais frequentes foram: bolo confeitado (53,48%), pratos prontos (11,62%) e produtos cárneos (11,62%). O número de *S. aureus* encontrado em 39 dos surtos foi superior a  $10^5$ /g. O total de pessoas afetadas foi de 2.755, em 22 dos eventos (125,2/evento).

CONCLUSÃO: As ocorrências desta classe de DTA são numerosas e carecem de informações epidemiológicas e de comportamento do *S. aureus* nos alimentos.

*Staphylococcus aureus* EM ALIMENTOS: SENSIBILIDADE A ANTIBIÓTICOS E QUIMIOTERÁPICOS DE CÉPAS ISOLADAS EM EVENTOS DE INTOXICAÇÃO ESTAFILOCÓCICA

GELLI, D.S.; VICENTE, M.P.; CASTRO, M.T.F.; PACHECO, M.A.S.R.; KAKU, M.; RIBEIRO, E.G.A.; ESPER, M.R.N.R.; FREITAS, A.; PISANI, B.; ROCHA, M.M.M. e TANAKA, A.Y.

Instituto Adolfo Lutz - Laboratórios Central e Regionais.

Foi verificado o comportamento de 20 cepas de *S. aureus*, isoladas de materiais relacionados com eventos de intoxicação estafilocócica, frente a antibióticos e quimioterápicos. A finalidade foi a de analisar resistência/sensibilidade como um possível marcador epidemiológico. Os dados mostram que, dentre as 20 cepas isoladas em números compatíveis com a dose infectante nos alimentos, todas foram sensíveis a rifampicina, cefalotina, carbênicilina, nitrofurantoína, vancomicina, eritromicina, gentamicina e cloranfenicol, 5% (1/20) resistente ao ácido nalidíxico, à polimixina, ao sulfazotrim e à tetraciclina; 15% (3/20) resistentes à kanamicina e 80% (16/20) à penicilina. 3 cepas mostraram-se sensíveis a todos os antibióticos e quimioterápicos testados; 5 cepas mostraram resistência simultânea a 2 antibióticos e 1 cepa, resistência tripla. Das duas cepas isoladas de 2 portadores na região nasofaríngea, ambos manipuladores de alimento veiculador da intoxicação, uma mostrou-se resistente só à fosfomicina e a outra à polimixina e penicilina. Os dados obtidos neste levantamento, sugerem que o teste realizado é pouco significativo como marcador epidemiológico.

AValiação DA PRODUÇÃO DE ENTEROTOXINAS ESTAFILOCÔCICAS  
A, D E E.

H.R. Lopes & A.L.S. Noletto

Departamento de Microbiologia Médica, Instituto de Microbiologia da UFRJ

Para estabelecer um diagnóstico correto da intoxicação estafilocócica, torna-se necessário testar a enterotoxigenicidade do Staphylococcus isolado e/ou demonstrar a presença da enterotoxina no alimento incriminado. Pelo menos sete tipos sorológicos destas enterotoxinas foram descritos: EEA (Enterotoxina Estafilocócica A), EEB, EEC<sub>1</sub>, EEC<sub>2</sub>, EEC<sub>3</sub>, EED e EEE. Este trabalho procura determinar as melhores condições para a produção de EEA, EED e EEE com os recursos disponíveis em nosso meio

Foram utilizadas as amostras de S. aureus, FRI-100 e FRI-722 (produtoras de EEA); S-6 (EEB e EEA); FRI-472 e 1151m (EED); FRI-326 (EEE). A metodologia utilizada foi a descrita por Donnelly et al., 1967. Os microrganismos foram inoculados no interior de um frasco Erlenmeyer contendo saco de diálise com um meio de cultura apropriado sob agitação e temperaturas determinadas. A quantificação da enterotoxina produzida foi realizada através do método de Kato et al., 1966. Foram testados volumes de 50, 75 e 100ml dos meios BHI (Brain Heart Infusion-Difco), BHI + 0,018% de arginina, BHI + 1% de extrato de levedura (BHI + EL), BHI + aminoácidos - aa - (0,081% de alanina, 0,072% de glicina, 0,067% de prolina, 0,050% de serina e 0,087% de treonina), TSB (Trypticase Soy Broth), TSB + aa, Biosate Peptona (autólise de levedura e digesto pancreático de caseína-BBL) + EL, sob agitação constante de 50, 100, 150 e 200rpm, à temperatura de 37°C. A velocidade de agitação de 150rpm mostrou-se adequada para a produção das diferentes enterotoxinas, com um volume de 100ml de meio de cultura em concentração dupla. Dos resultados parciais obtidos, o meio BHI apresentou rendimento médio para EEA e EEE superior aos apresentados pelos outros meios testados. Em relação aos meios TSB e Biosate Peptona verificou-se um aumento da produção das enterotoxinas quando os mesmos foram suplementados com 1% de EL.

Órgão financiador: CNPq

ESTUDO DE CONDIÇÕES CULTURAIS PARA A PRODUÇÃO DE  
PROTEÍNAS EXTRACELULARES TOTAIS ISOLADAS DE S. aureus  
ENTEROTOXIGÊNICOS.

F. Herrero., E.Y. Hirooka., N.S. Silva.

Fundação Universidade Estadual de Londrina (FUEL)  
Fundação Universidade Estadual de Maringá (FUEM)

O presente estudo tem como objetivo a avaliação das melhores condições culturais visando uma maior produção de proteínas extracelulares totais, produzida de linhagens de estafilococos enterotoxigênico isolados de portadores sãos, manipuladores e não manipuladores de alimentos.

Foram utilizados linhagens de estafilococos produtores de toxina EEA, EEB, EEC, EED, e TSST-1. As condições culturais eram constituídas de BRAIN HEART INFUSION (Biobras) e TRIPLIC SOY BROTH (Biobras) suplementado extrato de levedo (Difco), tiamina e niacina (Sigma) e sulfato magnésio (Merck). Para produção de proteínas extracelulares utilizou-se série tubos com inóculo de estafilococos enterotoxigênico e série correspondente de tubos sem inóculo. A determinação quantitativa de proteínas extracelulares totais foram realizadas segundo método BRADFORD, através do KIT BIORAD PROTEIN ASSAY. Os resultados foram obtidos através de diferença entre séries tubos com inóculo e sem inóculo. A melhor condição cultural observada para produção de proteínas extracelulares totais isoladas de S. aureus foi a constituída de TRIPTIC SOY BROTH (TSB). Suplementada de tiamina niacina e sulfato de magnésio.

ALTERAÇÕES NO REAGENTE DE BRADFORD NA DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE PROTEÍNAS NAS EXTRACELULARES TOTAIS.

F. Herrero., E.Y. Hirooka., N.S. Silva.

Fundação Universidade Estadual de Londrina (FUEL)  
Fundação Universidade Estadual de Maringá (FUEM)

Objetivo deste trabalho foi realizar um estudo visando as melhores condições para determinação quantitativa de proteínas extracelulares totais de sobrenadante de estafilococos enterotoxigênicos isolados de portadores sãos.

Empregou-se o método descrito por BRADFORD (1976). Para a determinação utilizou-se como padrão o BIO RAD-PROTEIN ASSAY KIT I e preparações do reagente BRADFORD. Utilizando-se quantidades de Azul Brilhante de Coomassie G-250 (Sigma) previamente estabelecidas e substitue-se o metanol descrito no método de Bradford por etanol. Foi verificado que os resultados obtidos com Azul Brilhante e de Coomassie G-250 (Sigma) com teor de 100% de pureza e etanol (Merck), foram muito próximo aos obtidos empregando-se o BIO RAD-PROTEIN ASSAY KIT I.

Concluindo-se que os resultados obtidos demonstram que é possível proceder a preparação do reagente de BRADFORD, obtendo-se resultados comparados com os obtidos pelo BIO RAD-PROTEIN KIT I.

PRESENÇA DE LINHAGENS DE ESTAFILOCOCOS PRODUTORES DE TOXINA TSST-1, ISOLADOS DE PORTADORES SÃOS.

F. Herrero., E.Y. Hirooka., N.S. Silva.

Fundação Universidade Estadual de Londrina (FUEL)  
Fundação Universidade Estadual de Maringá (FUEM)

Objetivo deste experimento, foi verificar a incidência de estafilococos produtor de toxina TSST-1, isolados de indivíduos sãos manipuladores e não manipuladores de alimentos.

Foram examinadas 154 amostras de S. aureus isolados de voluntários, inclui material da orofaringe, vestibulos nasais e das mãos, foi analisado quanto a produção de toxina estafilocócica e toxina relacionada com a síndrome de choque tóxico TSST-1. A toxina foi produzida segundo o método de HALLANDER e a sorologia realizado segundo método de OSP. Detectando-se 85 (55,19%) de linhagens toxigênicas e 69(44,81%) de linhagens não toxigênicas. A verificação da presença de linhagens produtoras toxina TSST-1 foi realizado segundo o método OSP e SET - RPLA (OXOID) KIT, revelou que 20(23,53%) eram produtoras desta toxina.

Conclui-se que foi encontrado uma alta frequência de toxina TSST-1 em portadores sãos, este fato não descarta a possibilidade de ocorrência de síndrome de choque tóxico, ou outro quadro clínico compatível com esta toxina.

ISOLAMENTO DE S. hyicus ENTEROTOXIGÊNICO EM PORTADORES HUMANOS SÃOS.

F. Herrero., E.Y. Hirooka., N.S. Silva.

Fundação Universidade Estadual de Londrina (FUEL)  
Fundação Universidade Estadual de Maringá (FUEM)

Objetivo deste experimento foi verificar a presença de estafilococos coagulase positiva enterotoxigênico isolados de portadores humanos sãos manipuladores e não manipuladores de alimentos, especificamente o S. hyicus.

Um total de 154 amostras de estafilococo foram isolados de voluntários, foi realizada a caracterização bioquímica das espécies em S. aureus, S. intermedius e S. hyicus, através das provas de utilização aeróbica e anaeróbica do manitol e maltose segundo KLOSS. A toxina foi produzida, segundo o método de HALLANDER e a sorologia realizada segundo método OSP. Detectando-se 149(96,75%) de S. aureus, 4 (2,60%) de S. intermedius e 1 (0,65%) de S. hyicus. Analisando a enterotoxigenicidade 85(55,19%) foram toxigênicas, constituída de 80(94,13%) de S. aureus, 4(4,70%) de S. intermedius, 1(1,17%) de S. hyicus. Todas as linhagens produzidas TNase e 146(94,81%) apresentaram-se pigmentadas. A presença de S. hyicus, enterotoxigênicos tem sido raramente descrito em portadores humanos sãos, neste sentido é importante sua caracterização em amostras de estafilococos coagulase positiva isoladas de manipuladores e alimentos.

Conclui-se que S. hyicus enterotoxigênicos isolados de portadores sãos podem ser potencialmente responsáveis por toxinfecções alimentares.

PRESENÇA DE ESTAFILOCOCOS ENTEROTOXIGÊNICOS ISOLADOS DE PORTADORES SÃOS.

F.Herrero., E.Y. Hirooka., R.Fressatti., T.C.R.M. Oliveira., T.I.E.Svidzinski.

Fundação Universidade Estadual de Londrina (FUEL)  
Fundação Universidade Estadual de Maringá (FUEM)

Objetivo deste trabalho foi verificar a incidência de estafilococos produtor de enterotoxina em indivíduos são, manipuladores e não manipuladores de alimentos

Foram examinados 154 amostras de S.aureus isoladas de portadores são manipuladores e não manipuladores de alimentos. Foi analisado quanto a produção de enterotoxinas e toxinas TSST-1. A toxina foi produzida, segundo o método de HALLANDER e a sorologia realizada segundo o método de OSP, isolaram-se 85 (55,19%) de linhagens toxigênicas, a frequência de isolamento foi de 44(51,76%) produtor de apenas uma toxina é 41(48,24%) de mais de uma toxina, distribuída em 25 linhagens com 2 toxinas, 12 com 3 toxinas e 4 com 4 toxinas. Ainda com relação a enterotoxigenicidade 29 (34,12%) produziram EEA, 19 (22,35%) EEB, 26 (30,58%) EEC, 43(50,58%) EED, 9(10,59%)EEE e 20(23,52) TSST-1. Entre as linhagens produtoras de uma toxina, observamos 5(5,88%)EEA, 1(1,18%)EEB, 11(12,94%) EEC, 18 (21,18%)EED, 2(2,35%)EEE, 7(8,24%)TSST-1. Todas linhagens produziram TNase e 146(94,81%) apresentaram pigmentadas. A elevada produção de TNase por todas as linhagens toxigênicas mais uma vez reforça a necessidade de detecção direta desta enzima da triagem de estafilococos enterotoxigênicos oriundo de manipuladores, quando da impossibilidade de detecção direta de enterotoxina nos alimentos.

Conclui-se que foi encontrado em portadores são, alta frequência de linhagens de estafilococos enterotoxigênicos fundamentalmente com mais de uma toxina.

EFEITOS DE DIFERENTES COMPONENTES NA DETECÇÃO DE ENTE  
ROTOXINAS ESTAFILOCÓCICAS PELO TESTE DE AGLUTINAÇÃO  
DE LÁTEX (RPLA)

M. de L. R. de Souza e E. Y. Hirooka.

Departamento de Patologia Geral do Centro de Ciências  
Biológicas da Universidade Estadual de Londrina.

A determinação da produção de enterotoxina por estafilococos é usualmente feita pelo exame do sobrenadante de cultura por métodos de difusão em gel. O método de imunodifusão "Optimum Sensitivity Plate" (OSP) é o procedimento padrão recomendado pela APHA para a detecção de enterotoxinas estafilocócicas nos alimentos. No entanto, a sensibilidade mínima do método OSP é cerca de 500 ng de enterotoxina/mL e a maioria dos alimentos implicados com Staphylococcus aureus contém baixos níveis de enterotoxina, frequentemente menos de 1 ug/100 g de alimento. Para detectar níveis tão baixos, tem sido usado o método de aglutinação de látex (RPLA), o qual tem provado ser mais sensível do que os métodos de difusão em gel. Entretanto, este teste ocasionalmente mostra reações de aglutinação não específicas com certos tipos de alimentos e tem sido usado portanto, com restrições. No presente trabalho, avaliou-se os efeitos de diferentes concentrações de sacarose e mertiolate na detecção de enterotoxinas estafilocócicas pelo método de aglutinação de látex. Resultados falso-positivos foram observados na presença de sacarose. Sendo este açúcar um ingrediente comum em alimentos, pode-se concluir que a utilização desse método para a detecção de enterotoxinas em alimentos com alta concentração de sacarose, pode levar a resultados não reais.

AValiação DO TESTE DE AGLUTINAÇÃO DE LÁTEX (RPLA) NA DETECÇÃO DE ENTEROTOXINAS A E D PRODUZIDAS POR ALGUMAS LINHAGENS DE Staphylococcus aureus

M. de L. R. de Souza e E. Y. Hirooka

Departamento de Patologia Geral do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina.

Tendo em vista que a quantidade de enterotoxina encontrada nos alimentos capazes de ocasionar intoxicação é geralmente pequena, um método sensível e rápido para a detecção de enterotoxinas nos alimentos, é essencial. Recentemente, foram descritos testes rápidos para a detecção de enterotoxinas de Staphylococcus aureus, baseados na aglutinação de partículas de látex sensibilizadas. Atualmente, estes testes vem sendo largamente utilizados no exterior, devido à simplicidade e rapidez na obtenção dos resultados. Vários "Kits" tem sido fabricados no exterior e são comercialmente disponíveis. O presente trabalho tem como objetivo avaliar o teste de aglutinação de látex (RPLA) na detecção de enterotoxinas estafilocócicas, produzidas pelas linhagens A-100 e 196-E, aliadas à produtos metabólicos de Bacillus sp e Pseudomonas sp. Para o teste foi utilizado o "kit comercial SET-RPLA" da Oxoid Diagnostic Reagents. Os resultados foram comparados com os obtidos pelo método de imunodifusão "Optimun Sensitivity Plate" (OSP). A adição de alta percentagem de produtos metabólicos de Pseudomonas aeruginosa interferiu na produção de enterotoxinas por S. aureus, produzindo baixos níveis somente detectados pelo método RPLA. O Kit mostrou alta sensibilidade, com um limite de detecção de 1 ng de enterotoxina/mL, além da rapidez e facilidade de execução.

PRODUÇÃO DE ENZIMAS EXTRACELULARES POR  
STAPHYLOCOCCUS sp ISOLADOS DE ALIMENTOS

M.A.P. DA SILVA; M.D. SEMOLA; I.C. FREDERICO;  
R. PRESMAN (Disciplina de Microbiologia do  
Departamento de Microbiologia e Parasitolo-  
gia da UNI-RIO; Laboratório Central de Saúde  
Pública Noel Nutels - Rio de Janeiro)

Foram testadas amostras de Staphylococ-  
cus sp, isoladas de alimentos, para a produ-  
ção de coagulase (livre/ligada), lecitinase  
e DNase. Das amostras estudadas 30% foram  
produtoras de lecitinase e coagulase negati-  
vas, não havendo correlação com a prova de  
DNase. As amostras também foram testadas no  
meio de Tryptic Soy Agar acrescidas de 7%  
de plasma, a fim de observar a produção de  
coagulase em meio sólido. 35% das amostras  
foram produtoras de coagulase ligada, mas  
não produzindo coagulase livre, e 15% foram  
negativas na prova da coagulase em lâmina e  
em tubo, mostrando resultado positivo na pro-  
va em placa.



CORRELAÇÃO ENTRE COLIFAGOS, COLIFORMES FECAIS, ENTERO  
VÍRUS E SALMONELLA EM ÁGUAS.

M.T. MARTINS\*: V.H. PELLIZARI\*; P.S. SANCHEZ\*\*; E.  
MARQUES\*\*; G.M. DAL COLLETO\*.

\* Instituto de Ciências Biomédicas da USP.

\*\* CETESB - Cia. de Tecnologia de Saneamento Ambiental

Amostras de água bruta provenientes de mananciais da Grande São Paulo foram analisadas para determinação de seu nível de contaminação mediante as determinações de colifagos, coliformes fecais, Enterovírus e Salmonella.

Verificou-se que colifagos, similarmente aos outros indicadores foram úteis para a classificação da água quanto aos níveis de poluição fecal.

Foram detectadas associação e correlação positivas entre colifagos e enterovírus; colifagos e Salmonella; coliformes fecais e enterovírus; coliformes fecais e Salmonella; colifagos e coliformes fecais.

No entanto quando o nível de colifagos era inferior a 5/100 mL, Salmonella foram detectadas em 12,9% das amostras e enterovírus em 6,5%.

Os resultados obtidos sugerem que a presença de colifagos em águas pode indicar contaminação por microrganismos patogênicos e risco potencial à saúde.

SOROTIPOS DE SALMONELLA ISOLADOS DE DIFERENTES TIPOS DE ÁGUAS

S.R. Valentini; C.Q.F. Leite & D.P. Falcão

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara - UNESP

As águas constituem-se num importante habitat para enteropatógenos e entre esses, Salmonella têm sido frequentemente isolada de diferentes tipos de águas. Em 126 amostras de águas naturais (62 de lagos recreacionais, 19 de represas, 16 de minas, 14 de rios, 9 de poços não artesianos e 6 de poços artesianos) e 82 amostras de águas tratadas (73 de piscinas e 9 de águas de torneira) coletadas na região de Araraquara-SP, foi pesquisada a ocorrência de Salmonella. Oito litros de água eram filtrados em membrana, sendo parte da membrana homogeneizada em caldo selenito com incubação a 42°C e a outra em caldo tetracionato com incubação a 37°C. Ágar Verde Brilhante e Ágar SS foram utilizados como meios de isolamento. As colônias suspeitas foram caracterizadas bioquímica e sorologicamente. Salmonella foi isolada de 16,7% das amostras de águas naturais, mais especificamente de águas de lagos, represas e rios. Nas águas tratadas não foi isolada. Os sorotipos foram: S. oranienburg (5), S. miami (3), S. arizonae (3), S. heidelberg (2), S. typhimurium (1), S. give (1), S. abaetetuba (1), S. agona (1), S. jos (1), S. glosstrup (1), S. anatum (1) e S. morehead (1). Embora muitos dos sorotipos isolados de águas não estejam relacionados a casos clínicos humanos, conclui-se pelo perigo potencial dessas águas ao homem.

CARACTERÍSTICAS DE VIRULÊNCIA DE CEPAS DE SALMONELLA spp ISOLADAS DE ÁGUA.

S.R. Valentini & D.P. Falcão

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara - UNESP

A invasibilidade em animais, presença de plasmídios, resistência ao soro e sensibilidade à drogas foram estudadas em 6 amostras de Salmonella de sorotipos diversos, isoladas de diferentes tipos de águas doce; adicionalmente em outras 15 cepas de Salmonella com as mesmas características, verificou-se a ocorrência de plasmídio e resistência à drogas. A invasibilidade foi testada inoculando-se camundongos por via intragástrica e observando-se a presença das bactérias no baço, fígado e placas de Peyer em período de tempo diversos. Todos os testes foram realizados empregando-se as técnicas usuais. Somente S. typhimurium foi isolada em contagens elevadas nos diferentes órgãos e tecidos dos animais. Esta amostra também albergava um plasmídio de 60 MDa, o qual parece estar relacionado com a virulência de S. typhimurium. Todas as cepas de Salmonella, com exceção de uma de S. agona, apresentaram soro sensibilidade. Apenas uma cepa foi resistente à estreptomicina (S. arizonae) e 47,6% resistente à tetraciclina; as demais foram sensíveis às seis drogas testadas. Conclui-se que cepas de Salmonella isoladas de água podem apresentar os mesmos marcadores de virulência que ocorrem em cepas isoladas de casos clínicos.

RELAÇÃO ENTRE RECUPERAÇÃO DE MICOBACTÉRIAS E GRAU DE CONTAMINAÇÃO BACTERIANA EM ÁGUAS.

C.O.F. Leite; R. Ferracini Junior; S.R. Valentini & D.P. Falcão

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara - UNESP

A água é considerada um dos principais reservatórios das micobactérias potencialmente patogênicas. Estudos têm demonstrado que estas micobactérias proliferam preferencialmente nas águas menos poluídas. Pretendeu-se verificar a influência do grau de contaminação das águas por bactérias heterotróficas e coliformes fecais na recuperação de micobactérias. Para tal analisou-se o isolamento simultâneo de micobactérias, coliformes fecais e bactérias heterotróficas em 123 amostras de águas. Verificou-se que as micobactérias podem proliferar em águas que contém  $10^5$  a  $10^6$  UFC/ml de bactérias heterotróficas, mas não em concentrações acima de  $10^6$ . Em relação a coliformes fecais, as micobactérias de crescimento foram recuperadas de águas poluídas com valores acima de 2.400 coliformes fecais e as de crescimento lento apresentaram diminuição rápida de células com o aumento da poluição, não sendo isoladas em águas com mais de 1000 coliformes fecais por mililitro.

VERIFICAÇÃO DE RESISTÊNCIA A DROGAS TUBERCULOSTÁTICAS APRESENTADAS POR MICOBACTÉRIAS ISOLADAS DE ÁGUAS.

R. Ferracini Junior; M. Fernandes e C.Q.F. Leite

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara - UNESP

A água pode ser veículo e reservatório importante de micobactérias causadoras de infecções diversas. Estas micobactérias de meio ambiente geralmente apresentam resistência múltipla a drogas tuberculostáticas. Para o teste de sensibilidade "in vitro" foram utilizadas 40 cepas de micobactérias isoladas de água 21 M. fortuitum, 4 M. chelonae, 3 M. smegmatis, 9 M. gordonae e 3 M. terrae, e as seguintes drogas: estreptomicina (SM), rifampicina (RMP), etionamida (ETH), pirazinamida (PZA), etambutol (EMB), capreomicina (capreo), isoniazida (INH), p-amino-salicilato de sódio (PAS) e tiosemicarbazona (Tb<sub>1</sub>). Todas as micobactérias analisadas foram resistentes a SM, PZA, Tb<sub>1</sub> e RMP, com exceção de M. gordonae com apenas 55,5% de cepas resistentes a última droga. Grau de sensibilidade variada foi verificada com relação a outras drogas.

Agradecimentos: À Dra. Angela M. Werneck Barreto do CNCT, pela cessão de algumas drogas.

Auxílio FAPESP (proc. nº 86/3231-4)

AEROMONAS: ISOLAMENTO E PESQUISA DE FATORES DE VIRULÊNCIA.

M.S. Neves, M.P. Nunes & I.D. Ricciardi

Departamento de Microbiologia Médica do Instituto de Microbiologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Cem amostras de Aeromonas foram isoladas a partir de amostras de água doce e salgada coletadas em diversos locais da cidade do Rio de Janeiro. Foi possível detectar entre as amostras isoladas: A.caviae (60%), A.veronii (15%), A.hydrophila (1%) e A.sobria (1%). Um percentual significativo de amostras (24%) foram classificadas como Aeromonas sp. Procurou-se determinar os fatores de virulência das Aeromonas isoladas através dos testes de detecção de hemolisina (em tubo) e a pesquisa de enterotoxina semelhante a ST de E.coli utilizando-se a técnica do camundongo recém nascido. Amostras de A.veronii foram as que mostraram maior capacidade hemolítica (75 a 100%) e enterotóxica (50 - 100%). A.caviae mostrou percentuais hemolíticos (0 - 31,5%) e enterotóxicos (0 - 73,6%) mais baixos. Das Aeromonas não tipificadas seu percentual hemolítico ficou entre (27,2 - 33,3%) e o enterotoxigênico entre (54 - 75%). A única amostra de A.hydrophila isolada foi hemolítica e enterotoxigênica ao contrário da única A.sobria que não mostrou possuir essas características.

Órgãos Financiadores: CEPEG, CAPES,

NÍVEIS DE COLIFORMES RELATIVOS AOS PADRÕES DE BALNEABILIDADE E EXTRAÇÃO DE MARISCOS NAS ÁGUAS LITORÂNEAS DAS CIDADES DO RIO DE JANEIRO E NITERÓI.

F.V. de ARAUJO; G.V. da FONSECA FARIA; A.N. KOSAWA da COSTA; M.L. SANCHEZ NUNEZ; G.M.O. FRANCO; C.A.G. SOARES; L.C. MENDONÇA-HAGLER & A.N. HAGLER.

Instituto de Biologia-UFRJ

Amostras de água foram coletadas em 45 estações distribuídas pelo litoral do Rio de Janeiro e Niterói a fim de se determinar os níveis de coliformes, já que suas águas são largamente utilizadas com fins de recreação e extração de mariscos. Contagens de coliformes totais e fecais foram realizadas pelo método do número mais provável (Padrão APHA). A média geométrica das contagens realizadas em cada estação demonstra que as localizadas no interior da Baía de Guanabara (considerando sua entrada como os pontos mais próximos entre Rio e Niterói) apresentam os maiores níveis de coliformes fecais/100ml (CF/100ml), estando impróprias para a extração de mariscos (CF > 14 organismos / 100ml) e banho (CF > 1000 organismos/100ml) segundo os padrões brasileiros. As praias de fora da baía estão em sua maioria dentro do índice de balneabilidade.

## ACÚMULO DE INDICADORES MICROBIANOS DE POLUIÇÃO PELO MEXILHÃO Perna perna NO RIO DE JANEIRO.

G.V. da FONSECA FARIA; F.V. de ARAUJO; A.M. KOSAWA da COSTA; M.L. SANCHEZ NUNEZ; G.M.O. FRANCO; C.A.G. SOARES; L.C. MENDONÇA-HAGLER & A.N. HAGLER.

Instituto de Biologia - UFRJ

Cinco amostras de água e de mexilhão Perna perna (Linné, 1758) foram tomadas em cada um dos dois pontos de coleta, um considerado poluído (URCA - coliformes fecais 2400 organismos/100ml) e um outro pouco poluído (FORTE RIO BRANCO - coliformes fecais = 170 organismos/100ml). Objetivou-se determinar em que fração do mexilhão ocorre o acúmulo de microorganismos. Os mexilhões foram dissecados assepticamente e divididos em quatro frações: intestino, brânquia, manto e água intervalvar. Foram inoculados também o mexilhão inteiro e a água do mar. Em cada uma das frações foram feitas contagens de coliformes totais, coliformes fecais, fungos e leveduras pelo método do número mais provável (Padrão APHA) e bactérias heterotróficas totais pelo método do espalhamento em placas. Observou-se um acúmulo no intestino do mexilhão em ambas as estações, sendo que as contribuições de cada fração foram proporcionalmente as mesmas nos dois níveis de poluição estudados.

"CARACTERIZAÇÃO DE VIBRIOS ISOLADOS DE PEIXES MARINHOS E EVIDENCIAÇÃO DE ANTÍGENOS PRECIPITANTES DE ESPÉCIES POTENCIALMENTE PATOGÊNICAS".\*

S.E.A.da Silva, D.Ernandez, A.A. de Lima e Silva e E. Hofer.

Laboratório de VIBRIO, Departamento de Bacteriologia, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, R.J.

Em decorrência da carência de informações no Brasil, referentes ao reconhecimento e melhor caracterização das espécies do gênero Vibrio, realizou-se um estudo visando a identificação de amostras de vibrios isolados do trato intestinal de tainhas (Muqil sp.) e corvinas (Micropogon sp.), capturadas respectivamente em águas da Baía de Guanabara e orla oceânica do Rio de Janeiro, R.J., além da verificação da identidade antigênica dessas amostras com as cepas patogênicas e/ou potencialmente patogênicas de V.parahaemolyticus e V.alginolyticus.

A metodologia utilizada na identificação dos vibrios baseou-se nas recomendações de Hofer(1985) e OMS(1984) Para detecção de antígenos precipitantes utilizou-se a técnica de dupla difusão em gelose (DDG) de Oudin, modificada por Ouchterlony(1949).

Foram caracterizadas bioquimicamente 214 amostras que se distribuíram em 7 espécies, sendo as mais frequentes: V.harveyi(47 amostras), V.anguillarum(42 amostras) e V.splendidus(5 amostras). Quando testadas contra o anti-soro de V.alginolyticus, apresentaram bandas de precipitação as espécies: V.anguillarum(3 amostras), V.splendidus(1 amostra) e V.harveyi(2 amostras) detectando-se para as duas primeiras espécies uma banda de precipitação e para a última, duas bandas. Já contra o anti-soro de V.parahaemolyticus, 3 amostras de V.anguillarum apresentaram reação, com 3 bandas de precipitação.

Salienta-se, pelos resultados, a diversidade de espécies isoladas bem como a forte reação de identidade antigênica(3 bandas), entre algumas amostras de V.anguillarum, e o anti-soro de V.parahaemolyticus, espécie potencialmente patogênica ao homem.

\* trabalho financiado pelo CNPq

DISTRIBUIÇÃO SAZONAL E AVALIAÇÃO DOS MEIOS DE ENRIQUECIMENTO UTILIZADOS NO ISOLAMENTO DE ESPÉCIES DO GÊNERO VIBRIO.

D.P.Rodrigues\*; R.V.Ribeiro\*; J.E.C.Moura Costa\*\*; R.M.Alves\*\*; J.C.Valentim\*\*; E.Hofer\*\*.

Departamento de Bacteriologia - Instituto Oswaldo Cruz - FIOCRUZ.

O gênero Vibrio, é reconhecido como um dos maiores grupos presentes no ambiente marinho e estuarino. Seu estudo, implementado nas últimas décadas, resultou no reconhecimento de inúmeras espécies, das quais onze são capazes de determinar agressão ao homem. Tendo em vista, a relevância apresentada por este gênero, avaliamos durante o período de um ano, a eficiência dos meios de enriquecimento utilizados para o seu isolamento e a incidência das diferentes espécies, no litoral do município do Rio de Janeiro.

Da coleta semanal de água do mar, em praias localizadas no interior e fora da Baía de Guanabara, duas alíquotas de 1000 ml foram filtradas em Millipore (0,45µm) e cada uma das membranas, introduzidas nos meios de enriquecimento Caldo Nutriente Alcalino - CN e Água Peptonada Alcalina - AP (1 e 3% de NaCl respectivamente), seguindo-se isolamento em Agar TCBS, triagem em Kligler Iron Agar e tipificação bioquímica de acordo com Baumann (1985) e West & Colwell (1986).

Das 1024 amostras isoladas, 28,7% só permitiram a classificação até o gênero (Vibrio sp.). Nas espécies identificadas (71,3%), citam-se: V.cholerae não O1, V.parahaemolyticus, V.alginolyticus, V.metschnikovii, V.harveyi, V.vulnificus, V.fluvialis, V.mimicus, V.anquillarum I, V.anquillarum II, V.campbellii, V.splendidus, V.pelagius, V.gazogenes, V.marinus, V.loqui e Photobacterium sp. . Entre as caracterizadas, destaca-se a presença de 37,5% relacionadas com o comprometimento humano.

Na avaliação dos meios de enriquecimento, verificou-se, no conjunto geral, um elevado percentual de isolamentos a partir de AP. Nas espécies potencialmente patogênicas para o homem, observou-se o melhor rendimento do CN. Quanto a distribuição sazonal, salienta-se que do CN, a maior incidência ocorreu de novembro à março, excetuando-se V.parahaemolyticus, V.metschnikovii e Vibrio sp., presentes durante todo o período de estudo.

Embora nosso país apresente clima tropical, é interessante ressaltar, a maior prevalência de inúmeras espécies durante o verão, entre as quais figuram aquelas, capazes de determinar agressão ao homem.

\* FIOCRUZ - UFRJ

\*\* FIOCRUZ

"CARACTERIZAÇÃO DE BIOTIPOS DE VIBRIO CHOLERAE NÃO 01 E DETECÇÃO DO FATOR DE PERMEABILIDADE VASCULAR (PF) EM AMOSTRAS ISOLADAS DE ÁGUA DE ESGOTO".

D. Frnandez, S.E.A. da Silva e E. Hofer

Laboratório de Vibrio, Departamento de Bacteriologia, Instituto Oswaldo Cruz-FIOCRUZ, Rio de Janeiro-R.J.

Visando contribuir com o estudo de Vibrio, em nosso meio, promoveu-se a investigação da ocorrência do Fator de Permeabilidade Vascular (PF) e biotipificação de amostras de Vibrio cholerae não 01 advindos de água de esgoto.

Através de testes baseados no comportamento das amostras em presença de 50 U de polimixina e 10 mcg/ml de novobiocina, além da atividade hemolítica em caldo BHI acrescido de 1% de glicerol e 1% de hemácias de carneiro e reação de Voges-Proskauer, foram submetidas a biotipificação 46 culturas de Vibrio cholerae não 01, não halofílicos, isolados de estação de tratamento de esgoto da Penha e Ilha do Governador (R.J.). Após a biotipificação as amostras foram submetidas à pesquisa do Fator de Permeabilidade Vascular (PF) mediante a inoculação, por via intradérmica em coelhos, de filtrados das amostras.

Os resultados demonstraram a distribuição das culturas em 5 biotipos, sendo predominante o biotipo representado pelo perfil: Sensibilidade a polimixina e novobiocina, hemolisina positiva e V.P. negativo (19 amostras). Quanto ao teste para o Fator de Permeabilidade Vascular (PF), observou-se a produção de eritema, endurecimento e aumento da permeabilidade em 52,1% da amostragem.

Ressalta-se que todas as amostras do biotipo predominante foram também positivas para o teste de Fator de Permeabilidade Vascular (PF).

CARACTERIZAÇÃO DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA ISOLADAS DE PISCINAS E ÁGUAS RECREACIONAIS

B.S.O. de Ceballos e R.F. Urtiga

Área de Engenharia Sanitária e Ambiental - Depto. de Engenharia Civil

- CCT - UFPb (CNPq proc. 400284/87/BM/FV).

Pseudomona aeruginosa é um patógeno oportunista frequentemente isolado de águas recreacionais e associado a otites externas, dermatites e foliculites em nadadores.

Cento e vinte e cinco cepas de Pseudomonas aeruginosa isoladas de piscinas e açude foram tipadas pela produção de piociânina e pelo padrão de resistência a 10 antibacterianos, com o objetivo de caracterizar as linhagens presentes em cada um dos locais amostrados. As técnicas empregadas foram as de Govan (1978), utilizando-se 8 cepas indicadoras, e a de Bauer e Kirby (1966).

Foram identificadas 74 (58,7%) cepas pertencentes a 19 tipos piociânicos. Das restantes, 29 (23%) não foram identificadas e 22 (17,4%) foram não tipáveis. Os principais tipos piociânicos foram 10 (22 cepas), 1 (13 cepas), 99 (11 cepas) e 3 (8 cepas), que correspondem a 29,7%, 17,6%, 14,8% e 10,8% do total identificado.

Em três piscinas houve tipos piociânicos predominantes para um dia de triagem: respectivamente tipos 1 e 10, tipo 99 e tipo 10 que corresponderam a 80%, 43% e 50% do total de P. aeruginosa isoladas nesse dia. Essas piscinas são públicas, recebem água de açude, não submetidas a tratamento e apresentaram os maiores valores e as maiores frequências de isolamento (>75%) de 'P. aeruginosa' dentre as 14 piscinas estudadas. Provavelmente, a prevalência observada foi causada pela dispersão do tipo piociânico predominante a partir de um único usuário infectado.

A maioria das P. aeruginosa foram sensíveis a Gen, Net, Fos, Car, Ami e Pol B, e resistentes a Clo, Tet, Rif e Sut. Diferentes tipos piociânicos apresentaram idênticos padrões de resistência, o que limita a utilidade do método como marcador epidemiológico. A produção de piocianina mostrou-se um marcador estável desde que a técnica seja controlada adequadamente.

ENUMERAÇÃO DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA E STAPHYLOCOCCUS AUREUS EM  
ÁGUAS NATURAIS E DE PISCINA, RIO DE JANEIRO.

V.F. Guimarães, M.A.V. Araujo, L.C. Mendonça-Hagler & A.N. Hagler  
Instituto de Microbiologia da UFRJ - Departamento de Microbiologia Geral.

As técnicas para enumeração de P. aeruginosa e S. aureus foram avaliadas em 86 amostras de água doce e salgada com diferentes níveis de poluição e água de piscina. Durante a etapa de confirmação de P. aeruginosa foram analisados os tubos presuntivos com fluorescência e/ou crescimento. Após identificação das estirpes isoladas foram encontrados 10% de sistemas falso positivos para P. aeruginosa em água doce, 35% de falso positivos e 37% de falso negativos para água do mar. Para o S. aureus o meio de agar lipovitelium-sal-manitol usado na confirmação apresentou pouca seletividade sendo invadido com bactérias interferentes, sendo substituído pelo Agar Baird Parker. Apenas 35% dos sistemas positivos continham S. aureus. Nossos resultados indicam a baixa especificidade da metodologia do APHA (1985) para a enumeração de P. aeruginosa e S. aureus particularmente para determinações em água salgada. Os dados obtidos com a utilização destes métodos devem ser interpretados com cautela e a metodologia precisa ser aperfeiçoada.

Apoio: FINEP, CNPq, CAPES

## ESTREPTOCOCOS FECAIS E STAPHYLOCOCCUS AUREUS NA AVALIAÇÃO SANITÁRIA DE PISCINAS

B.S.O.de Ceballos, R.F.Urtiga e R. de Oliveira.

Área de Engenharia Sanitária e Ambiental - Depto. de Engenharia Civil - CCT - UFPb (CNPq processo 400284/87/BM/FV).

Foi avaliada a importância de estreptococos fecais (EF) e S. aureus como indicadores de poluição, em relação a coliformes fecais (CF) em 11 piscinas de clubes alimentadas com água potável e submetidas a tratamento, e em 3 piscinas públicas alimentadas com água de manancial e não tratadas. As coletas se realizaram no período de julho a dezembro de 1987, com frequência bimensal para cada local. As técnicas utilizadas seguiram as recomendações do Standard Methods, 16a. edição, 1985.

As piscinas se caracterizaram pela turbidez elevada e pela ausência de cloro residual livre (CRL) e combinado. Os CF estiveram sempre acompanhados de S. aureus e EF. Estes dois últimos indicadores foram isolados inclusive em amostras que não continham CF. Os EF foram detectados em todas as amostras de 9 (82%) das piscinas de clubes, enquanto que para CF só 4 (36%) apresentaram essa frequência de isolamento. Em 6 (55%) piscinas com pH entre 8,4 e 9,0 os valores de EF foram mais elevados que os de CF (2-27 EF/100 ml, contra (1-8 CF/100 ml). Nas piscinas públicas os EF sempre estiveram em número menor que os CF, acompanhando o crescimento destes.

S. aureus foi isolado em todas as piscinas em todas as ocasiões, e seus valores médios tenderam a aumentar com o aumento de CF. Num estudo sobre a eficiência da desinfecção em duas piscinas, S. aureus foi isolado 45 minutos após aplicação do desinfetante e quando o CRL era de aproximadamente 3 ppm e todos os outros indicadores estavam ausentes. Numa destas piscinas, a bactéria persistiu por 14 horas com CR > 1,5 ppm.

Os EF se apresentaram como indicadores de poluição fecal mais sensíveis que os CF, especialmente em piscinas com valores elevados de pH. S. aureus é um indicador adequado da eficiência da desinfecção devido a maior resistência ao cloro que os CF e sua ausência indicaria que as bactérias entericas não estão presentes. Sua determinação é também importante por ser um patógeno potencial e como indicador de poluição proveniente da pele, nariz e boca, a qual não é detectada com o índice de coliformes.

SOROTIPAGEM, BIOTIPAGEM E SUSCETIBILIDADE A ANTIFÚNGICOS DE AMOSTRAS DE CANDIDA ALBICANS ISOLADAS DE ÁGUAS RECREACIONAIS.

RICCI, T.A.; MORAES, R.A. & MENDES-GIANNINI, M.J.S.

Departamento de Análises Clínicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP, Araraquara.

Candida albicans isoladas de águas recreacionais tratadas e não tratadas da região de Araraquara, foram sorotipadas, biotipadas e verificada a suscetibilidade à Nistatina, Miconazol e Cetoconazol. Quanto aos sorotipos verificou-se a predominância do sorotipo "A". Das amostras analisadas, 100% foram tolerantes ao pH 1.4; NaCl; assimilaram citrato, uréia, glicina e foram resistentes à safranina; 36,8% produziram proteinase; 21% foram resistentes à 5 FC; 52,6% assimilaram sorbose; 15,8% resistentes ao ácido bórico; 52,6% ao periodato de sódio e 100% foram inibidas pelo TTC e meio MacConkey. Foram encontradas mais frequentemente 4 biotipos, predominando os tipos, 157, 177, 377 e 777. Entre estes predominou o sorotipo "A" e entre as cepas resistentes a 5 FC, 100% pertenciam ao biotipo 777. Quanto a suscetibilidade aos agentes antifúngicos, 89,4% foram inibidas na concentração 6,25 ug/ml de Nistatina e 10,53% na concentração de 12,5 ug/ml; 100% foram inibidas na concentração de 3,13 ug/ml de miconazol e 94,73% inibidas na concentração de 1,56 ug/ml de cetoconazol e 5,27% na concentração de 3,13 ug/ml. Destes dados pode-se verificar que o sorotipo "A" e o tipo 157 foi o mais frequentemente isolado, e a maioria das amostras foram inibidas nas concentrações mínimas inibitórias dos antifúngicos estudados.

COLIFORMES FECAIS: SUA VARIAÇÃO A 5 E 195 CM, EM LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO PROFUNDAS, TRATANDO ESGOTO DOMÉSTICO

A. Konig, R. de Oliveira, G.C. Barbosa<sup>1</sup> e S.A. Silva

Área de Engenharia Sanitária e Ambiental, Depto. de Engenharia Civil

EXTRABES - UFPB (<sup>1</sup> CAGEPA)

Foram analisadas as variações de coliformes fecais (CF) na camada superficial (5 cm) e no fundo (195 cm) de lagoas de estabilização profundas em série, alimentadas com esgoto doméstico da cidade de Campina Grande, Pb. O sistema em escala piloto era constituído de uma lagoa anaeróbia (A7), seguida de uma facultativa (F9) e três de maturação (M7, M8, M9), e estava localizado na EXTRABES (Estação Experimental de Tratamentos Biológicos de Esgotos Sanitários). A carga orgânica superficial variou entre 344 e 16 Kg DB05/ha.dia de A7 até M9 com tempo de retenção total de 40 dias.

Foram realizados 18 experimentos de 24 horas com amostras coletadas a cada 4 horas no período de 25/05 a 05/11/87. Os parâmetros pesquisados foram CF, pH, oxigênio dissolvido (OD), temperatura (Standard Methods, 1985) e biomassa de algas (clorofila a - acetona 90%).

Os menores valores de CF predominaram a 5 cm da superfície. Neste nível houve uma relação inversa entre CF, e OD e pH: os menores valores de CF ( $5 \cdot 10^4$  CF/100 ml em A7 e 10 CF/100 ml em M9) estiveram associados aos maiores valores de pH (7,8 em A7 e 8,5 em M9) e OD (0,1 mg/l em A7 e 15,0 mg/l em M9). Para clorofila a, esta relação não se manteve e os menores valores de CF se relacionaram com os menores valores de clorofila a. A 195 cm, o pH e o OD não sofreram grandes variações, não sendo observada associação com CF.

Pode-se concluir que, os elevados valores de pH e OD observados a 5 cm, resultantes da atividade fotossintética das algas localizadas abaixo desta profundidade, influenciaram na redução de CF. Visto que o escoamento do esgoto na série de lagoas se verifica a 5 cm bem como sua descarga no corpo receptor, a redução observada a esta profundidade beneficia a qualidade do efluente final.

VARIAÇÕES DE BACTERIOCLOROFILAS E FORMAS DE ENXOFRE EM LAGOAS DE ESTABILIZAÇÃO PROFUNDAS

R. de Oliveira, A. Konig, I.V.L. Ferreira e S.A. Silva

Área de Engenharia Sanitária e Ambiental, Depto. Engenharia Civil - EXTRABES - UFPB

Numa série de lagoas de estabilização profundas tratando esgoto doméstico, foram estudados aspectos do ciclo do enxofre através da determinação da biomassa de bactérias fotossintéticas do enxofre, sulfeto total, sulfato e enxofre elementar.

O sistema, em escala piloto, era constituído por 5 lagoas em série (uma anaeróbia, A7; uma facultativa, F9; e três de maturação, M7, M8 e M9) localizado em Campina Grande, Pb.

No período entre 19.08 e 29.12.87 foram realizados 13 experimentos de 24 horas. A cada 4 horas foram coletadas amostras ao longo da profundidade das lagoas e analisadas para: bacterioclorofilas "a,b,c,d" (Takahashi e Ichimura, 1968), clorofila a (acetona 90%), pH, oxigênio dissolvido (OD), sulfato, sulfeto total e enxofre elementar (Standard Methods, 1985).

Foi verificado que ao longo da série os processos oxidativos do enxofre foram predominantes exceto na lagoa A7, onde houve redução e foi gerada a maior parte do sulfeto. A lagoa F9 foi um reator de transição onde ocorreram grandes variações de sulfato e sulfeto total ao longo da profundidade. Em M7 a oxidação do enxofre foi acentuada e o sulfato predominou em todos os níveis. Nos reatores M8 e M9 as concentrações de sulfato foram elevadas, embora houvesse pouca oxidação do enxofre. Ao longo da série, as concentrações de bacterioclorofilas "a e b" (típicas de bactérias purpuras) foram pequenas, com tendência a desaparecer, enquanto que as bacterioclorofilas "c e d" (típicas de bactérias verdes) estiveram em concentrações mais elevadas, com tendência a aumentar em M8 e M9.

ASPECTOS ECOLÓGICOS DE Candida famata ISOLADA DE FLORES DE Nymphaea ampla DA LAGOA OLHOS D'ÁGUA - LAGOA SANTA - MG.

S.P. Franzot; C.A. Rosa e M.A. Resende

Depto. de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

Flores e frutos são conhecidos, desde muito, como habitat ideal para leveduras, devido ao seu alto teor de açúcares. Porém, a afinidade de comunidade de leveduras com o seu ambiente natural e os vetores responsáveis pela sua distribuição na natureza são ainda pouco estudados. Atualmente, tem-se tornado evidente que a ecologia de leveduras não se restringe a uma mera distribuição das mesmas em substratos onde os açúcares estão disponíveis. Plantas do gênero Nymphaea são dominantes em alguns ambientes aquáticos, como no caso da Lagoa Olhos D'Água onde florem durante todo o ano. Foram coletadas, aleatoriamente, durante um ano, flores de Nymphaea ampla com o objetivo de determinar a presença de leveduras e as possíveis interações existentes. Candida famata foi a única espécie de levedura isolada. Desta forma, esse trabalho tem como objetivo explicar a dominância absoluta desta espécie nas flores, uma vez que na água da lagoa foram isoladas várias outras espécies de leveduras. Foi testada a produção de substâncias inibidoras em extratos de flores de N. ampla onde várias espécies de leveduras isoladas da água foram semeadas em ágar YM acrescido de extrato seco da flor na concentração de 1% p/v. Após 24 a 48 horas observou-se o crescimento de todas as amostras semeadas, o que sugere que N. ampla não produz compostos inibitórios para essas leveduras. A produção de compostos anti fúngicos (fatores "Killer") por C. famata foi verificada semeando-se 0,1 ml de uma suspensão das amostras a serem testadas em placas contendo ágar YM acrescido de 0,003% (p/v) de azul de metileno e sobre as mesmas foi inoculado, no centro da placa e em linha, a amostra de C. famata. Através da formação de halos verificou-se que C. famata inibiu o crescimento de Rhodotorula acheniorum, Aureobasidium e Pichia membranefasciens. A princípio pode-se concluir que o fenômeno da antibiose seria determinante na predominância de C. famata nas flores de N. ampla.

VARIAÇÃO SAZONAL DA MICROBIOTA FUNGICA E DE FATORES FÍSICO-QUÍMICOS DA LAGOA OLHOS D'AGUA, "KARST" CENTRAL DE MINAS GERAIS

C.P. RENAULT, E.M. VIANA, M.A. RESENDE, G.E. TORRES & F.A.R. BARBOSA

Deptº de Microbiologia e Deptº de Biologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG

Leveduras e bolores são encontrados, juntamente com uma grande variedade de formas microbianas no ambiente aquático e representam contingente importante no total da microbiota existente. Além de exercerem importante papel na ecologia destes ambientes, participando dos processos de conversão da matéria orgânica e inorgânica, são incluídos entre os possíveis indicadores microbiológicos de poluição. Por outro lado, grande parte dos nutrientes de um ambiente aquático são depositados no sedimento dos mesmos. Visando isolar e identificar leveduras e fungos filamentosos e correlacionar a frequência dos mesmos com parâmetros físico-químicos, amostras de sedimento da lagoa foram coletadas mensalmente, durante um ano. A lagoa foi dividida em 5 estações de coleta, sendo que a de número 1 localiza-se no ponto de maior profundidade. As amostras de sedimento foram diluídas a 1/10 em água destilada estéril e alíquotas de 0,5 mL foram semeadas em ágar Sabouraud com cloranfenicol e extrato de levedura. As medidas de temperatura, alcalinidade total, pH, condutividade e teor de O<sub>2</sub> dissolvido foram determinadas na água. Na estação #4, onde se concentra grande número de macrófitas, foi encontrada a maior frequência de bolores, enquanto o número de leveduras, neste local foi o mais baixo, de todos os isolamentos. O grande número de bolores, nesta estação, poderia estar relacionado, em grande parte, à degradação de matéria orgânica, de origem vegetal, por esses microrganismos. A maior frequência de leveduras ocorreu nas estações 1 e 2, respectivamente limnética e local de desague de dejetos de origem animal. No caso da estação 2, este número elevado de leveduras isoladas poderia ser explicado pelo maior aporte de nutrientes neste local.

BACTÉRIAS AMÔNIFICANTES EM SISTEMAS AQUÁTICOS NO PARQUE FLORESTAL DO RIO DOCE - MG.

C. RUGANI & P.M. LACAVAL

Instituto de Biociências - Unesp / Campus de Rio Claro.

A variação sazonal e vertical das bactérias amonificantes foi estudada nos lagos Carioca e D. Helvécio - MG., Brasil, utilizando-se a técnica da contagem de células viáveis em meio de cultura nutricionalmente rico.

Analizou-se a variação sazonal e vertical a partir de dados ambientais como a radiação solar, precipitação pluviométrica, estrutura térmica dos lagos e propriedades físico-químicas da água.

As populações bacterianas mostraram uma variação sazonal bem marcante com maiores populações nos meses pertencentes a estação chuvosa e menores populações nos meses pertencentes a estação seca.

O padrão térmico dos lagos mostrou-se muito importante para a distribuição vertical das bactérias e das variáveis ambientais como o pH, CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, material em suspensão e condutividade, ocorrendo relativa homogeneização durante o período da circulação da massa d'água e distribuição diferenciada (estratificada) no período de estratificação térmica.

Fêz-se também a determinação do bacterioplâncton total através da contagem direta em membrana filtrante previamente corada em eritrosina alcoólica. Tendo sido observadas diferenças altamente significativas entre este e a população amonificante, que representa apenas 7% uma pequena fração do total.

CARACTERIZAÇÃO ENZIMÁTICA DE ISOLADOS DE FUNGOS ENTOMO  
PATOGENICOS OBTIDOS NA REGIÃO AMAZÔNICA.

A.C.MONTEIRO<sup>1</sup>; P.M.LACAVAL<sup>2</sup> & D.A.BANZATTO<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Depto.Microbiologia, FCAV-UNESP, Campus Jaboticabal

<sup>2</sup> Depto.Bioquímica, Inst.Biociências-UNESP, Rio Claro

<sup>3</sup> Depto.Ciências Exatas, FCAV-UNESP, Campus Jaboticabal

Dez isolados de fungos entomopatogênicos obtidos na região amazônica (Manaus) foram caracterizados através da produção de enzimas extracelulares e de seus padrões eletroforéticos para  $\alpha$ -esterases. Para avaliação da síntese de amilase, lipase, protease e quitinase empregou-se o "índice enzimático", enquanto os padrões isoenzimáticos para  $\alpha$ -esterases foram obtidos em gel de poliacrilamida. Os resultados obtidos permitiram estabelecer distinções entre os isolados. Através do índice enzimático foi possível verificar diferenças entre os isolados, mesmo entre aqueles de mesma espécie. Os isolados de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* apresentaram os melhores índices, enquanto os isolados de *Paezilomyces marquandii*, exibiram índices menores. Verificou-se ainda, que os isolados que apresentaram os melhores índices, produziram também maior mortalidade de insetos. Os padrões eletroforéticos isoenzimáticos, entretanto, confirmaram apenas parcialmente os resultados anteriormente obtidos.

ENTEROPATOGÊNICOS EM MUSCA DOMESTICA E CRYSOMYA MEGACEPHALA NO MUNICÍPIO DE DUQUE DE CAXIAS, RJ.

D.S. Goês\*; M.H.T. Nassu\*; M.C. Jourdan\*\*; J.M. d'Almeida\*\* & A. Tibana\*.

\*Departamento de Microbiologia Médica, IM/UFRJ. \*\* Departamento de Parasitologia, ICB/UFRJ.

Foi realizada pesquisa de microrganismos patogênicos em dípteros muscoides (moscas) capturados numa área de vazadouro de lixo urbano, município de Duque de Caxias, RJ.

Em 10 capturas foi possível analisar 684 exemplares de moscas, sendo 368 de Musca domestica e 316 de Crysomya megacephala.

A pesquisa de bactérias enteropatógenicas revelou presença de Salmonella sp em 3 (33,33%) das 9 amostras de M. domestica e em 3 (60%) das 5 de C. megacephala. As cepas isoladas foram sorotipadas no Departamento de Bacteriologia do IOC (FIOCRUZ) e pertenciam aos sorotipos S. agona, S. thyphimurium e S. bredney, sendo os dois primeiros frequentemente associados a casos de gastroenterites. Em todas as amostras analisadas observou-se a presença de protozoários enteropatógenicos como Giardia intestinalis e Entamoeba histolytica e ao lado desses, ovos viáveis de agentes infestantes tais como Ascaris lumbricoides e Trichuris trichuria foram evidenciados.

Orgão financiador: FINEP

## INTERAÇÃO DE LECTINAS COM YERSINIA ENTEROCOLITICA

M.B. MARTINEZ<sup>1</sup>; S. HOSHINO-SHIMIZU<sup>1</sup>; D.P. FALCÃO<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP. <sup>2</sup>Departamento de Ciências Biológicas Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP.

Lectinas têm sido valiosas no estudo de estrutura das paredes de microrganismos. Estas foram aqui investigadas com o intuito de encontrar novos marcadores específicos para diagnóstico laboratorial confiável e rápido das infecções causadas por Yersinia enterocolitica. Assim, as lectinas de: abacate, amendoim, batata, cogumelo, canavalia (Con-A), ervilha, feijão, jaca, lentilha, mamona, manga, soja, trigo e lotus foram testadas contra 64 cepas de Yersinia enterocolitica isoladas de humanos, animais, alimentos e água (sorogrupos: 2 de 0:8; 27 de 0:3; 1 de 0:5,27; 2 de 0:7,8; 2 de 0:4,33; 1 de 0:14; 1 de 0:6,31; 1 de 0:6; 22 de 0:5; 4 de 0:9 e 1 de 0:13). As cepas foram cultivadas em BHI ágar (Difco) à 25°C por 48 horas e as colônias suspensas em solução tampão glicina 0,1M, pH 7,2, contendo íons  $Ca^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  e  $Mg^{2+}$  a 1mM (escala 6 MacFarland). A reação de aglutinação foi feita adicionando-se a 50  $\mu$ l da suspensão bacteriana, 50  $\mu$ l de lectinas diluídas na mesma solução referida sobre uma placa plana de vidro. A leitura foi realizada pela visualização direta, após incubação à temperatura ambiente por 60 minutos em câmara úmida com agitação periódica. As duas cepas 0:8, isoladas respectivamente de fezes humanas e de leite achocolatado forneceram aglutinações positivas com as lectinas de mamona e soja. Das 22 cepas 0:5, 9 foram isoladas de leite e destas 8 foram positivas para lectina de mamona. As demais isoladas de água, carne e de humanos deram resultados negativos. Em nenhum dos outros sorogrupos foram verificados resultados positivos. Nas infecções humanas, as cepas 0:3, 0:5, 0:8 e 0:9 são relevantes, sendo porém 0:3 e 0:5 de ocorrência no nosso meio. Observamos ainda que cepas isoladas de leite aglutinavam com lectinas de mamona e/ou soja cuja especificidade é para galactose e D-GalNAC, respectivamente. A interação da lectina de mamona evidencia a existência de múltiplos resíduos de  $\beta$ -D-galactopiranosil nos componentes polissacarídicos da parede celular bacteriana, enquanto que a de soja, liga-se a unidades terminais de D-GalNAC, embora grupos terminais de  $\beta$ -galactosil não reduzidos também possam estar reagindo. Estudos com as mesmas bactérias estão sendo realizados no momento, porém sem a interferência de lípidos, para a melhoria da eficiência diagnóstica.

MACRÓFAGOS ESTIMULADOS POR LPS LIBERAM UM FATOR INIBIDOR DA MIGRAÇÃO DE NEUTRÓFILOS "IN VIVO".

B.M.Tavares, F.Q.Cunha, M.L.Silva, A.A.M.Gonçalves, B. C.S.Cerqueira e S.H.Ferreira.

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP.

É reconhecido que durante a endotoxemia observa-se uma inibição da capacidade da migração dos neutrófilos e monócitos e este fenômeno tem importante papel na evolução da septicemia. Fatores inibidores da migração de neutrófilos tem sido demonstrados em várias doenças, tais como: AIDS, síndrome nefrótica, diabetes mellitus. Recentemente foi demonstrado que macrófagos estimulados com *S. aureus* e LPS liberam um fator que inibe a migração de neutrófilos "in vitro". O objetivo do presente trabalho foi analisar se macrófagos estimulados "in vitro" com LPS liberam algum fator que mimetiza os efeitos da endotoxemia ou seja, inibe a migração de neutrófilos "in vivo". Para isso o sobrenadante da incubação de macrófagos estimulados por LPS (10ug/ml) foi ultrafiltrado em membrana YM-10 da Amicon (restringe moléculas com PM maior que 10.00 daltons), ressuspensão em PBS e esterilizado antes das injeções intravenosas (iv). A administração iv desse denominado NRIF (Neutrophil Recruitment Inhibitory Factor) inibiu a migração de neutrófilos (72%) induzida por carragenina, em cavidades peritoneais de ratos. Esse efeito foi persistente, por até 24 horas. Esse fator inibiu também a migração de neutrófilos induzida por LPS e *P. aeruginosa*. A liberação do NRIF foi bloqueada por dexametasona. Com o objetivo de analisar se o NRIF favorece o crescimento de bactérias no caso de uma infecção, *P.aeruginosa* ( $3 \times 10^9$  bactérias/3 ml) foram injetadas na cavidade peritoneal de animais normais e que receberam 30 min. antes 0.2ml do NRIF iv. O exudato peritoneal coletado 6 h após mostrou um número de colônias 10 vezes maior nos animais que receberam o NRIF, em relação ao grupo controle. Nossos resultados sugerem que a falência dos neutrófilos em migrarem durante a septicemia, pode ser o resultado de uma contínua liberação do NRIF, e que isto favorece o crescimento de bactérias no local da infecção.

## HETEROGENEIDADE DAS ESTRUTURAS POLISSACARÍDICAS DA PAREDE CELULAR DE ENTEROBACTÉRIAS

M.B. MARTINEZ; S. HOSHINO-SHIMIZU; M.F.B. PAVAN; E.M. MAMIZUKA

Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP.

Um total de 40 cepas de enterobactérias, sendo 4 de Shigella sonnei, 5 de Shigella flexneri, 10 de Escherichia coli, 5 de Proteus sp, 2 de Providencia inconstans, 4 de Klebsiella pneumoniae, 5 de Serratia sp, 3 de Enterobacter cloacae e 2 de Citrobacter sp, foram analisadas pela reação de aglutinação com 9 lectinas (amendoim, canavalia, ervilha, feijão, jaca, lentilha, mamona, soja e trigo), com objetivo de verificar a homogeneidade ou não dos polissacarídeos da parede celular, tendo em vista a especificidade das lectinas a diferentes açúcares. As cepas foram cultivadas em BHI agar (Difco) a 37°C por 24 horas. As colônias foram suspensas em solução tampão glicina 0,1M, pH 7,2 com íons  $Ca^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  e  $Mg^{2+}$  1mM. A visualização da aglutinação foi efetuada à vista desarmada em placa plana de vidro. Os volumes da suspensão bacteriana e da lectina (diluída no mesmo tampão) utilizados foram de 50  $\mu$ l. A reação foi incubada à temperatura ambiente por 60 minutos em câmara úmida, sob agitação periódica. Das 40 cepas de enterobactérias estudadas somente três de Shigella sonnei deram aglutinação positiva com a lectina de trigo; uma de Klebsiella pneumoniae aglutinou com as lectinas de amendoim, lentilha e ervilha e uma de Enterobacter cloacae foi positiva para amendoim, mamona, ConA e trigo. A interação de cepas de enterobactérias com a lectina de trigo deve-se talvez à presença de múltiplas unidades de  $\beta$ -D-GalNAc no LPS, enquanto que a interação de cepas com as lectinas de mamona e amendoim indica a ocorrência de múltiplos resíduos de  $\beta$ -D-galactopiranosil nos componentes polissacarídicos da parede celular dessas bactérias. As lectinas de lentilha, ervilha e ConA ligam-se especificamente com glicose e mamona, portanto a ligação de cepas com essas lectinas pode ocorrer devido a resíduos terminais de  $\beta$ -D-glicopiranosil e/ou de resíduos de manose. Ficou evidente a grande heterogeneidade dos açúcares terminais existentes na parede celular dessas enterobactérias, até mesmo entre cepas da mesma espécie. Devido a essa grande variabilidade, conclui-se que não é possível a utilização de lectinas para identificação de membros dessa família Enterobacteriaceae.

EFEITO DE CONCENTRAÇÕES SUBINIBITÓRIAS DE PENICILINA NO CONTEÚDO DE METIL-PENTOSSES E AÇUCARES AMINADOS NA SUPERFÍCIE DE ESTREPTOCOCOS  $\beta$ -HEMOLÍTICOS DOS GRUPOS B, C E G.

A.M.S. Figueiredo; C.S. Alviano; A.C.D. Castro; B.T. Ferreira; V.L.C. Merquior; L.C. Benchetrit & J. Angluster.

Centro de Referência para Estreptococos e Laboratório de Estrutura de Superfície de Microrganismos, Instituto de Microbiologia da UFRJ.

Estudos anteriores realizados em nosso laboratório têm demonstrado que a expressão antigênica do carboidrato C, presente na parede celular dos estreptococos está aumentada na presença de concentrações subinibitórias de penicilina. Com o objetivo de verificar as alterações de natureza química envolvidas neste aumento, determinou-se através de dosagens químicas espectrofotométricas e análises por cromatografia gás-líquida, o conteúdo de metil-pentoses (uma vez que a ramnose compõe a cadeia principal do carboidrato) e ainda o de açúcares aminados (presentes nas ramificações desse polissacarídeo), na superfície dos estreptococos dos grupos B, C e G de Lancefield, quando expostos à droga. Após obtenção das massas bacterianas, estas foram liofilizadas e pesadas. Posteriormente, procedeu-se as extrações com HCl 0,1N a 80°C por 1 hora e HCl 6N a 100°C durante 3 horas. A dosagem química do conteúdo de metil-pentose evidenciou um aumento que variou de 2,3 a 2,7 vezes para as amostras de estreptococos testadas. A análise de seus derivados alditol-acetatos, através de cromatografia gás-líquida revelou ser a ramnose a única metil-pentose presente nos extratos e confirmou os aumentos encontrados na dosagem química. A dosagem dos açúcares aminados evidenciou uma diminuição de até 1,7 vezes no conteúdo deste açúcar na superfície bacteriana. Estes estudos sugerem que alterações importantes de natureza química devam ocorrer na estrutura do carboidrato C e que estas podem estar relacionadas com aumento da sua expressão antigênica quando estes estreptococos são cultivados na presença do antibiótico.

Órgãos financiadores: CNPq, FINEP/PADCT, CEPG da UFRJ e CAPES

## CRESCIMENTO DE ESTREPTOCOCOS DO GRUPO G NA PRESENÇA DE PENICILINA.

A.C. de Castro & L.C. Benchetrit.

Centro de Referência para Estreptococos. Instituto de Microbiologia da UFRJ.

As concentrações submínimas inibitórias (subCMIs) de antibióticos modificam a biologia dos microrganismos. As bactérias nestas concentrações sofrem uma redução na taxa de crescimento logarítmico, um prolongamento da fase lag e finalmente, uma redução do número de bactérias na fase estacionária.

Uma amostra de estreptococos do grupo sorológico G foi cultivada por 18 h a 37°C em 7 ml de caldo "Todd-Hewitt" acrescido de subCMIs de penicilina (1/16 a 1/2 da CMI) e também em um tubo controle sem a droga. A cada período de 30 min. determinou-se a densidade óptica das culturas. Em intervalos de tempo de 1,5 h até a 6ª h e também em 24 h, alíquotas foram retiradas para a determinação do número de UFC/ml.

Os microrganismos cultivados em 1/16 e 1/8 da CMI apresentaram um crescimento bastante semelhante ao da cultura controle. Em 1/4 da CMI houve uma redução de aproximadamente 1 log no número de UFC ao final da 6ª h de incubação. Uma velocidade de crescimento menor e portanto um aumento do tempo de geração foram observados. Em 1/2 da CMI os microrganismos apresentaram um crescimento residual de cerca de 90 min., após o que observou-se uma queda do número de bactérias viáveis. Com 6 h de incubação o número de UFC tornou a aumentar e na 24ª h, ao contrário do observado para as outras culturas, houve um aumento do número de células.

Órgãos financiadores: CNPq, FINEP/PADCT, CAPES e CEPG da UFRJ.

MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DE ESTREPTOCOCOS DOS GRUPOS B E C EXPOSTOS À PENICILINA

B.T. Ferreira; V.L.C. Merquior; L.C. Benchetrit; R.G. Silva Filho & S.E.L. Fracalanza

Centro de Referência para Estreptococos. Instituto de Microbiologia da UFRJ.

A análise morfológica feita por microscopia eletrônica de varredura é fundamental na caracterização tridimensional da superfície celular. Deste modo, estudamos por este método as alterações promovidas por concentrações submínimas inibitórias de penicilina nos estreptococos dos grupos B e C.

O crescimento bacteriano foi obtido sobre membrana Millipore previamente fixada em anéis de polipropileno, depositadas na superfície do meio Base para Agar Sangue. Após o período de incubação as células foram fixadas em uma solução de glutaraldeído em sacarose e posteriormente desidratadas em um gradiente de etanol. Para a observação em microscópio eletrônico de varredura (Jeol-JSM-25S II) foi feito o ponto crítico ao CO<sub>2</sub> e posterior metalização com ouro.

O diâmetro celular de ambas as amostras de estreptococos, em subCMI, estava consideravelmente aumentado. Os estreptococos do grupo B em 1/2 da CMI apresentavam algumas células com parede celular colabada. Contudo em 1/3 da CMI constatou-se numerosas células multisseptadas. Com relação a distribuição do crescimento celular sobre a membrana, as células dos estreptococos do grupo C, no controle e em 1/3 da CMI estavam interligadas, constituindo microcolônias. Em 1/2 da CMI tais projeções pareciam retraídas dando a superfície das células um aspecto rugoso. Nesta concentração não foram observadas agregações celulares.

As alterações observadas poderiam identificar modificações nas estruturas da superfície bacteriana. Além disso, a presença de microcolônias, "in vivo", possivelmente contribuiriam para o aumento da virulência uma vez que a aderência à superfície epitelial passa a ser promovida por "unidades infecciosas".

Órgãos financiadores: CNPq, FINEP/PADCT, CAPES e CEPG da UFRJ

ALTERAÇÕES ULTRA-ESTRUTURAIS EM ESTREPTOCOCOS DOS GRUPOS A, B, C E G EM PRESENÇA DE PENICILINA.

V.L.C. Merquior; B.T. Ferreira; A.C.D. Castro; A.M.S. Figueiredo; M.E. Fonseca & L.C. Benchetrit

Centro de Referência para Estreptococos, Instituto de Microbiologia da UFRJ.

Experimentos em concentrações submínimas inibitórias de penicilina foram desenvolvidos com amostras de estreptococos dos grupos A, B, C e G, no intuito de avaliar as alterações promovidas na ultra-estrutura destes microrganismos.

As observações foram feitas em microscópio eletrônico de transmissão (EM-301, Philips) para células expostas a 1/2 e 1/3 da concentração mínima inibitória (CMI). O crescimento foi obtido sobre membranas estéreis de papel celofane depositadas na superfície do meio Base de Ágar Sangue (Merck). Após o período de incubação procedeu-se a preparação do material por uma técnica de contrastação já descrita anteriormente por Simionescu et al. (J. Cell. Biol., 53: 365-392, 1972).

Em 1/2 da CMI foram observadas células aumentadas com parede celular espessa e vários planos de divisão resultando em hemisférios desiguais. Além disso, na amostra do grupo C a parede apresentou um aspecto frouxo com contornos não definidos, sendo encontrado em grande quantidade no espaço intercelular um material eletron-denso que pareceu estar sendo desprendido da superfície. A amostra do grupo B em 1/3 da CMI tinha um formato ovoides, multisseptado em um único plano de divisão. Entretanto, nos estreptococos dos grupos C e G as células eram alongadas e nenhum vestígio de septação pôde ser observado. Os contornos celulares nestes grupos eram irregulares e projeções da parede celular semelhantes a fímbrias foram observadas na amostra de grupo G.

Nossos resultados demonstraram que as alterações estruturais na célula são dependentes da concentração do antimicrobiano e entre os microrganismos do mesmo gênero foram encontrados aspectos morfológicos diferentes.

Órgãos financiadores: CNPq, FINEP/PADCT, CAPES e CEPG da UFRJ

CINÉTICA DA PRODUÇÃO DE HIALURONIDASE EM UMA AMOSTRA DE *Streptococcus equisimilis* CULTIVADA NA PRESENÇA DE PENICILINA.

B.T. Ferreira; O.C. Simões; A.M.S. Figueiredo & L.C. Benchetrit

Centro de Referência para Estreptococos. Instituto de Microbiologia da UFRJ.

A enzima hialuronidase tem sido implicada como importante fator de patogenicidade dos estreptococos beta-hemolíticos, sendo liberada extracelularmente por amostras dos grupos A, B, C, e G. Estudos anteriores realizados em nosso laboratório têm demonstrado que a atividade desta enzima está aumentada nos sobrenadantes de culturas de estreptococos cultivadas em presença de penicilina. Sendo assim, a cinética da produção enzimática frente a este beta-lactâmico foi por nós estudada.

Uma amostra pertencente ao grupo foi cultivada em dialisado do caldo Todd-Hewitt acrescido de 1/3 da CMI de penicilina e incubada à 37°C. Durante 24h foram retiradas alíquotas, em intervalos de 30 min. para a determinação espectrofotométrica do crescimento bacteriano e do número de bactérias viáveis/ml. A atividade da enzima foi dosada no sobrenadante de cada uma das alíquotas por um método espectrofotométrico que utiliza um corante do grupo das carbocianinas, a 640nm (Benchetrit et al., Anal. Biochem., 79: 431-437, 1977). Nossos resultados indicaram que o pico de máxima produção da enzima foi coincidente com o pico máximo do crescimento bacteriano (5ª hora). Observamos ainda que a atividade enzimática foi inversamente proporcional a taxa de morte. Isto indica que o aumento da atividade hialuronidásica em subCMIs deva ocorrer durante o metabolismo bacteriano ativo, sugerindo que outros mecanismos, que não a atividade bactericida da penicilina, devam estar envolvidos no aumento de sua atividade.

Órgãos financiadores: CNPq, FINEP/PADCT, CAPES e CEPG da UFRJ

PENICILINA E RNA: AÇÃO SOBRE A HEMOLISINA LIGADA À CÉLULA DE UMA AMOSTRA DE *Streptococcus equisimilis*.

A.C. de Castro; B.T. Ferreira & L.C. Benchetrit.

Centro de Referência para Estreptococos. Instituto de Microbiologia da UFRJ.

A estreptolisina S de estreptococos do grupo sorológico A é uma pequena molécula que parece estar ligada a um carreador na membrana plasmática da célula do microrganismo. É estável ao oxigênio e caracterizada por sofrer um estímulo na sua produção quando a bactéria é cultivada na presença de RNA.

Neste trabalho estudamos o efeito do RNA e da penicilina (1/3 da CMI) sobre a expressão da atividade hemolítica ligada à célula de uma amostra de estreptococos do grupo G de Lancefield.

O microrganismo foi cultivado em 7 ml de caldo "Todd-Hewitt" adicionado de RNA ou penicilina ou RNA e penicilina como também em um tubo controle.

Após 18 h de incubação a 37°C observou-se que a penicilina causou uma inibição na atividade hemolítica apresentada pelo microrganismo. Contrariamente, um estímulo da expressão da hemolisina foi observado quando os microrganismos foram expostos simultaneamente à ação de RNA e da droga antimicrobiana. Este estímulo foi de aproximadamente 62%.

Órgãos financiadores: CNPq, FINEP/PADCT, CAPES e CEPG da UFRJ.

**ESTREPTOCOCOS DO GRUPO SOROLÓGICO G: HEMOLISINA LIVRE.**

A.C.D. de Castro; B.T. Ferreira & L.C. Benchetrit.

Centro de Referência para Estreptococos. Instituto de Microbiologia da UFRJ.

A estreptolisina O dos estreptococos beta-hemolíticos do grupo A é bem caracterizada como uma substância imunogênica, lábil ao oxigênio que somente é ativa em atmosfera reduzida. É lítica para eritrócitos, leucócitos polimorfonucleares, plaquetas e algumas organelas celulares. É letal para animais de laboratório e apresenta propriedades cardiotoxícas. Os estreptococos do grupo G também produzem uma hemolisina que é antígenicamente semelhante a estreptolisina O dos microrganismos do grupo A.

Em nosso trabalho uma amostra de estreptococos do grupo G foi cultivada em 7 ml de caldo "Todd-Hewitt" e incubada por 18 h a 37°C. Após este período a medida do crescimento bacteriano foi realizada em espectrofotômetro (540 nm), a cultura centrifugada, as células lavadas e ressuspensas em tampão fosfato e colocadas a reagir com eritrócitos de carneiro (0,5%) na presença ou na ausência de 2-mercaptoetanol.

Observamos que o sobrenadante da amostra bacteriana apresentou uma atividade hemolítica máxima de 88% em relação a lise total de hemácias. A capacidade hemolítica do microrganismo não foi afetada pela adição da substância redutora. No entanto o ferrocianeto de potássio (0,01 M) inibiu parcialmente a expressão da hemolisina e a pré-incubação do sobrenadante com antissoro antiestreptolisina O de estreptococos do grupo A causou total inibição da substância hemolítica.

Órgãos financiadores: CNPq, FINEP/PADCT, CAPES e CEPG da UFRJ.

## AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA ATIVIDADE CO-CITOLÍTICA DE AMOSTRAS DE STREPTOCOCCUS E CORYNEBACTERIUM

L.M. Teixeira, M.F. Lopes, C.S. Stern & L.R.L. Santos  
Departamento de Microbiologia Médica do IM-UFRJ

Alguns efeitos de sinergismo hemolítico entre exoprodutos (co-citolisinas) bacterianos já são conhecidos há algum tempo e empregados como marcadores para alguns microrganismos, particularmente aquele existente entre Staphylococcus e Streptococcus. Entretanto, somente num período mais recente, a análise dessas substâncias tem sido mais amplamente aplicada a outras espécies e gêneros, não havendo ainda uniformidade na metodologia de estudo. Numa primeira etapa deste estudo, 8 amostras de Staphylococcus aureus, foram testadas quanto a sua capacidade de funcionarem como amostras indicadoras em testes de hemólise sinérgica. As amostras 6538 P e Cowan I foram rejeitadas como tal, enquanto a ATCC 29213 forneceu reações fracas. As demais amostras (ATCC 25923; I89; I90; SS-697 e R11) demonstraram ser boas indicadoras em tais testes. Posteriormente, com o intuito de comparar o efeito do meio de cultura e o tempo de incubação sobre a atividade co-citolítica, 33 amostras do gênero Streptococcus (incluindo 15 Streptococcus agalactiae, 4 de estreptococos do grupo D, 8 Streptococcus uberis e 6 Streptococcus dysgalactiae) e 8 amostras do gênero Corynebacterium (incluindo 4 Corynebacterium equi, 2 Corynebacterium renale e 2 Corynebacterium hoagii), produtoras de co-citolisinas que atuam sinérgicamente com S. aureus, foram submetidas a testes de triagem em meios de agar sangue de carneiro, preparados com duas bases diferentes: "Trypticase Soy Agar" (TSA) e "Columbia Agar Base" (CAB). Embora tenha havido alguma variabilidade, o meio preparado com a base CAB, foi o que apresentou uma melhor evidencição das reações. O tempo de leitura ideal foi após 24 horas de incubação, para membros do gênero Streptococcus e após 48 horas para membros do gênero Corynebacterium. Duas amostras de S. galactiae, 1 de C. renale e 1 de C. equi foram selecionadas e submetidas a testes para dosagem da atividade co-citolítica. Para tal, as amostras foram semeadas em BHI e incubadas a 37°C. Após, respectivamente, 24 e 48 horas de cultivo, a determinação da atividade co-citolítica nos sobrenadantes das culturas foi realizada em tubos (macro-técnica) e em placas de microtitulação (micro-técnica), empregando-se suspensão de hemácias de carneiro previamente tratadas com B-lisina. As amostras de estreptococos apresentaram títulos de co-citolisinas em torno de 1/8, após 24 horas de incubação, os quais se mantiveram até o período de observação de 48 horas. Por outro lado, as amostras de corynebactérias estudadas apresentaram títulos semelhantes ou mais baixos do que os de amostras de estreptococos, após 24 horas de incubação, mas, que se elevaram após 48 horas. Nossos resultados evidenciam diferenças na cinética de produção dessas substâncias. Auxílio CNPq, FINEP e CEPG-UFRJ

ATIVIDADE DNásica COMO PARÂMETRO NA AVALIAÇÃO DO INTERCÂMBIO ENTRE CÂMARAS INTRAPERITONEAIS E OS TECIDOS DO HOSPEDEIRO

R.G.Silva Filho, S.E.L.Fracalanza & B.T.Ferreira

Disciplina de Microbiologia da UNI-RIO e Departamento de Microbiologia Médica da UFRJ.

Existe atualmente um considerável aumento no interesse acerca da penetração nos tecidos e distribuição extravascular de agentes terapêuticos, em especial quando ligados a proteínas, em sítios recobertos de fibrina.

Alguns estudos empregando câmaras construídas com malha de aço inox implantadas subcutaneamente no dorso de coelhos têm sido utilizados para simular condições existentes em processos infecciosos fechados, nos quais a penetração dos antibióticos seria restringida pela barreira de fibrina e outras condições locais. Muitos métodos são propostos para avaliar a permeabilidade destes modelos, como por exemplo o conteúdo celular, o perfil eletroforético das proteínas e substâncias marcadas com isótopos radioativos.

Em um estudo no qual uma amostra de estreptococos do grupo B foi crescida em câmaras cilíndricas de polipropileno fechadas com membrana de nitrocelulose (poro de 0,22 $\mu$ ) e implantadas intraperitonealmente em camundongos por um período de 15 a 150 dias, procuramos detectar a produção de DNase "in vivo" pelo microrganismo, pois "in vitro" isto não ocorria. Foi observada uma atividade DNásica no fluido das câmaras contaminadas assim como em câmaras estéreis implantadas similarmente e no soro de camundongos. Além disso constatamos uma estreita correlação entre a curva de crescimento bacteriano "in vivo" e a curva da atividade enzimática do fluido das câmaras. Diante das evidências de que a atividade enzimática encontrada no fluido das câmaras era proveniente do intercâmbio estabelecido entre estas e os tecidos que as envolvem, pudemos concluir que a permeabilidade máxima da câmara ocorria entre 5 a 7 dias após a implantação. Assim a determinação da atividade DNásica pode ser uma metodologia útil na avaliação do intercâmbio entre a câmara e os tecidos do hospedeiro. Aspectos relevantes da praticidade deste método incluem a sua simplicidade de execução, a utilização como parâmetro de uma substância endógena e o não uso de material radioativo. Trabalho realizado com o auxílio da FINEP, CNPq e CEPG.

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) DE ESPÉCIES DO GRUPO *Bacteroides fragilis* DE PRIMATA NÃO HUMANO PARA O BICLORETO DE MERCÚRIO: ESTUDO COMPARATIVO EM DIFERENTES MEIOS, A pH 7,2.

M. J. AVILA-CAMPOS; M. A. R. CARVALHO; E. CHARTONE-SOUZA; C. A. V. DAMASCENO & E. O. CISALPINO.

DEPTO. MICROBIOLOGIA - LAB. MICROBIOLOGIA ORAL E ANAÉROBIOS - ICB/UFMG.

A resistência ao mercúrio na maioria dos microrganismos, algumas vezes, está associada com a múltipla resistência a antibióticos e/ou a vários outros metais como cádmio, cromo, zinco e prata.

A determinação da CIM, foi realizada pelos métodos de diluição em ágar, em ágar Infuso-cérebro-coração (ágar BHI) adicionado de extrato de levedura (0,5%), e suplementado com hemina, com menadiona e com sangue; e pelo método de diluição em caldo (BHI, adicionado de extrato de levedura e suplementado com hemina), pH 7,2. Foram utilizadas concentrações de 0,25 até 256ug/ml, em progressão geométrica base 2.

Em relação aos meios usados, observou-se que no caldo BHI os microrganismos foram mais sensíveis que no meio sólido com diferentes suplementos.

Em ágar BHI, e quando suplementado com hemina, com menadiona e com hemina+menadiona, a CIM<sub>50</sub> foi 8 vezes menor que em ágar-sangue. O nível de resistência para todas as cepas testadas em ágar BHI+hemina e em ágar-sangue foi em torno de 100% na concentração de 2ug/ml (ponto crítico).

Esses dados suscitam uma avaliação mais profunda dos possíveis fatores de interferência em testes desta natureza pelas óbvias implicações deles decorrentes.

APOIO : CNPq e FINEP.

PERFIL DE PLASMÍDIOS E SÍNTESE DE FATORES DE PATOGENICIDADE DE MORAXELLA BOVIS

C. GIL-TURNES, J.A.G. ALEIXO, O.A. DELLAGOSTIN e J.T. RIBAS

Universidade Federal de Pelotas, 96100 Pelotas, RS, Brasil

Estudou-se o perfil de plasmídios e a síntese de fatores de patogenicidade de quatorze amostras de Moraxella bovis recuperadas de bovinos com ceratoconjuntivite. Para obtenção dos plasmídios as bactérias foram suspensas em TRIS-EDTA pH 8.0, lisadas por SDS alcalino e tratadas com fenol cloroformo (50:50). Após centrifugadas, alíquotas da fase aquosa foram submetidas a eletroforese em agarose com brometo de etídio a 0,1%. O peso molecular dos plasmídios foi comparado com o do padrão lambda DNA Eco RI digerido por Hind III. A síntese de adesinas foi quantificada em suspensões de idêntica densidade ótica por hemaglutinação de hemácias de ovino; a de dermonecrotoxinas por inoculação de filtrado de cultivos intradérmicamente em cobaias e a de gelatinase e DNase utilizando meios de cultivo com o substrato incorporado. Todas as amostras apresentaram plasmídios de 13,8 e 0,86 M D. Doze apresentaram também plasmídios de 1,32 M D, onze de 1,37 M D e uma de 0,65 M D. Uma amostra apresentou cinco tipos de plasmídios, nove quatro tipos, três três tipos e uma dois tipos. Todas as amostras sintetizaram hemaglutininas, variando a concentração de 2 a 16 uHA/ml, DNase e gelatinase, e só três, dermonecrotoxinas. Não houve relação entre perfil de plasmídios e síntese de fatores de patogenicidade e a localização geográfica dos isolamentos.

Este trabalho teve financiamento do CNPq (subsídio 404543/87.1) FAPERGS (subsídio 0649/88) e do FINEP (subsídio 4.2.88.0624.00)

EFEITO DA COMPOSIÇÃO DO MEIO DE CULTIVO, OXIGÊNIO DISSOLVIDO, pH E TEMPERATURA NA EXPRESSÃO DE ADESINAS DE MORAXELLA BOVIS

F.P.L. LEITE e C. GIL-TURNES

Faculdade de Veterinaria, UFPEL, 96100 Pelotas, RS

Foi estudada a curva de crescimento e a síntese de adesinas da cepa G 9 de Moraxella bovis com quatro meios de cultivo (Tryptic Soy broth (TSB), infuso de cérebro e coração (BHI), caldo Mueller Hinton (MH) e um meio contendo peptona 1, extrato de carne 0,25, ClNa 0,25 e  $PO_4HNa_2$  0,25 (DCF) gr%, duas temperaturas de incubação (30 e 37°C), três níveis de aporte de ar (0, 0.5 e 1 L/L meio/min) e pH (6.2, 6.4, 6.9 e 7.2). Os experimentos iniciais foram feitos em matraces de Erlenmeyer contendo 20 % de seu volume de meio, agitados a 120 RPM. Os estudos de dinâmica populacional, consumo de oxigênio e síntese de adesinas, em fermentador Multi-gen F 2000 (NBS, USA) com agitação constante de 350 RPM. O cultivo bacteriano foi medido por espectrofotometria a 600 nm, as taxas de oxigênio dissolvido por sonda galvanométrica e a síntese de adesinas por aglutinação de hemácias de galinha. A maior produção de biomassa bacteriana foi obtida em DCF a 37°C com aporte de 0,5 L ar/L meio/min (13,5 % T) e o maior título de adesinas em BHI com aporte de 1 L ar/L meio/min (8 UHA/mL). Verificou-se aumento da demanda de oxigênio entre o início da fase exponencial e quatro horas após sua finalização. Os títulos de adesinas aumentaram entre as 6 e 18 horas de cultivo, diminuindo posteriormente. Só se sintetizaram adsinas a pH 7.2. Concluiu-se que a síntese de adesinas depende da constituição do meio, do aporte de ar, do pH e da temperatura de incubação.

Trabalho financiado pelo Banco do Brasil (FIPEC Proc. nº 1708).

## COMPARAÇÕES FISIOLÓGICAS DE LINHAGENS DE Escherichia coli.

M.L.Almeida, M.Perugini, C.Pacheco, S.M.A.Janene, A.C.B.Silva, J.W.Breganô, M.C.Vidotto & S.Itow Jankevicius.

Departamento de Patologia Geral, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Caixa Postal 6001, CEP 86051, Londrina, PR.

Cultivando amostras de Escherichia coli patogênicas e não patogênicas no meio definido de Davis a 37°C, sem agitação, observou-se que a amostra JM-111, auxotrófica para tiamina e prolina, apresentou o ótimo de crescimento em torno de pH 6,0 e tempo de geração de 185 minutos enquanto as demais amostras atingem o máximo de crescimento em pH 5,0, com tempo de geração de aproximadamente 95 minutos e para todas as amostras, o número de células na fase estacionária foi superior a  $10^9$  células/ml. Após 240 horas de cultivo as amostras normal e patogênica apresentaram 100% de viabilidade e a amostra JM-111 0,01%. Com células starvingadas no meio definido sem glicose, foi realizado o teste de utilização de diferentes fontes de carbono (glicose, galactose, xilose, maltose, sacarose e lactose), com avaliação do crescimento através de leitura espectrofotométrica no comprimento de onda de 550 nm. A utilização da glicose foi imediata para todas as amostras enquanto o tempo de indução para utilização da sacarose, frutose, galactose e xilose foi em torno de 12 horas e o tempo para lactose e maltose foi duas vezes maior (+24 horas). Na amostra JM-111, o tempo para o início da utilização de galactose foi em torno de 15 horas e acima de 24 para a utilização de maltose, frutose e xilose, não conseguindo utilizar sacarose e lactose. Somente a galactose conseguiu estimular o crescimento, onde o número de células foi superior à da glicose. Os nossos resultados demonstram que a eliminação de nutrientes endógenos ocorre somente na 2ª ou 3ª passagem no meio definido sem nenhuma fonte de carbono. As implicações destes resultados na identificação de microrganismos, principalmente em análises clínicas, são de considerável interesse, já que a utilização de amostras não starvingadas e períodos de incubação curtos (12 a 24 horas) não permitem demonstrar estas diferenças.

CULTIVO DE M. ANISOPLIAE EM MEIOS SINTÉTICOS

J.A. Freire; B.C. Almeida Cunha e J.A. Neto

Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP C.P. 30.786, São Paulo - SP.

Considerando-se produtividade como sendo a velocidade de produção de micélio por grama de açúcares redutores totais consumida, os valores máximos, em culturas de M. anisopliae em meios quimicamente definidos, foram obtidos em concentrações limitantes de dextrose, que foram aquelas em que a relação entre massa micelar e consumo de ART atingiram também os mais altos valores. Determinando-se a velocidade de síntese como a final obtida no tempo de maior acúmulo o micélio, este índice passa por um máximo em culturas em que a concentração de dextrose foi de 1,0%, ao se considerar concentrações entre 0,1 e 3,0%. Quando se considerou como velocidade de síntese micelar o coeficiente angular das retas relativas a modelos matemáticos desenvolvidos para descrever a fase linear de crescimento até o ponto de acúmulo micelar máximo, os valores obtidos em relação às concentrações utilizadas de dextrose variaram entre 0,6268, para 0,1% de dextrose e 1,4585 para 1% de dextrose.

CULTURA PURA VERSUS CULTURA MISTA DE FUNGO FILAMENTOSO E LEVEDURA EM VINHAÇA.

S.R. Ceccato-Antonini & S.M. Tauk - Departamento de Ecologia, UNESP, C.P.178 - 13500 - Rio Claro - SP.

Foi estudado o comportamento das culturas puras de Aspergillus niger e Cryptococcus laurentii e da cultura mista destes microrganismos em vinhaça ao longo de 72 horas de cultivo em meio de cultura com 8 g/l de açúcar total e 20:1,0:0,1 para C:N:P, respectivamente (C representado pela concentração de açúcar total), pH inicial 4,6 e a 30°C. O crescimento do cultivo misto em vinhaça variou em função do tempo, alcançando o máximo de produção de massa seca em 24 horas de cultivo. No entanto, os melhores resultados para proteína (40,91%) e redução de demanda bioquímica de oxigênio (DBO), 93,7%, foram obtidos em 72 horas. O cultivo puro de A. niger cresceu satisfatoriamente em vinhaça, contudo, com baixo conteúdo proteico. A levedura Cr. laurentii apresentou baixo crescimento neste mesmo meio, mas com alto conteúdo protéico na biomassa e alta redução de DBO do resíduo. Os resultados mostraram que a vinhaça foi degradada sequencialmente pelos microrganismos em 72 horas, primeiro A. niger durante 24 horas e posteriormente pela levedura. Tal mecanismo possibilitou a obtenção de alta redução de DBO da vinhaça, mas baixa produção de biomassa em g/l de massa seca.

Este objetivo talvez pudesse ser alcançado utilizando-se inoculação sequencial destes microrganismos em vinhaça, o que está sendo estudado neste momento.

## ESTUDO DO CRESCIMENTO BACTERIANO EM MEIOS DE CULTURA A BASE DE INFUSO DE FILÉ DE PESCADO (IFP)

M. C. B. Alvariza, M. M. S. Boffo, M. R. S. Borges,  
M. M. Pereira e J. P. Laurino

Fundação Universidade do Rio Grande - Rio Grande, RS

Dezessete amostras bacterianas foram cultivadas em meios sólidos e líquidos preparados a partir de IFP (técnica de obtenção adaptada da utilizada para o caldo infuso de carne) com o objetivo de estudar o emprego do pescado como substrato alternativo para produção de meios de cultivo. Todas as amostras cresceram tanto nos meios propostos como nos controles.

Os meios sólidos para cultivo de Streptococcus pyogenes, S. pneumoniae, Neisseria meningitidis e Campylobacter jejuni foram acrescidos de 5% de sangue e para a última amostra ainda adicionadas substâncias que aumentam sua aerotolerância. O tempo de sobrevivência em meio líquido foi superior naqueles à base de IFP quanto à amostra de S. pyogenes e semelhante quanto às outras três amostras. Em relação à morfologia colonial, apenas o S. pyogenes apresentou colônias menores nos meios propostos.

No cultivo das amostras de Bacillus subtilis, B. cereus, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Shigella flexneri, Citrobacter freundii, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter aerogenes, Serratia marcescens, Proteus rettgeri, Providencia sp., Yersinia enterocolitica e Pseudomonas aeruginosa também foi considerado o índice de crescimento em meios sólidos (obtido dividindo-se a média de unidades formadoras de colônias em ágar IFP pela média em ágar soja-tripticaseína), o qual variou de 0,8 a 1,5. Algumas diferenças quanto à morfologia colonial foram observadas, incluindo o tamanho das colônias.

Os resultados indicam que o IFP tem nutrientes necessários para propiciar o crescimento de todas as amostras estudadas. A existência de várias outras espécies microbianas com exigências nutricionais semelhantes denota a importância na continuação dos estudos visando seu emprego sistemático.

CONTROLE BIOLÓGICO DE ESTERILIZAÇÃO POR AUTOCLAVE E FORNO DE PASTEUR, UTILIZANDO SISTEMA SEM CONTATO COM O MEIO EXTERIOR.

I. de Filippis, A.E.C.Cardoso de Almeida, B.E.Soaes & E.G. Sanches.

Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Laboratório de Substâncias Biológicas de Referência e Coleção de Culturas - Rio de Janeiro - RJ.

OBJETIVOS: Foi desenvolvido um sistema de controle biológico de esterilização a seco ou a vapor, que possibilita sua manipulação sem contato dos microrganismos utilizados com o meio exterior, podendo então ser utilizado em ambientes onde uma contaminação por microrganismos esporulados seria desastrosa como por exemplo setores de produção de vacinas. Uma outra vantagem deste método é que o meio indicador utilizado não é esterilizado junto com o microrganismo e por isso não sofre alterações bioquímicas por variações de temperatura que influenciariam no teste.

MATERIAL E MÉTODOS: Foram utilizados os seguintes microrganismos de referência indicados pela USP XVIII, para o controle biológico de esterilização: *B. stearothermophilus* ATCC 7953 (esterilização por vapor a 1 atm de pressão e temperatura a 121°C por 15 minutos) e *B. subtilis* ATCC 19659 (esterilização por calor seco a 160°C por 120 minutos). O sistema de controle de esterilização é composto por 2 frascos tipo-penicilina; um dos frascos contém esporos do microrganismo em suspensão de PBS (p/autoclave) ou liofilizados (p/forno). Outro frasco contém 30 ml de Meio Indicador de Bacillus (MIB) semelhante ao meio de OF (Hugh & Leifson), sem agar e com maior concentração de glicose. Para a realização do teste colocam-se 5 frascos com o microrganismo indicado para a esterilização no forno ou autoclave esterilizando-se normalmente. Ao final da esterilização retiram-se os frascos e com uma seringa estéril transfere-se assepticamente o conteúdo de 5 frascos contendo MIB para os frascos recém esterilizados. Incuba-se respeitando-se a temperatura ótima de crescimento de cada microrganismo, e espera-se de 2 a 5 dias antes de descartar os frascos como estéreis, incubando-se pelo menos 1 frasco contendo MIB estéril para controle negativo.

RESULTADOS E CONCLUSÕES: O meio indicador (MIB) quando estéril, apresenta coloração esverdeada, mas quando há crescimento microbiano e metabolismo da glicose com produção de ácido, o indicador vira o meio para amarelo. Assim sendo se ao final de 5 dias de incubação o meio continuar com sua coloração original, pode-se considerar que a esterilização foi eficaz, mas se com 5 dias ou menos a coloração do meio mudar para amarelo, a esterilização não foi capaz de inativar os esporos presentes nos frascos após compará-los com um controle positivo.

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE DESINFETANTES

C.M.A.Romão, N.H.T.Miyazaki &amp; U.M.Silveira

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde -  
Fundação Oswaldo Cruz - R.J.Setor de Microbiologia e Imunologia - Laboratório de Sa-  
neantes

Os desinfetantes são amplamente utilizados em instituições hos-  
pitalares, assim como em ambientes domésticos, escolas, restau-  
rantes e outros locais públicos. Estes produtos devem ter sua e-  
ficácia assegurada para que realmente apresentem ação letal so-  
bre microrganismos e não sejam veiculadores de bactérias.

Com o objetivo de verificar a situação dos desinfetantes de u-  
so geral, quanto à atividade antimicrobiana e composição química  
foram analisadas 42 amostras de produtos disponíveis para comer-  
cialização (24 provenientes de programa de apreensão fiscal da  
Vigilância Sanitária).

O método utilizado foi o da Diluição de Uso da Association of  
Official Analytical Chemists (AOAC). Os desinfetantes foram tes-  
tados nas diluições recomendadas pelos fabricantes, frente a Sta-  
phylococcus aureus (ATCC nº 6538) e Samonella choleraesuis (ATCC  
nº 10708). Foram utilizados meios de subcultura com neutralizan-  
tes adequados a cada princípio ativo. Para os produtos com ação  
simultânea de limpeza, foi adicionada matéria orgânica às cultu-  
ras teste.

Das 42 amostras analisadas, 13 (30,9%) apresentaram ação bacte-  
ricida, enquanto 29 (69,1%) não mostraram atividade sobre os mi-  
croorganismos teste. Dentre estas, 3 encontravam-se contaminadas.  
Os produtos à base de formaldeído (8 amostras) apresentaram a  
maior percentagem de reprovação 87,5%.

Os resultados demonstram a necessidade de revisão das formula-  
ções e implementação do controle de qualidade a nível das indús-  
trias, assim como a continuidade de programas de controle de qua-  
lidade em conjunto com órgãos de vigilância sanitária, a fim de  
assegurar à população produtos realmente efetivos.

## ESTUDO DO CONTROLE E ASSEPSIA EM AMBIENTE DE ESTERILIZAÇÃO MÁXIMA.

C. Zavareze, C.L. Rocha, I.C. Santos, A.E.C. Cardoso de Almeida. Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Laboratório de Esterilidade Bacteriana e Fúngica - Rio de Janeiro - RJ.

**OBJETIVOS:** O presente trabalho tem como objetivo padronizar o controle da assepsia de ambientes que necessitam de esterilização máxima como: salas para testes de esterilidade, salas para produção de material para uso parenteral, centrocirúrgico, CTI, salas de microcomputadores, gravação, etc.

**MATERIAL E MÉTODOS:** A primeira exigência para execução em trabalhos assépticos envolve pessoal técnico capacitado e treinado, condições físicas adequadas como: paredes lisas sem rasuras e impermeáveis, pisos lisos com bordas arredondadas (que possam ser facilmente e regularmente limpos e desinfetados), vestiário estéril, filtros biológicos tipo HEPA para ar condicionado central, pressão positiva do ar, lâmpadas de U.V., túnel de passagem do meio de menor pressão de ar para o de maior, fluxo laminar, solução descontaminante testada quanto à sua atividade antimicrobiana, "Principles and Practice of Desinfections and Sterilizations. Edited by A.D. Russel - Blackwell" e Manual do I.S.P. do Chile. A metodologia utilizada para o controle ambiental é de amostragem estática, "General Requirements for the Sterility of Biological Substances (1973)" OMS e Manual Técnico INCQS nº 01/84, utilizando placas de Petri contendo meios de agar nutriente (AN) e agar glicosa (AG) dispostas em pontos determinados da sala; colocá-las abertas durante 15 minutos e após este período incubar a 37°C (AN) e a 25°C (AG) durante 7 dias.

**RESULTADOS:** Um fator importante no controle de níveis de contaminação ambiental é a identificação de microrganismos isolados a um grau suficiente de modo a indicar a possível fonte humana, poeira, equipamentos existentes nas salas, relação homem-doença, doença-homem, quando e onde ocorreu e que operação e operadores estiveram envolvidos.

**CONCLUSÕES:** Vamos observar que em ambientes assépticos temos pontos de várias classes ambientais; se realizarmos o teste de controle ambiental microbiano após turbulência do ar, o nível de contaminação estará aumentado em torno de 90%, enquanto se for realizado após descontaminação prévia de 2 horas este nível cairá em torno de 80%.

## MÉTODO MODIFICADO PARA DOSEAMENTO DE SUBSTÂNCIAS CITOTÓXICAS

M.V.ANDRADE\*/\*\*; A.C.ESTEVES\*; J.L.S.CARVALHO\*\*.

\*UNIVERSIDADE SANTA ÚRSULA; \*\*INSTITUTO OSWALDO CRUZ.

A produção de micotoxinas ou de antibióticos é qualitativa e quantitativamente dependente do gênero, da espécie e das cepas usadas e também do meio de cultura, do tempo de cultivo: (fermentação, da temperatura, aeração, etc...).

Devido a instabilidade de obtenção quantitativa de substâncias ativas em cada partida de fermentação surgiu a necessidade de um método simples e confiável de dosagem.

O método desenvolvido permite obter a concentração terapêutica adequada para as finalidades propostas por controle da ação citotóxica do produto final purificado em sementes de arroz (*Oryzae sativa* L.), foi baseado em processo básico há longos anos utilizado na Seção de Micologia do I.O.C..

A técnica atual consiste em uma prévia seleção de sementes que são lavadas em água destilada, em álcool etílico a 70% e novamente em água destilada por alguns minutos. As sementes são então colocadas em placas de Petri, com o agente citotóxico em diluições sequenciais. A diluição ideal é determinada pelo impedimento do desenvolvimento total do embrião, isto é, supressão do aparecimento da radícula e caulículo.

Os testes foram realizados com 3 produtos citotóxicos: Methotrexate, Enduxan e ACT-2. Os dois primeiros são produtos já industrializados e aplicados em diversos tipos de tumores. O produto ACT-2, ainda em fase experimental é uma solução estéril padronizada, proveniente da fermentação da cultura de um *Aspergillus*, em meio nutritivo adequado após isolamento e purificação. O produto composto de diversos metabólitos é dissolvido em água destilada estéril e testada sua ação citotóxica pelo método descrito anteriormente.

Pelos resultados obtidos podemos concluir que o método usado é objetivo e preciso em comparação com os métodos atuais relacionados em bibliografia conhecida.

AValiação DA LIBERAÇÃO DE BETA-GALACTOSIDASE, DE BACTÉRIAS LIOFILIZADAS, APÓS EXPOSIÇÃO À ALTAS TEMPERATURAS:

A.E.C.Cardoso de Almeida, I.de Filippis, B.E.Soares & E.G.Sanches  
 Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Departamento de Microbiologia, Laboratório de Substâncias Biológicas de Referência e Coleção de Culturas - Rio de Janeiro - RJ.

OBJETIVOS: A beta-galactosidase, uma enzima existente em alguns microrganismos e responsável pela degradação da lactose, pode ser dosada quanto à sua presença no interior da bactéria, mediante lise da mesma e dosagem quantitativa de enzima liberada após a lise, ou quanto à sua presença no meio exterior à bactéria que não tenha sofrido lise. Quando se detecta grande quantidade de beta-galactosidase no exterior de uma bactéria produtora da enzima e que não tenha sido lisada, pode-se afirmar que houve algum dano à membrana celular do microrganismo e que permitiu o extravasamento da enzima para o exterior da célula. Este trabalho pretende demonstrar a estabilidade de bactérias liofilizadas produtoras de beta-galactosidase após exposição a altas temperaturas por diferentes períodos de tempo.

MATERIAL E MÉTODOS: Após a liofilização os microrganismos foram expostos a  $-20^{\circ}\text{C}$ ,  $+5^{\circ}\text{C}$ ,  $+25^{\circ}\text{C}$ ,  $+37^{\circ}\text{C}$  e  $+45^{\circ}\text{C}$  por 1, 7, 14, 30, 60 e 120 dias para cada temperatura e após a reidratação foram submetidas ao teste de detecção da beta-galactosidase. O teste de detecção aqui empregado é semelhante ao teste de ONPG normalmente aplicado para enterobactérias, onde o microrganismo é lisado com Tolueno antes de ser adicionada a solução de ONPG; no nosso teste a etapa da lise com Tolueno foi suprimida de modo que seria apenas detectada a enzima se ela estivesse saindo da célula devido a possíveis lesões na membrana celular do microrganismo.

RESULTADOS: Em nenhuma das quatro bactérias testadas (S.chole-raesuis ATCC 10708, S.marcescens ATCC 14756, E.coli ATCC 25922 e M.luteus ATCC 9341), foi detectada quantidade considerável de beta-galactosidase no exterior da célula mesmo sendo este um teste qualitativo determinado por visualização da mudança de coloração. O controle positivo, que era constituído pela coloração obtida com células lisadas, sempre apresentou coloração muito mais intensa do que as células não lisadas. Uma pequena quantidade de beta-galactosidase foi detectada com as células não lisadas, o que era esperado, considerando-se os possíveis danos mecânicos que poderiam ocorrer à membrana durante os processos de repique e manipulação das cepas para o teste.

CONCLUSÕES: Este trabalho demonstra, que mesmo após exposições prolongadas a altas temperaturas os microrganismos liofilizados não tiveram danos à membrana, mantendo a viabilidade alta.

MANUTENÇÃO DA ATIVIDADE DE MICRORGANISMOS LIOFILIZADOS DURANTE A ESTOCAGEM

T.C. Vessoni Penna; I.A. Machoshvili; A.J. Colombo e B.C. Almeida Cunha

Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP. C.P. 30.786. CEP 01051 São Paulo, SP

Foi estudada a variação na viabilidade de cepas de culturas puras liofilizadas na presença do crioprotetor e estabilizante polivinil pirrolidona, durante três anos de estocagem à temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$ . As cepas (ATCC) das culturas liofilizadas foram: Staphylococcus aureus (6538 P; 9596; 13150); Bacillus subtilis (6633); Candida albicans (10231); Aspergillus niger (16404); Salmonella typhimurium (14028); Streptomyces faecalis (29212); Escherichia coli (25922); Klebsiella pneumoniae (10031); Bacteroides fragilis (2585); Bacillus pumilus (14884) e Pseudomonas (27853). E as cepas selvagens de Campylobacter jejuni; Streptococcus B-hemolyticus; Clostridium perfringens; Haemophilus influenzae e Neisseria gonorrhoea. A estocagem teve por objetivo atender testes de sensibilidade de meios de cultura padrões, controlar a potência de substâncias antimicrobianas e a estabilidade na obtenção de produtos por processos fermentativos. Para todas as cepas pesquisadas, mesmo naquelas apresentando contagens de células de  $5,0 \times 10^1$  UFC/0,3 mL de meio liofilizado, não se verificou redução na contagem microbiana inicial.

## EFEITO DO CONGELAMENTO SOBRE A ATIVIDADE DA INVERTASE

M. Breda; M. Vitolo; M.A. Duranti e R.N.M. Pitombo

Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP - C.P. 30.786 -05508  
São Paulo, SP.

Avaliaram-se os efeitos do congelamento/descongelamento sobre a atividade da invertase (E.C.3.2.1.26) dissolvida em tampões, variando-se os parâmetros: a) pH (4,0 a 9,0); b) natureza do tampão; c) tipo do congelamento: ultra-rápido (CUR; N<sub>2</sub> líquido); rápido (CR; tempo de solidificação ( $t_s$ ) = 3 seg); menos rápido (CMR;  $t_s$  = 60 min) e lento (CL;  $t_s$  = 140 min). Em frascos de vidro eram colocados 5 mL da solução tamponada de invertase e o congelamento monitorado com pirômetro ENGRO (mod. 800/TC). A atividade invertásica ( $v$ ), expressa em gART/mL.min, foi medida frente à sacarose (100 g/L) e os açúcares redutores avaliados pelo método de Somogyi.

Notou-se que  $v$  diminuiu frente aos parâmetros estudados, sendo menos acentuado no CUR e mais intenso em pH acima de 7,0 e nos tampões succinato e acetato. Tal fato resultaria da compartimentalização do sistema durante o congelamento, levando à formação de gradientes de concentração no seio do sistema. Diferenças nos valores de  $K_M$  e  $V_{m\acute{a}x}$  antes (12 mM e 1,3 gART/mL.min) e após (5 mM e 0,5 gART/mL.min) o congelamento, evidenciariam modificações estruturais na macromolécula protéica.

LIOFILIZAÇÃO DE STREPTOMYCES AUREOFACIENS SOB A FORMA DE CÉLULAS VEGETATIVAS

M.P.H. Amaral; A.M. Fuentes; T.C. Vessoni Penna e A.J. Colombo

Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP. C.P. 30.786  
CEP 01051 São Paulo, SP.

Avaliou-se a liofilização com leite desnatado como crioprotetor como processo de preservação do título da cultura de células vegetativas de Streptomyces aureofaciens, cepa mutante ATCC 10762 e cepa selvagem M 3031 - VFPe. O título inicial da cultura antes da liofilização foi para a cepa mutante de  $6,33 \times 10^7$  UFC/mL e para a cepa selvagem de  $2,30 \times 10^7$  UFC/mL. O congelamento, realizado em duas etapas: à temperatura de  $-30^{\circ}\text{C}$  durante 5 minutos, em seguida à temperatura de  $-180^{\circ}\text{C}$  durante outros 5 minutos, e, a liofilização à temperatura de produto de  $-20^{\circ}\text{C}$ , não alteraram o título inicial das culturas. Na conservação por liofilização à temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$ , após 20 meses de estocagem, os títulos baixaram  $2,5 \log_{10}$  para a cepa mutante e  $7,0 \log_{10}$  para a cepa selvagem.

ESTUDO DA TERMOESTABILIDADE DE BACTÉRIAS LIOFILIZADAS, UTILIZADAS COMO CEPAS DE REFERÊNCIA EM DIFERENTES TEMPERATURAS.

A.E.C.Cardoso de Almeida, I. de Filippis, B.E.Soares & E.G.Sanches

Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Laboratório de Substâncias Biológicas de Referência e Coleção de Culturas - Rio de Janeiro - RJ.

**OBJETIVO:** O estudo pretende verificar possíveis alterações em bactérias de referência liofilizadas após exposições prolongadas a diferentes temperaturas, exteriorizadas por testes bioquímicos, produção de enzimas e tipagem sorológica quando possível. Outro objetivo deste trabalho é observar a curva de morte das cepas analisadas, após exposição a temperaturas elevadas, mediante contagem de unidades viáveis.

**MATERIAL E MÉTODOS:** Foram testados 6 (seis) microrganismos quanto à termoestabilidade após liofilização. Estes microrganismos fazem parte da Coleção de Culturas do INCQS, sendo utilizados em ensaios oficiais de saneantes, antibióticos e outros. Os microrganismos utilizados foram: S.choleraesuis ATCC 10708, S.marcescens ATCC 14756, L.leichmannii ATCC 7830, S.aureus ATCC 25923, E.coli ATCC 25922 e M.luteus ATCC 9341. As cepas foram liofilizadas e expostas as seguintes temperaturas durante os seguintes períodos de tempo: -20°C, +5°C, +25°C, +37°C e +45°C, por 1, 7, 14, 30, 60 e 120 dias para cada temperatura de exposição. Após a liofilização 10% das ampolas liofilizadas (do mesmo lote), eram testadas quanto ao número de unidades viáveis e testes bioquímicos e sorológicos; após a exposição às temperaturas indicadas pelos respectivos períodos de tempo, as cepas eram então submetidas aos mesmos testes comparando-se os resultados obtidos antes e depois da exposição.

**RESULTADOS:** Todas as cepas testadas com exceção do L.leichmannii, apresentaram pouca diferença entre o número de unidades viáveis encontrado antes da exposição e após a maior exposição na temperatura mais elevada (120 dias a +45°C). As características bioquímicas, a produção de enzimas e as características sorológicas, também não sofreram mudanças após a exposição.

**CONCLUSÕES:** Os resultados obtidos demonstram que a liofilização além de ser um processo protetor bastante eficaz, pois mantém a viabilidade dos microrganismos após exposição a temperaturas críticas, também preserva a integridade fisiológica da cepa não tendo sido observadas alterações bioquímicas ou sorológicas após os testes na maioria das cepas testadas, pois somente o L.leichmannii apresentou baixa viabilidade a partir de +25°C.

AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE PRESERVAÇÃO PARA BACTÉRIAS ANAERÓBIAS ESTRITAS.

C.P. Costa; M. Uzeda & M. C. Ferreira

Departamento de Microbiologia Médica do Instituto de Microbiologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Baseado na importância da preservação de microrganismos, seja com fins científicos, industriais e/ou educacionais nos procuramos a avaliar a viabilidade dos microrganismos anaeróbios estritos - Clostridium perfringens (durante 6 meses), C.difficile (6 meses), Bacteroides fragilis (6 meses), Bacteroides pigmentado (2 meses), Fusobacterium sp (1 mês) e Peptococcus (2 meses) em relação aos métodos de liofilização, congelamento e sub-cultura.

Comportamentos variáveis nas diferentes técnicas foram obtidos. Assim, o método de congelamento, excetuando-se para o Bacteroides pigmentado e o Fusobacterium sp, manteve o número de viáveis constante no tempo "zero" (reativação imediatamente logo após o método), porém apresentou decréscimo desse número ao longo da estocagem. A liofilização, ao contrário, induziu a perda de no mínimo 1 log no tempo zero e manteve constante o número de viáveis durante a estocagem, excetuando-se para o Bacteroides pigmentado, Fusobacterium sp e Peptococcus sp.

A viabilidade das bactérias esporuladas no método de sub-cultura permaneceu constante ao longo dos 6 meses de estocagem. Por outro lado, houve perda total do Bacteroides pigmentado. Quanto B.fragilis e Peptococcus sp, ambos apresentaram perda da viabilidade ao longo dos 6 e 2 meses de estocagem, respectivamente.

Órgão Financiador: FINEP

PRESERVAÇÃO DE CULTURAS DE *THIOBACILLUS FERROOXIDANS*<sup>1</sup>

POLONI, C.R.A. &amp; GARCIA Jr., D.

DEPTO. DE BIOQUÍMICA, INSTITUTO DE QUÍMICA, UNESP - ARARQUARA - SP

*Thiobacillus ferrooxidans* é uma bactéria quimioautotrófica que obtém energia para seu crescimento, da oxidação de substratos inorgânicos como sulfetos metálicos e  $Fe^{2+}$ . Desse metabolismo resulta a solubilização de metais contidos nos sulfetos, fenômeno este que é utilizado industrialmente para recuperação de cobre e urânio e que é conhecido como lixiviação bacteriana ou, genericamente de biometalurgia. Em função de sua potencialidade biotecnológica, nota-se um crescente interesse em se estudar a fisiologia, bioquímica e mais recentemente, a genética dessa bactéria. Entretanto, pouco se sabe dos métodos eficientes para preservar isolados de *T. ferrooxidans*. Pela literatura, normalmente preserva-se culturas da espécie por repiques periódicos (semanais ou mensais) em meio líquido, prática essa que além de laboriosa, provoca um aumento nos riscos de contaminação com outras linhagens ou mesmo em perdas de características genéticas.

Em nosso laboratório, estão sendo testados vários métodos de preservar por longos períodos, várias linhagens de *T. ferrooxidans* isoladas de diferentes minas do Brasil. Os procedimentos em fase de testes são: cultura crescida mantida no ambiente e em refrigeração  $4^{\circ}C$ ; suspensão celular lavada em refrigeração e congelada em glicerol e óleo mineral; suspensão celular lavada em sílica gel; tubo com meio sólido agarose- $Fe^{2+}$  inclinado, com e sem óleo mineral; suspensão celular lavada liofilizada. Após cerca de 6 meses de testes (1 teste de viabilidade mensal), notou-se a inviabilização da cultura quando congelada, independente do método de preservar, e em sílica gel. Uma boa viabilidade da cultura está sendo conseguida com suspensão celular lavada em refrigeração com e sem óleo mineral (com glicerol não houve viabilidade), em agarose- $Fe^{2+}$  inclinado, com e sem óleo mineral e liofilizada.

1. Apoio CNPq - PIG V

## ESTOCAGEM DE BACTÉRIAS ANAERÓBIAS.

V. P. ROMANO e C.A. JÜRGENSEN

Laboratório de Bactérias Anaeróbias do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFF. Niterói. RJ.

Este estudo é parte de um projeto que visa analisar um dos grandes problemas da bacteriologia de anaeróbios - a manutenção da viabilidade das culturas.

Foram selecionados três gêneros (*Bacteroides*, *Fusobacterium* e *Propionibacterium*) para controle da viabilidade. Como meio de estoque usou-se o caldo GC com redutores, o meio para transporte de Cary-Blair (VPI) com 0,2% de agar, e leite em pó integral a 10%, distribuindo-se 2ml em frasco-ampola com capacidade de 10ml, sendo acrescido aos dois primeiros meios 20% de glicerol, como crioprotetor. A esterilização foi feita em vapor fluente por 40 min. Partindo-se de uma cultura em placa com Agar-Sangue, incubada em anaerobiose, em início de fase estacionária, foi feito um raspado que foi disperso no meio de estoque até MacFarland 3. Os meios foram, em seguida, estocados a  $-18^{\circ}\text{C}/-20^{\circ}\text{C}$ .

O controle da viabilidade foi feito de 15/15 dias por repique em Tioglicolato suplementado. A pureza foi controlada por bacterioscopia. Nas condições do experimento todas as amostras permaneceram viáveis por 150 dias. A visualização do crescimento dos repiques e sua bacterioscopia sugerem que o número de viáveis no leite integral é maior do que nos outros meios usados.

## CONSERVAÇÃO DE FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS A BAIXAS TEMPERATURAS.

S.C.de M.LEAL; I. MARTINS & E.A;de LUNA-ALVES LIMA\*

EMBRAPA/CENARGEN E BIOTEC. Lab. CONTROLE BIOLÓGICO  
Caixa Postal,102372 - 70770 - Brasília-DF.

\*Dept<sup>o</sup>.de MICOLOGIA/UFPE.Av.Prof. Arthur de Sá, S/N.  
50.000 - Recife-PE.

As pesquisas com fungos exigem a manutenção de uma coleção de referência com a finalidade de preservação do germoplasma fúngico. No Brasil, essa carência gera dependência de Instituições Internacionais, acarretando altos custos na aquisição de cepas, que as vezes não são adequadas ao nosso clima e condições ecológicas. Desse modo, a obtenção, conservação e manutenção de linhagens fúngicas entomopatogênicas, com alto poder de viabilidade é o objetivo desse trabalho.

Foi implantado um sistema de preservação, baseado nas técnicas de transferência frequente, N<sub>2</sub> líquido, sílica gel, água destilada, óleo mineral e liófilização (estas duas últimas em colaboração com o Dept<sup>o</sup>.de MICOLOGIA da UFPE). Estas técnicas estão sendo avaliadas dentro dos períodos de 1, 3, 5 e 10 anos. Os resultados preliminares com Metarhizium anisopliae e Beauveria bassiana armazenados em N<sub>2</sub> líquido, durante o período de 1 e 3 anos (1985/1988) mostraram-se promissores, permitindo 87% de viabilidade em 26 linhagens de B.bassiana e 10 de M.anisopliae. Todas linhagens são caracterizadas quanto aos aspectos citológicos e bioquímicos. a fim de se detectar alterações morfológicas e fisiológicas durante o período de conservação.

Os estudos ainda não permitem uma avaliação entre as técnicas empregadas e maiores informações serão dadas posteriormente, de conformidade com os períodos prestabelecidos.

VIABILIDADE DA CONSERVAÇÃO DE ESPOROS DE ASPERGILLUS  
EM SOLUÇÃO TAMPÃO-ANTICONGELANTE.

M.V.ANDRADE\*/\*\*; J.L.S.CARVALHO\*\*; A.C.ESTEVES\*.

\*UNIVERSIDADE SANTA ÚRSULA; \*\*INSTITUTO OSWALDO CRUZ.

O presente trabalho está baseado nos resultados encontrados no armazenamento de esporos de fungos em estado latente em meio tampão-anticongelante a uma temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Foram utilizados 3 espécies de Aspergillus: clavatus, flavus e niger, de cada uma foi preparada uma suspensão de esporos de aproximadamente 120/ml para serem inoculados em tubos contendo a solução tampão.

A validade de conservação dos esporos foi verificada num período total de 360 dias, sendo as contagens realizadas num intervalo de 30 em 30 dias. Os resultados foram expressos, em valores percentuais, tendo como referência o inóculo inicial.

Foram preparados um total de 36 tubos de ensaio contendo 10 ml de solução anti-congelante para cada espécie de Aspergillus e colocados em congelador onde a temperatura variou de  $-22^{\circ}\text{C}$  (mínima) e  $-19^{\circ}\text{C}$  (máxima).

A solução tampão-anticongelante é composta de tampão fosfato (Sorensen) de  $\text{pH} = 7,0$  e 50% de glicerina (P.A.) para a solução final.

Para determinar a viabilidade dos esporos, foram feitos inóculos em triplicatas para cada espécie em placas de Petri em meio Sabouroud posteriormente incubadas a uma temperatura de  $25^{\circ}\text{C}$  e procedida a contagem.

A vantagem do método apresentado é sua praticabilidade em relação aos métodos clássicos e a dispensa de investimentos, altamente onerosos dos métodos modernos.

AVALIAÇÃO DA 8-METOXIPSORALEINA ASSOCIADA À LUZ UV LONGA NO MELHORAMENTO GENÉTICO DE LEVEDURAS

M.L.H.Andrade, J.C.Silva e J.P.Siqueira Júnior

Departamento de Biologia Molecular/CCEN, Universidade Federal da Paraíba, 58059 João Pessoa, Pb

Ciclos de mutação recorrente e seleção tem sido empregados com sucesso no melhoramento de microrganismos de interesse econômico. O objetivo do presente estudo é a valiar a 8-metoxipsoraleina associada à luz UV longa (8MOP-UVL), como mutagênico, para a seleção de leveduras com produção aumentada de biomassa.

Um programa de seleção foi iniciado com a linhagem haplóide X2180.1B de S.cerevisiae (IGen/ESALQ/USP), quando 50 colônias isoladas, escolhidas ao acaso, foram en saiadas após repique e cultivo em meio líquido, sendo selecionada a que apresentava maior produção de biomassa (peso seco). Nos ciclos subsequentes, após tratamen to mutagênico, 50 colônias sobreviventes são também en saiadas. A concentração de 8MOP é de 0,115 mM e a dose de UVL é de 1800 J/m<sup>2</sup>, o que permite uma sobrevivência de 25-30%.

Os resultados até agora obtidos são bastante promissores, mostrando um ganho na produção de biomassa já no primeiro ciclo em que se emprega o mutagênico, indican do a eficiência da 8MOP-UVL. (CNPq, UFPb)

FOTOSSENSIBILIZAÇÃO PELA 8-METOXIPSORALEINA EM  
*Staphylococcus aureus*

S.M.F.Cavalcanti, A.V.Cavalcante e J.P.Siqueira Júnior  
Departamento de Biologia Molecular/CCEN, Universidade  
Federal da Paraíba, 58059 João Pessoa, Pb

A 8-metoxipsoraleina associada à luz UV longa causa, em bactérias, vários efeitos biológicos como letalidade, mutação, indução e cura de profago e cura de plasmídeo. A referida droga, após intercalação, fotorreage com pirimidinas do DNA levando a formação de monoadições e pontes. Se após uma irradiação inicial, suficiente para a formação de monoadições, a droga for removida (por centrifugação), doses adicionais de UVL acarretarão a formação somente de pontes.

Linhagens de S.aureus foram submetidas ao tratamento por 8MOP-UVL pela referida técnica de irradiação repetida (8MOP: 0,115 mM; UVL: 25 W/m<sup>2</sup>). Os dados de sobrevivência quando lançados em gráfico em função da dose, revelaram uma curva típica, já descrita para outros sistemas microbianos, indicando que, também em S.aureus, o envolvimento das pontes em efeitos biológicos causados por 8MOP-UVL, pode ser devidamente avaliado. (CNPq, UFPb)

ESTUDOS DOS EFEITOS DA LUZ ULTRA-VIOLETA NA RECOMBINAÇÃO, DURANTE O CICLO CELULAR, E SOBRE A HAPLOIDIZAÇÃO EM LINHAGENS DIPLÓIDES DE *Aspergillus nidulans*.

L.T.A. PIRES e T.A.D. ZUCCHI

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (pós-graduada) e Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (Pro-fessoara Associada). Projeto financiado pela CAPES e CNPq.

Tratamos linhagens diplóides de *Aspergillus nidulans* com várias doses de luz UV, em várias fases do ciclo de vida, numa tentativa de detectarmos uma fase mais sensível a esse agente.

Observamos que as fases de replicação do DNA e de síntese proteica são mais sensíveis à UV, onde constatamos um incremento nas taxas recombinacionais.

Testando baixas doses de UV como agente haploidizante, observamos que ela é um bom agente haploidizante, mas altera completamente as frequências de recombinação mitótica, resultando em haplóides não parentais numa taxa inesperadamente alta.

Esse efeito foi observado menos intensamente numa linhagem mutante, a qual é sensível à luz UV. Lançamos, então, a hipótese de que a sensibilidade à UV e a incapacidade de atingir altas taxas recombinacionais podem ser devido à ausência de um mesmo fator, participante, ao mesmo tempo, do reparo de danos induzidos pela UV, e dos processos recombinacionais indutíveis.

GENES EM *Aspergillus nidulans* QUE AFETAM O PAREAMENTO CROMOSSÔMICO DURANTE O CICLO SEXUAL.

R. FREITAS e J.M. MARIN

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (pós-graduanda) e Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (Professor -Doutor) - Projeto financiado pela CAPES/CNPq.

Cleistotécios formados em heterocários podem ser auto ou heterofecundados. Cleistotécios heterofecundados/podem ser facilmente identificados pelo plaqueamento / dos ascosporos e observação da segregação dos genes responsáveis pela coloração dos conídios.

Além dos cleistotécios heterofecundados também já são descritos na literatura os cleistotécios "twinned", onde são recuperados igual número de ascosporos não-recombinantes derivados de cada parental.

A análise do cruzamento de mutantes obtidos pelo tratamento com NTC e uma linhagem master (UT 196) permitiu a obtenção de cleistotécios pseudo-autofecundados, onde verificamos entre os segregantes um elevado número de colônias apresentando a constituição genotípica da linhagem master (UT 196) e raros segregantes recombinantes, evidenciando a existência de recombinação entre os parentais.

Foi levantada a hipótese da existência de genes específicos relacionados ao controle do pareamento cromossômico.

Na literatura já existem descrições de genes deste tipo em *Neurospora crassa* relacionados a modulação da recombinação através do seu efeito no pareamento cromossômico, gene *ss* (synaptic sequence).

RNase NOS MUTANTES CRISP DE *Neurospora crassa*.

H. Terenzi<sup>\*</sup>, H.F. Terenzi, J. A. Jorge

Dept<sup>o</sup> Biologia, FFCLRP. USP.; (\*) Dept<sup>o</sup> Bioquímica, FMRP.-USP., Ribeirão Preto, S.P.

Os mutantes Crisp de *N. crassa* são em número de três e denominados **cr-1**, **cr-2**, **cr-3**. Todos apresentam morfologia microconidial e apenas o **cr-1** tem baixos níveis de atividade da enzima adenilato ciclase e conseqüentemente baixo nível de AMP-cíclico. Dessa forma estes mutantes são um modelo excelente para distinguir entre defeitos morfológicos e defeitos relacionados ao baixo nível de AMPc.

Estudamos a indução e secreção de RNase nestes três mutantes **crisp** de *Neurospora*. Quanto à indução, todos os mutantes apresentaram uma resposta mais lenta ao jejum de fosfato, nitrogênio ou carbono. Após 6 horas de reincubação em meio de indução os mutantes produziram apenas 20% da atividade enzimática quando comparados com a linhagem selvagem. As formas moleculares de RNase secretadas pelos mutantes sob jejum de fosfato são de pesos moleculares menores que as produzidas pela linhagem selvagem. A análise cromatográfica sugerem que o defeito pode estar relacionado com os processos de secreção da atividade de RNase.

Os dados obtidos permitem concluir que a deficiência na produção e exportação da RNase na linhagem **cr-1** está relacionada estritamente com a morfologia **crisp**.

Apoio financeiro : FAPESP e CNPq

ISOLAMENTO DE FORMAS FENOTÍPICAS INTERMEDIÁRIAS DO MUTANTE "SLIME" DE *Neurospora crassa* EXIBINDO DIMORFISMO HIFA-ESFEROPLASTO DETERMINADO PELA OSMOLARIDADE DO MEIO DE CULTURA.

R.C.L.R. Pietro<sup>\*</sup>, J.A. Jorge e H. F. Terenzi

Deptº de Biologia, FFCLRP.-USP.; (\*)Deptº de Bioquímica, FMRP.-USP.; Ribeirão Preto, S.P.

O fenótipo *slime* de *N. crassa* é geneticamente determinado por tres elementos nucleares : **fz** (fuzzy) ; **sg** (spontaneous germination) e **os-1** (osmotic). Contudo, a deficiência da parede celular do "*slime*" não é herdada diretamente, mas requer um processo longo de seleção vegetativa nos segregantes **fz**, **sg**, **os-1** ("*slime-like*"), os quais formam inicialmente micélio. A regulação de enzimas catabólicas foi normal nas formas miceliais do "*slime*". Em contraste, a forma "*slime*" estável (s) mostrou anomalias já descritas para outras linhagens "*slime*". Uma forma intermediária (I) mostrou características de linhagem selvagem para algumas enzimas catabólicas (beta-glicosidases) e defeitos "*slime*" para outras (fosfatase alcalina e invertase).

Apoio : CAPES, FAPESP, FINEP/PADCT

EVIDÊNCIAS GENÉTICAS MOSTRANDO A REGULAÇÃO ANÔMALA DE ENZIMAS CATABÓLICAS COMO RESULTADO DIRETO DA PERDA DA PAREDE CELULAR NO MUTANTE "SLIME" DE *Neurospora crassa*.

R. C. L. R. Pietro<sup>\*</sup>, J. A. Jorge, H. F. Terenzi

Deptº de Biologia, FFCLRP. -USP.; (\*)Deptº de Bioquímica, FMRP.-USP.; Ribeirão Preto, S.P.

O mutante sem parede "slime" de *Neurospora crassa* mostrou ser pleiotropicamente alterado na produção e secreção de várias enzimas relacionadas ao catabolismo de carbono, incluindo invertase, protease alcalina, aril-beta-glicosidase e celobiase. Invertase e protease foram produzidas constitutivamente. As duas beta-glicosidases requerem indução por celobiose mas foram pouco sensíveis à repressão por glicose. Exoenzimas foram liberadas em maiores quantidades pelo mutante "slime" do que pela linhagem selvagem. Um estudo de recombinantes de cruzamento de heterocario contendo "slime" e linhagem selvagem sugerem que as anomalias observadas foram inerentes ao fenótipo "slime".

Apoio : CAPES, FAPESP, FINEP/PADCT.

INDUÇÃO EM BLOCO DE ENZIMAS CELULOLÍTICAS E XILANOLÍTICAS POR IN-  
DUTORES DE NATUREZA CELULÓSICA E HEMICELULÓSICA  
EM UM FUNGO ISOLADO NA NATUREZA

I.C., da Silva e R.A., Prade

Centro de Biotecnologia e Química-FTI-Lorena/SP.

**OBJETIVOS:** Determinar as propriedades fisiológicas da indução das enzimas do complexo celulolítico e xilanolítico de um fungo isolado da natureza, frente a presença de indutores celulósicos e hemicelulósicos.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** Esporos do fungo denominado FC-2, foram inoculados em meio contendo glicose (2,0%), sais de Vogel (2,0% v/v) e extrato de levedura (0,25%). Após 48 hrs de incubação a 30°C e 150 rpm, os micélios foram lavados com água estéril e ressuspensos em meios de indução que continham sais de Vogel e diferentes combinações de indutores. Após reincubação determinou-se as atividades enzimáticas sobre carboximetilcelulose, avicel, papel de filtro e xilana pelo método de DNS.

**RESULTADOS:** O fungo FC-2 induz a síntese de um conjunto de enzimas, ativas sobre diferentes substratos tanto celulósicos como hemicelulósicos. Quando micélios são submetidos a estímulos indutivos com diferentes tipos de celuloses, sempre se detectou a atividade celulásica e xilanásica. O mesmo foi observado quando o estímulo indutivo foi de natureza hemicelulósica. Os micélios também induzem enzimas com atividade xilanolítica quando se adiciona como indutor a xilose. Neste caso no entanto não se detectou a indução de enzimas celulolíticas. Estes resultados sugerem um mecanismo de indução em bloco de enzimas celulolíticas e xilanolíticas independente da natureza específica no indutor polimérico.

PRODUÇÃO E PURIFICAÇÃO DA GLUCOAMILASE DE *Humicola*  
*grisea* var. *thermoidea*.

L.R.O. Tosi, H.F. Terenzi, J.A. Jorge

Deptº de Biologia, FFCLRP.-USP.; Deptº de Bioquímica  
FMRP. - USP. Ribeirão Preto, S.P.

O fungo de solo *Humicola grisea* var. *thermoidea* apresenta altos níveis de atividade amilolítica extracelular quando crescido em meio líquido suplementado com amido ou maltose. A produção da atividade extracelular é reprimida pela presença de glicose ao passo que a atividade associada ao micélio não é alterada pela presença de glicose ou pela variação da fonte de carbono suplementar ao meio de cultura. A enzima responsável pela atividade amilolítica foi isolada a partir do filtrado de meio de cultivos não agitados por um procedimento de purificação envolvendo precipitação por acetona, cromatografia em DEAE-celulose e CM-celulose. A amostra obtida mostrou-se homogênea em eletroforese em gel de poliacrilamida 7.5% e pH 4,5.

A enzima purificada exibiu um ótimo de pH de 5,0 e 55°C respectivamente. Um valor de peso molecular aparente de 64.000 foi estimado por SDS-PAGE e por filtração em Bio-Gel P-100. A enzima apresentou atividade sobre amido, maltose e p-NP- $\alpha$ -D-glicosídeo, porém uma maior eficiência catalítica foi observada na ação da enzima sobre amido. A ação da enzima sobre outros glucanos foi analisada por cromatografia em papel; glicose foi o único produto de hidrólise detectado. Pela análise destes resultados, verificou-se que a enzima produzida por *H. grisea* deve ser classificada como uma glucoamilase (EC. 3.2.1.3.). Esta classificação é corroborada pelo fato da porção NH<sub>2</sub>-terminal da enzima, já sequenciada, apresentar 60% de homologia com a sequência NH<sub>2</sub>-terminal da glucoamilase de *Neurospora crassa* (Comunicação pessoal, Alan Radford, Department of Genetics - Leeds University).

Apoio financeiro - FAPESP, FINEP e CNPq

CARACTERIZAÇÃO POSTERIOR DE UMA XILANASE ISOLADA DE  
*Humicola grisea var thermoidea* RP. 17.

R. Monti<sup>\*</sup>, H.F. Terenzi e J. A. Jorge

(\*)Deptº de Bioquímica, Inst. Química - UNESP - Araraquara, SP.; Deptº de Biologia, FFCLRP.-USP.

$\beta$ - 1,4-xilanos são polissacarídeos heterogêneos encontrados na maioria das plantas e sua hidrólise enzimática é de muito interesse em áreas fundamentais da microbiologia. O objetivo do presente trabalho foi o de estudar o sistema xilanolítico do fungo termófilo *Humicola grisea var. thermoidea*. As condições de cultura que afetam a produção do sistema xilanolítico foram determinadas e uma xilanase foi parcialmente purificada. Posteriormente, verificamos que o *Humicola* também produz uma outra xilanase extracelular, denominada Xilanase II, quando cresce em meio contendo xilano como fonte de carbono. A xilanase II foi purificada por cromatografia em DEAE-celulose e filtração em Sephadex G-200. O Km obtido, usando xilano extraído de Larchwood (Sigma) foi de 3,62 mg/ml e Vmax foi de 228.695 U/ mg prot. A pureza desta enzima foi demonstrada por eletroforese em poliacrilamida (SDS-PAGE). Por meio desta mesma técnica, determinou-se um PM de 24.000 Da., sendo que por filtração em Bio Gel P-60 o PM encontrado foi de 21.500 Da. A enzima mostrou-se estável entre os pH 4,0 a 6,0 com atividade ótima em pH 5,5. A temperatura ótima de hidrólise do xilano foi de 70°C, mostrando ser uma enzima altamente term estável e específica para o xilano. A atividade da xilanase II foi ativada em 25% por cloreto de manganês ou cloreto de cobalto. A análise do produto da reação catalizada por xilanase II em cromatografia de camada delgada em sílica gel, revelou a presença de xilobiose, xilotriose e xilopentose e ausência de xilose. Tais resultados, permite-nos classificar a xilanase II como uma endo-xilanase.

Apoio financeiro : CAPES/CNPq/FAPESP/FINEP(PADCT).

INFLUÊNCIA DA L-SORBOSE NA TAXA DE ASSIMILAÇÃO DE  
CELOBIOSE E NA PRODUÇÃO DE BETA-GLICOSIDASES EM  
*Humicola grisea var thermoidea* RP-17.

R.M.Peralta<sup>\*</sup>, H.F. Terenzi e J. A. Jorge

Deptº Biologia, FFCLRP.-USP.; (\*)Deptº de Bioquímica  
FMRP.-USP., Ribeirão Preto, SP.

Estudos prévios realizados em nosso laboratório mostraram que a presença de L-sorbose em combinação com celobiose no meio de cultivo de *Humicola* aumenta significativamente os níveis de B-glicosidases (B-glicosidase e B-galactosidase) extracelulares (Arq. Biol. Tecnol. 31: 210, 1988). Observamos também, que a presença de sorbose aumenta a fase lag e altera a morfologia do *Humicola*. Sahoo, et al. (J.Gen.Microbiol. 132: 27, 1986) mostraram que a L-sorbose aumentava os níveis de uma endoglucanase de *Trichoderma*, devido a uma diminuição do consumo interno da glicose ou diminuição da velocidade de assimilação de celobiose.

O objetivo do presente estudo foi o de verificar se a sorbose poderia estar atuando, no *Humicola*, através da diminuição da taxa de assimilação de celobiose. Para tal, realizamos experimentos contendo a sorbose e fontes de carbono indutoras da atividade de B-glicosidases (celobiose e lactose) e fonte repressora (glicose). Os resultados obtidos mostram que a presença de sorbose aumenta de cerca de 3 vezes o tempo de consumo da glicose ou celobiose no meio de crescimento de *Humicola*. Para a lactose o efeito é mais acentuado ainda, necessitando de até 96 horas de crescimento para o consumo de apenas 50% do dissacarídeo. Os resultados obtidos permite-nos concluir que a sorbose quando em combinação com a celobiose impede a rápida utilização do dissacarídeo e possibilita, dessa forma, um processo de indução de B-glicosidases gradativo, mas contínuo no *Humicola*.

Apoio Financeiro: FAPESP/CNPq/ FINEP-PADCT.

Metabolismo de lactose e galactose durante o crescimento de K.fragilis

Bacci Jr. M.; Caldas, F.T.P.; Ueta, J;

Lactose e galactose em K.lactis têm o metabolismo envolvido com pelo menos 7 genes, dois dos quais codificam para uma permease (LAC12) e para B-galactosidase (LAC4); e outros três genes, GAL-1, -7 e -10 codificam respectivamente para as enzimas quinase, undil-transferase e epimerase que metaboliza a galactose, resultante da clivagem da lactose pela B-galactosidase, até glicose-1 fosfato. A regulação da transcrição destes 5 genes estruturais e feita pelos genes LAC 9 (modulador positivo) e LAC 10 (modulador negativo) e tanto lactose como galactose são indutores deste sistema, denominado " regulon " galactose-lactose.

Como parte de um trabalho de otimização de bio-conversão de açúcares, o comportamento de Kluyveromyces fragilis frente as fontes de carbono lactose, galactose e glicose é estudado com base nos fenômenos de crescimento celular, atividade B-galactosidase e consumo de açúcares.

Os resultados obtidos mostram que: 1) Glicose é preferencial em relação a lactose ou em relação a galactose; 2) Lactose é preferencial em relação a galactose; 3) Células previamente crescidas em galactose não crescem nas primeiras horas de incubação em lactose, mesmo em presença de glicose; 4) Esta inibição é proporcional a concentração de lactose e dependente do pH do meio de incubação.

Financiado pela FIPEC e FAPESP.

## CONTROLE DA ATIVIDADE E SÍNTESE DE $\beta$ -XILANASE DE PENICILLIUM JANTHINELLUM NA PRESENÇA DE XILOSE OU XILANA

A.M.F., Milagres; I.M., Mancilha; R.A., Prade

Centro de Biotecnologia e Química-FTI Lorena/SP. / Universidade Federal de Viçosa/MG.

**OBJETIVO:** Verificar o efeito da xilose no controle de atividade  $\beta$ -xilanas extracelular de *P. janthinellum*.

**MATERIAL E MÉTODOS:** *P. janthinellum* foi cultivado em meio contendo solução mineral de Vogel (2% v/v), extrato de levedura (0,25%) e glicose (2%) ou xilose (2%), por 48h a 30°C e 150 rpm. Os micélios obtidos foram lavados, transferidos para meio mineral de Vogel (2% v/v) contendo a fonte de carbono indutora por 24h a 30°C e 150 rpm. A atividade de  $\beta$ -xilanas foi determinada pela produção de açúcares redutores a partir de xilana utilizando o método de DNS (MILLER, 1959).

**RESULTADOS E CONCLUSÕES:** A  $\beta$ -xilanas tem sido estudada pela sua capacidade de hidrolisar xilana, polissacarídeo encontrado em abundância na biomassa vegetal. O fungo *P. janthinellum* sintetiza  $\beta$ -xilanas em meio contendo xilana ou xilose, porém em níveis diferentes. Observou-se que a indução da enzima por xilana foi afetada pela fonte de carbono em que o fungo foi previamente cultivado. Quando *P. janthinellum* foi crescido em xilose induziu menores atividades de  $\beta$ -xilanas, independente se a fonte indutora foi xilose ou xilana. Micélios pré-cultivados em xilose secretaram 19,59 U/ml de  $\beta$ -xilanas com adição de 10,0 mg/ml de xilana ou 3,67 U/ml com 30,0 mg/ml de xilose. Quando pré-cultivados em glicose induziram 39,58 U/ml com 10 mg/ml de xilana e 7,75 U/ml com 20 mg/ml de xilose. Verificou-se ainda que os micélios de *P. janthinellum* pré-crescidos em xilose são mais sensíveis aos sinais externos de indução, sendo necessários 0,87 mg/ml de xilana e 2,06 mg/ml de xilose para atingir a metade da atividade máxima da enzima. Correspondentes valores de 3,07 mg/ml de xilana e 10,11 mg/ml de xilose foram obtidos quando o fungo foi pré-cultivado em glicose. A indução da enzima por xilose não foi observada na presença de xilana, ao contrário observou-se uma forte repressão, o que mostra o duplo efeito da xilose na síntese de  $\beta$ -xilanas.

A PARTICIPAÇÃO DA PAREDE CELULAR DE *Neurospora crassa*  
NA INDUÇÃO DE ENZIMAS QUE DEGRADAM BIOMASSA.

M.L.T.M. Polizeli, R.C.L.R. Pietro, J.A. Jorge e  
H.F. Terenzi

Deptº de Biologia, FFCLRP.-USP.; Deptº de Bioquímica  
FMRP.-USP.; Ribeirão Preto, S.P.

Alguns estudos sugerem que a indução de enzimas catabólicas envolvidas na degradação de substratos complexos requer um sinal reconhecido a nível de parede celular (Kubicek, C.P. (1982). Arch. Microbiol. **132**: 349-354). Investigamos a produção de algumas enzimas que hidrolisam polissacarídeos em recombinantes isolados em nosso laboratório obtidos de um cruzamento do mutante "slime" (sem parede celular) e linhagem selvagem. Os recombinantes apresentam fenótipo micelial (forma M), fenótipo "slime" estável (forma S) e uma forma intermediária (forma I) que dependendo da concentração osmótica do meio apresenta dimorfismo Hifa-esferoplasto. Quando a forma I foi cultivada sem sorbitol (hífas morfológicamente alteradas) as exoenzimas avicelase, CM-case, xilanase, poligalacturonase e protease alcalina foram induzidas pelos respectivos substratos complexos e sofreram repressão catabólica, ao contrário do observado para a invertase. Nos esferoplastos da forma I, cultivados em meio suplementado com sorbitol, as atividades enzimáticas não foram totalmente reguladas mostrando níveis de atividade relativamente altos mesmo na presença de glicose. Estas observações sugerem que pode haver algum sítio de reconhecimento na parede celular que prepara o mecanismo de ativação das enzimas que hidrolisam polissacarídeos.

Apoio : CAPES, FAPESP, CNPq e FINEP.

## REGULAÇÃO DO SISTEMA DE METABOLIZAÇÃO DA SACAROSE EM CELULAS *Hansenula anomala* 1Z-1420 : EFEITO DO PH E FONTE DE NITROGÊNIO"

MEDEIROS, M.B. de & PRADE, R.A.

Unidade de Microbiologia e Biologia Molecular  
Centro de Biotecnologia e Química - FTI - Lorena - SP

OBJETIVO: Avaliar o efeito do íons nitrato e amônia, como fonte de nitrogênio, na assimilação da sacarose durante o crescimento celular da levedura *H.anomala* 1Z-420.

MATERIAL E MÉTODOS: Os cultivos foram conduzidos em frascos erlenmeyer com 50 ml de meio de Wicherham modificado com sacarose a 10,0 g/l e nitrogênio na concentração 50 mM, em shaker a 30°C e agitação de 160 rpm. A sacarose após hidrólise foi quantificada pelo cálculo estequiométrico da glicose formada e esta dosada pelo método glicose oxidase-peroxidase. Uma unidade invertásica específica foi definida como sendo a quantidade de enzima capaz de liberar 1 umol de glicose/min<sup>-1</sup>/mg de proteína<sup>-1</sup>.

RESULTADOS E CONCLUSÕES: A levedura *Hansenula anomala* 1Z-1420 , assimila e promove o crescimento celular quando cultivada em meio com sacarose combinado com íons de nitrato ou amônia como fonte de nitrogênio. Em sistema não tamponado, o mecanismo de captação da sacarose varia em função da fonte de nitrogênio. Células propagadas em meio com sulfato de amônia, a assimilação da sacarose e produção de massa celular de  $Y_{x/s}=0,38$ , aparentemente, ocorre em consequência da sacarificação química desse dissacarídeo. Observa-se uma drástica acidificação no meio de cultura e níveis limitantes de invertase na célula. Em cultivo com nitrato de potássio, o sistema de captação da sacarose se processa, exclusivamente, pela via enzimática, uma vez que ocorre a alcalinização no meio de cultura com elevada atividade invertásica celular. Em sistemas tamponados, força iônica 0,1M, a assimilação e metabolização da sacarose somente foi detectada para faixa de pH superior a 5,0, independente da fonte de nitrogênio. A cinética de crescimento e da atividade invertásica, em função do pH, foram semelhantes com atividade máxima em pH=7,0. Os resultados sugerem a existência de pelo menos, duas formas com funções distintas de invertase ou um sistema de regulação sensível ao pH e qualidade da fonte de nitrogênio.

OBTENÇÃO DE OLIGOSSACARÍDEOS, A PARTIR DA HIDRÓLISE ÁCIDA  
CÔNTROLADA DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR, PARA INDUÇÃO DA SÍNTE  
SE DE  $\beta$ -XILANASE POR PENICILLIUM JANTHINELLUM

A.M.F., Milagres; L.F. Calderaro; R.A., Prade

Centro de Biotecnologia e Química-FTI Lorena/SP.

OBJETIVO: Estudar o efeito de oligossacarídeos, obtidos por diferentes tratamentos com ácido sulfúrico, na indução de  $\beta$ -xilanase em *P. janthinellum*.

MATERIAL E MÉTODOS: *P. janthinellum* foi cultivado por 48h em meio contendo glicose (2%), extrato de levedura (0,25%) e solução mineral de Vogel (2% v/v). Os micélios obtidos foram lavados e transferidos para meio constituído por solução mineral de Vogel (2% v/v) e o hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar. Para obtenção de oligossacarídeos o bagaço de cana-de-açúcar foi cominuído, adicionado de  $H_2SO_4$  nas concentrações de 0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25; 0,30; 0,40; 0,50; 0,75; 1,0; 2,0 e 3,0% (v/v) e tratados por 30 min. a 1 atm. Os hidrolisados, constituídos principalmente de hemicelulose, foram neutralizados com NaOH 1,0M até pH 5,8 e analisados por cromatografia líquida (HPLC). As atividades de  $\beta$ -xilanase foram determinadas pela quantidade de açúcares redutores a partir de xilana utilizando o método de DNS (MILLER, 1959).

RESULTADOS E CONCLUSÕES: A hemicelulose presente em materiais lignocelulósicos pode ser liberada por diferentes métodos de tratamento. A utilização de ácido sulfúrico em baixas concentrações tem-se mostrado eficiente principalmente pela produção de oligômeros com diferentes pesos moleculares. Entre os hidrolisados obtidos, a atividade de  $\beta$ -xilanase foi maior quando se empregou bagaço de cana-de-açúcar tratado com 0,1% (v/v) de ácido sulfúrico. Da análise cromatográfica dos hidrolisados pode-se concluir que utilizando concentrações de ácido sulfúrico entre 0,25 e 1,0% (v/v) obtêm-se altas concentrações de oligômeros. Associadamente aparecem picos de xilose com concentrações variando de 0,77 a 2,67 g/l que desfavorecem a produção da  $\beta$ -xilanase. Foi observado a indução da enzima em concentrações variadas de hidrolisado e os resultados mostraram que a máxima atividade de  $\beta$ -xilanase foi obtida com 10 mg/l do indutor. Verificou-se ainda que para se atingir a metade da atividade de máxima de  $\beta$ -xilanase foi necessário apenas 2,66 mg/ml de indutor, o que favorece a sua indução em um substrato de menor custo como o hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar.

# O EFEITO DE DIFERENTES FONTES DE NITROGÊNIO NO CRESCIMENTO DE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*<sup>1</sup>

S.H. CRUZ<sup>2</sup> e J.R. ERNANDES<sup>3</sup>

<sup>2</sup>Instituto de Biologia, UERJ; <sup>3</sup>Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, UNESP - Araraquara, SP.

O crescimento aeróbico de *S. cerevisiae* em meio contendo extrato de levedo (1%), peptona (2%) e sacarose (2%) (YPSac) é diáuxico. Em 15h, as células de levedura transformam toda a sacarose em etanol (1,30% (v/v)) e massa celular (3,0 mg/ml). A segunda fase do crescimento inicia-se após a completa exaustão do açúcar, com o consumo total do etanol como substrato, até a produção de 8,0 mg/ml de massa celular, após 50h. Substituindo-se a peptona por casaminoácidos, a sacarose é transformada em etanol e biomassa (2,3 mg/ml), entretanto a levedura não é capaz de utilizar o etanol para crescer. O perfil de consumo de etanol modifica-se consideravelmente quando se utiliza aminoácidos (prolina, asparagina e glutamina) como fonte de nitrogênio, sendo que ocorre a exaustão do etanol, sem a total transformação em biomassa. O mesmo se observa com o meio YSac. O crescimento em meio YP é desprezível.

Utilizando um meio sintético (sais minerais e vitaminas) com sacarose 2%, observa-se apenas uma fase de crescimento com massa celular de 1,8 mg/ml, a produção de etanol e de pequena quantidade de glicérol. A suplementação deste meio com diferentes fontes de nitrogênio (0,5%) resulta no desaparecimento total do etanol e glicérol, com produção de massa celular em torno de 4,0 mg/ml. Mantendo-se constante o pH destes meios (que sofrem abaixamento de até 2,0 unidades) não se observa alterações significativas na produção de biomassa, mesmo com o desaparecimento total do etanol.

Somente no meio YPSac ocorre a transformação total da sacarose em biomassa. Com outra fonte de nitrogênio (casaminoácidos, aminoácidos e sais de amônio), o microrganismo é incapaz de utilizar etanol para a sua transformação em biomassa, possivelmente acumulando-o na forma de acetato. Estes resultados sugerem que a natureza da fonte de nitrogênio desempenha um importante papel no metabolismo de leveduras e na produção de biomassa.

1. Apoio CNPq

2. Bolsista da CNEN

TÍTULO: Influência da adição de fonte de nitrogênio no crescimento descontínuo de Bradyrhizobium japonicum.

AUTORES: J.G.C.Pradella, A.G.Pinto, M.K.Taciro, M.S.Oliveira.

INSTITUIÇÃO: IPT

OBJETIVOS: O principal objetivo do trabalho foi estudar a influência da adição de diversas fontes de nitrogênio na cinética de crescimento de Bradyrhizobium japonicum.

MATERIAL E MÉTODOS: *Microrganismo*: foi utilizada o B. japonicum 587 do MIRCEN, Porto Alegre. *Meio de Cultura*: O meio de cultura básico empregado foi o de Ballatti, adicionando-se às 28h de fermentação vários tipos de fonte de nitrogênio para estudo da sua influência na cinética do processo. *Inóculo*: foi preparado a partir do cultivo da bactéria em frascos agitados a 30°C durante 3 dias, utilizando-se concentração inicial de células da ordem de 0,200g/l na dorna. *Fermentador*: foi utilizado um fermentador New Brunswick, mod. Bioferm, com dorna de 7l de capacidade contendo 4,5l de meio de cultura, a qual foi esterilizada a 121°C durante 1 hora. As condições do processo foram: agitação 300rpm, temperatura 30°C, vazão de ar lvvm. *Metodologia Analítica*: Amostras eram retiradas periodicamente, nas quais se analisou a concentração de glicerol (titulação do meio oxidado por periodato de sódio), massa seca de células (filtração e secagem em estufa a 105°C por 8 horas), concentração de nitrogênio no caldo (Kjeldahl) e medida do pH em potenciômetro.

RESULTADOS OBTIDOS E CONCLUSÕES: O crescimento do microrganismo no meio básico apresentava duas fases exponenciais sucessivas seguida de uma fase linear com valores paramétricos de  $\mu_{\max}=0,056h^{-1}$  (1ª fase),  $\mu_{\max}=0,025h^{-1}$  (2ª fase) e  $v=0,02g/lh$  (fase linear). A adição das diversas fontes de nitrogênio testadas (2g/l de extrato de levedura, glutamato de amônio e glutamato de sódio) às 28h da fermentação aumentaram significativamente os parâmetros do processo. Nessas condições o valor de  $\mu_{\max}$  para a 2ª fase exponencial foi de  $0,036h^{-1}$  e na fase linear  $v$  atingiu valores de até  $0,06g/lh$ . Esses resultados permitiram concluir que o ácido glutâmico tem um papel fundamental na cinética de crescimento de B. japonicum.

## EMPREGO DE DIFERENTES FONTES NITROGENADAS NA PRODUÇÃO DE SPIRULINA MAXIMA

B.L.Faintuch, S.Sato, E.Aquarone

Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Universidade de São Paulo

**Introdução:** Nas últimas décadas, a possibilidade de utilização das microalgas como fonte de nutrientes para animais e humanos tem sido investigada intensamente. Dentre os organismos mais promissores pelas suas propriedades químicas e biológicas, tem-se destacado a Spirulina maxima. Todavia a produção de biomassa a partir de Spirulina é bastante dispendiosa, envolvendo sobretudo o consumo de fonte nitrogenada cara, qual seja o nitrato de potássio.

**Objetivos:** No presente trabalho verifica-se o emprego de outras fontes nitrogenadas no cultivo experimental de Spirulina, como alternativa para obtenção de custo de produção mais reduzido.

**Materiais e métodos:** Para a consecução do objetivo referido, foram pesquisadas as seguintes hipóteses de trabalho: 1) Variação das concentrações de  $KNO_3$  no meio nutriente, e resposta de crescimento da Spirulina; 2) Efeitos da substituição do  $KNO_3$  por ureia; 3) Perspectivas da substituição do  $KNO_3$  por  $NH_4 Cl$ ; Em todas estas fases contou-se com os seguintes parâmetros de controle: produção de biomassa, pH do meio, e proteínas e lipídeos totais na alga resultante.

**Resultados:** O estudo sistemático do crescimento desta cianobactéria em cinco concentrações de  $KNO_3$ , demonstrou que a redução em 61% da oferta de nitrato preconizada pela literatura, não acarretou prejuízo mensurável na produção de biomassa.

Houve dificuldade de controle da Spirulina nos meios contendo ureia em distintas concentrações, devido às modificações do pH e intolerância da cultura a teores elevados deste composto. Em proporções reduzidas de ureia, o crescimento inicialmente favorável interrompeu-se pelo esgotamento de nitrogênio no meio.

A utilização de  $NH_4 Cl$  na taxa de 0,2 g/l proporcionou resposta moderada da biomassa porém com teor particularmente elevado de proteína.

**Conclusões:** Os achados obtidos permitem a conclusão de que fontes alternativas de nitrogênio podem ser empregadas, e uma diminuição do  $KNO_3$  também é viável, sem afetar os resultados.

## EFEITO DA FONTE DE NITROGÊNIO NA FORMAÇÃO DE GOMA XANTANA

F.P. de França & R.S. de A. Alves

Departamento de Engenharia Bioquímica, Escola de Química - Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Este trabalho teve como objetivo testar a influência de diferentes fontes nitrogenadas na formação de *Xanthomonas campestris* EQ 3.

Os cultivos foram realizados em erlenmeyers de 500 ml contendo 200 ml de meio básico (20 g/l de glicose, sais minerais e 0,7 g N/l da respectiva fonte nitrogenada), agitados em shaker (80 oscilações por minuto), a 26°C e pH inicial = 7.0. Durante os experimentos acompanhou-se o teor de glicose no meio através de glicose-oxidase, determinaram-se as viscosidades inicial e final em um Brookfield Synchro-Lectric Viscometer a 25°C e 60 rpm, assim como procedeu-se a extração final da goma com etanol, seguida de filtração e posterior determinação do peso seco da mesma.

Das fontes nitrogenadas testadas, nitrato de amônio e peptona resultaram em uma maior produtividade (0,17 g/l.h) seguidas do sulfato de amônio (0,14 g/l.h) e do ácido glutâmico (0,13 g/l.h). Maiores viscosidades foram também encontradas quando utilizou-se peptona (100,76 cP) ou nitrato de amônio (90,24 cP) comparando-se com sulfato de amônio (53,13 cP) e ácido glutâmico (15,00 cP).

Não observou-se crescimento da bactéria no cultivo em que se utilizou nitrato de sódio como fonte de nitrogênio, sugerindo neste caso uma possível inibição ou ausência da enzima nitrato redutase.

Nos parece mais adequada a escolha de peptona ou de nitrato de amônio como fonte de nitrogênio, uma vez que comparadas às demais, estas reuniram dois aspectos de importância, maior produtividade e melhor qualidade da goma (viscosidade mais elevada), devendo-se no entanto observar os aspectos econômicos ligados à escolha de uma ou de outra.

Trabalho auxiliado pelo CNPq.

"INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  NA PRODUÇÃO DE XILITOL POR *Candida guilliermondii*"

M.G.A. Felipe; M.M. da Silveira; S.S.da Silva; I.C.Roberto

Centro de Biotecnologia e Química - FTI - Lorena - SP.

**OBJETIVOS:** Determinar a concentração ótima e a forma de adição de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  na conversão de xilose em xilitol, em meio suplementado com farelo de arroz.

**MATERIAL E MÉTODOS:** O inóculo foi preparado a partir de células de *Candida guilliermondii*, adaptadas ao meio de cultivo constituído de 65,0 g/l de xilose; 0,1 g/l de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 5,0 g/l de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  e suplementado com farelo de arroz. As concentrações de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  estudadas foram 0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 10,0 e 15,0 g/l. Os experimentos foram conduzidos em frascos Erlenmeyer de 125 ml, em agitador giratório a 200 rpm, à 30°C/58 h. Periodicamente amostras eram retiradas para avaliação da concentração celular por turbidimetria e determinação de xilose e xilitol por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC).

**RESULTADOS E CONCLUSÕES:** O aumento da concentração de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  de 2,0 até 6,0 g/l não influenciou na concentração celular, no consumo de xilose e na produção de xilitol após 58 h de cultivo. Portanto, 2,0 g/l é a concentração mínima de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  necessária para a produção de xilitol, quando *C.guilliermondii* é cultivada em meio contendo 65,0 g/l xilose como fonte de carbono e suplementado com farelo de arroz. Nestas condições, a produção máxima de xilitol foi de 41,4 g/l, correspondendo a um valor de  $Y_{p/s}$  de 0,78 g/g e um rendimento de 86% em relação ao valor teórico. Foi verificado também que o aumento da concentração de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  até 15,0 g/l reduziu o consumo de xilose mas os rendimentos em xilitol foram semelhantes aos encontrados quando o meio continha concentrações menores deste sal. Este comportamento pode ter sido provocado por uma inadequada relação carbono/nitrogênio. A adição parcelada de 5,0 g/l de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  nos tempos 21, 33 e 48 horas, sendo a concentração inicial 2,0 g/l, aumentou a produção e a conversão em cerca de 20%, em relação ao ensaio em que 5,0 g/l de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  foram adicionados no tempo inicial.

INFLUÊNCIA DE METAIS PESADOS NA OXIDAÇÃO DO  $Fe^{2+}$  POR *THIOBACILLUS FERROOXIDANS*<sup>1</sup>

SILVA, L.L. & GARCIA Jr., O.

DEPTO. DE BIOQUÍMICA, INSTITUTO DE QUÍMICA, UNESP - ARARAQUARA - SP

A oxidação de sulfetos metálicos e  $Fe^{2+}$  por *T. ferrooxidans*, metabolismo de obtenção de energia dessa espécie quimioautotrófica, é a base do processo de lixiviação de metais que já é utilizado em escala industrial para recuperação de cobre e urânio. Pela própria natureza do ambiente em que essa bactéria vive (águas ácidas contendo metais dissolvidos), o interesse de se conhecer a resistência aos metais e seus mecanismos genéticos controladores, tem sido crescente.

Em função da disponibilidade, em nosso laboratório, de linhagens de *T. ferrooxidans* oriundas de regiões minerais diferentes, procura-se estudar a variabilidade genética entre estas para resistência a vários metais. Inicialmente, testou-se 4 linhagens para resistência a U, Mo e Hg, tendo-se obtido diferenças significativas entre as linhagens, para diferentes concentrações de U (2,4,6 e 8mM) e Mo (1,2,3,4 mM). O Hg foi inibitório para todas as linhagens, mesmo na mais baixa concentração utilizada (0,1 mM). Os testes estão sendo realizados através da técnica respirométrica ( $O_2$  consumido) e aparelho Warburg, com suspensões celulares lavadas, o substrato respirável ( $Fe^{2+}$  120mM) e o respectivo metal. Além de concentrações mais baixas de Hg, iniciou-se experimentos com outros metais comumente presente no habitat natural da bactéria: Cu, Co e Ag. Até o presente testou-se uma das linhagens obtendo-se os seguintes resultados, em % de inibição em relação ao controle sem metal (células +  $Fe^{2+}$ ): Cu 1M, 60%; Ag, 0,1mM, 37%; Co, 1M, 90% e Hg, 0,05 mM, 72%. Essas foram as mais altas concentrações testadas e os maiores percentuais de inibição obtidos. As demais linhagens, serão testadas nas mesmas concentrações e comparadas com os resultados dessa primeira (*T. ferrooxidans*-LR), que nos testes com U e Mo, mostrou-se a mais resistente para ambos metais.

1. Apoio CNPq - PIG V

INFLUÊNCIA DA FONTE DE CARBONO NA HABILIDADE DE PICHIA STIPITIS EM FORMAR AGREGADOS MICROBIANOS.

H. F. de Castro, A. E. S. Visconti & L. A. B. de Castro

Unidade Bioreatores - Centro de Biotecnologia e Química/FTI - Lorena - SP.

Floculação de microorganismos consiste na agregação de um determinado número de células isoladas, em flocos, quando suspensas em um meio líquido, com subsequente flotação ou sedimentação.

O mecanismo geral de agregação das células envolve uma série de fatores de natureza microbiológica, física e química, que apresentam uma forte inter-relação e afetam direta ou indiretamente, a região da parede celular e microorganismo, área considerada de importância crucial e responsável pela formação dos sistemas de agregados celulares.

Neste trabalho, foi investigada a influência de diversas fontes de carbono, na intensidade de floculação da levedura *Pichia stipitis* CBS 5773.

O cultivo foi efetuado em regime de batelada (erlens agitados) durante 72 horas, com amostragens a intervalos de 24 horas.

Os resultados obtidos sugerem que meios de cultura contendo glicose, xilose ou sacarose, fornecem biomassa celular com características floculantes. O grau de intensidade de floculação, foi entretanto, dependente da suplementação de sais nutrientes no meio de cultura e do tempo de cultivo.

Por outro lado, foi verificado, que apenas o meio natural caldo de cana, possui propriedades físico-químicas adequadas, para induzir uma floculação verdadeira na levedura, isto é, uma floculação capaz de promover uma retenção de células no reator contínuo, viabilizando, desta forma, o processo empregando concentrações elevadas de biomassa celular.

## PRODUÇÃO DE SACAROSE FOSFORILASE POR MONILIA SITOPHILA

M.C.B.Pimentel;C.R.C.Araújo;M.S.S.Ferreira;A.R.Espirito Santo Filho

Deptº Bioquímica-C.C.Biológicas-U.F.PE-Av.Profº Moraes Rego s/n-Cidade Universitária - 50000 Recife-PE.

Objetivos:Investigação do efeito da fonte de N e da adição de glicose na produção da atividade sacarose fosforilase por *Monilia sitophila* cultivada em meio preparado com extrato de inhame.

Material e Métodos: *Monilia sitophila* ( obtida da coleção de fitopatologia da U.F.R.PE). Meios de cultivo: Meio básico preparado com extrato de inhame contendo 15-20 mg de amido por ml, adicionado respectivamente de: glicose (2%);  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (0,15% - 1%) + glicose (2%) ;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  ( 0,15%) e extrato de levedura (0,15%).

Métodos de dosagens: Fiske & Subbarow ( para ensaio da atividade sacarose fosforilase com os substratos sacarose 100mM e Pi 50mM a pH 7,0 e 40°C); DNSA ( açúcares redutores); Lugol ( amido); Warburg & Christian (proteínas a 260 e 280 nm); GOD-PAP (Merck, para dosagem de glicose).

Resultados e Conclusões: A melhor produção da atividade sacarose fosforilase foi obtida com o meio básico +  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (0,15%) após 30h de cultivo a temperatura ambiente ( 28-30°C) com agitação contínua. O rendimento da produção da enzima extracelular com este meio barato, foi de 34000 U/L de meio (3,36 U/mg de proteínas) muito maior que o relatado na literatura, para o *Leuconostoc mesenteroides* , que cultivado em meio definido e mais dispendioso, contendo indutores ( sacarose ,Pi) e solução de sais e vitaminas, produziu 1100 U/g de células (peso seco), que corresponde a aproximadamente 1870 U/L de meio de cultivo.(J.Chem.Biotechnol.,39:251-262,1987). Tentativas relatadas para produção da sacarose fosforilase,em meio preparado com melaço e licor de milho, baixou este rendimento em 50%.

Uma unidade de atividade sacarose fosforilase foi definida como a quantidade de enzima que catalisa o consumo de 1 umol de Pi após 10 min de incubação nas condições de ensaio.

SELEÇÃO DE ESPÉCIES FÚNGICAS PECTINOLÍTICAS PARA DEGOMAGEM DE FIBRAS NATURAIS PARA INDÚSTRIA TÊXTIL

M.C.Baracat; C.Valentim; J.J.Muchovej; D.O.Silva

Depto. Biologia Geral/UFV - 36570 - Viçosa - MG

Enzimas pectinolíticas microbianas são conhecidas pela sua importância na indústria de alimentos e no campo da fitopatologia. A degomagem de fibras naturais para a indústria têxtil vem se mostrando como um novo campo de atuação deste conjunto de enzimas. Com esta finalidade, as atividades pectinolítica e celulolítica de diferentes espécies de Aspergillus, Penicillium e Humicola foram determinadas com o intuito de se selecionar um fungo que satisfaça às condições de alta atividade pectinolítica e baixa atividade celulolítica. Os fungos foram crescidos em meio mineral completo e pectina cítrica (ESKISA S.A. tipo 8106) como única fonte de carbono. As atividades específicas de poligalacturonases nas 26 espécies testadas variaram de zero a 0,45  $\mu$ moles de ácido galacturônico/ml de sobrenadante/ $\mu$ g de proteína/h e, de celulase, de zero a 0,10  $\mu$ moles de glucose/ml de sobrenadante/ $\mu$ g de proteína/h, sendo que o meio de cultura utilizado não continha indutor para esta última enzima. Através das determinações das atividades específicas de pectinase e celulase constatou-se que os cinco melhores fungos pectinolíticos são, em ordem decrescente, P. versicolor, P. expansum, A. niger, Penicillium sp. e A. fumigatus, sendo que o último tinha atividade pectinolítica de aproximadamente 40% do primeiro.

MELHORAMENTO DE Bacillus PRODUTORES DE ALFA-AMILASE POR FUSÃO DE PROTOPLASTOS

GUERRA, J.B. e LINARDI, V.R.

Departamento de Microbiologia - ICB/UFMG

As amilases, de grande importância industrial, são enzimas que degradam o amido em glicose, maltose e dextrinas, sendo sintetizadas e secretadas extracelularmente por uma ampla variedade de microrganismos.

As alfa-amilases secretadas por bactérias são mais termoestáveis do que as de origem fúngica. Entre as bacterianas, aquelas secretadas pelo gênero Bacillus são as mais termoestáveis, aumentando a sua aplicabilidade industrial.

O trabalho tem como objetivo obter, a partir de linhagens parentais consideradas como boas produtoras de alfa-amilase, recombinantes estáveis e capazes de produzir a enzima em maior escala, por fusão de protoplastos.

A partir de sete espécies de Bacillus, foram selecionados o B. amyloliquefaciens ATCC-23842 e o B. subtilis NRRL-B941, produtores de 537 e 277 UD da enzima respectivamente (UD - unidade dextrinizante é a quantidade de enzima que hidrolisa 1,0 mg de amido por min/ml). Dos recombinantes obtidos, foram selecionados dois com produção da enzima superior a dos parentais (730 e 679 UD) e outro com uma produção menor (16 UD).

Os três recombinantes estão sendo testados quanto a produção de protease e será realizado o estudo das propriedades físico-químicas (pH e temperatura) das enzimas dos recombinantes.

Financiado: CNPq (404581/87), FINEP (590).

AValiação DA QUALIDADE DA DEXTRANA PRODUZIDA POR UMA LINHAGEM SELECIONADA DE LEUCONOSTOC MESENTEROIDES

M.H. Santini Campos; L.H. Gomes; F.C. Almeida Tavares.

Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ/USP)

As linhagens de Leuconostoc mesenteroides produzem dextranas com peso molecular variado, em geral elevado. O emprego das dextranas e de suas formas modificadas devem atender a características de solubilidade e tamanho da molécula, especialmente na indústria farmacêutica. A síntese enzimática controlada, ou também a hidrólise de moléculas de alto peso molecular são processos que permitem obter o produto para finalidades específicas. Estima-se que maior eficiência de produção seria obtida com linhagens produtoras de limitada atividade de polimerização da dextran sucrose, bem como menores custos de produção e uso da tecnologia menos sofisticada. Tendo em vista estas possibilidades, linhagens foram selecionadas para alta produtividade e rendimento. A linhagem alto produtora foi ensaiada em fermentador e com a dextrana produzida foi efetuada a avaliação das propriedades de solubilidade e hidrólise. A solubilização da massa seca e purificada de dextrana foi conseguida a 60° C para uma concentração de dextrana de 1% (p/v) após 4 horas. A hidrólise ácida (HCl) foi de baixa eficiência (9,3%, pH 2.0 a 95°C por 20 minutos) e por hidrólise enzimática (glucoamilase), obteve-se 70% de eficiência de hidrólise. Em cromatografia de papel foi comprovada a constituição monomérica de glicose deste material. Mutantes serão obtidos visando obter dextranas com propriedades adequadas a finalidades farmacêuticas e serão estudados os aspectos genéticos de produção.

PRODUÇÃO DE FRUTOSE PELA UTILIZAÇÃO SELETIVA DA GLICOSE DO EXTRATO DE ALCACHOFRA DE JERUSALÉM HIDROLISADO DURANTE O CULTIVO DE CLADOSPORIUM CLADOSPORIÓIDES.

\*A.V.M. de Andrade; \*\*M.S.S.Ferreira; A.Real do Espírito Santo Filho.

\*Deptº Química Aplicada; Deptº Bioquímica da UFPE\*\*. Av. Prof. Moraes Rego, S/N - Cidade Universitária 50000 Recife

Objetivos: Investigar a utilização de nutrientes pelo C.Cladosporioides cultivado em meios preparados respectivamente com extrato de alcachofra de Jerusalém, sacarose e inulina comercial.

Materiais e Métodos: Cladosporium cladosporioides foi isolado no Deptº de Bioquímica da U.F.PE e catalogado no Deptº de Micologia da U.F.PE. Meios de cultivo utilizados: sacarose (5%) + extrato de levedura (1%); inulina (5%) + extrato de levedura (1%); extrato de alcachofra de Jerusalém contendo respectivamente 3,2% e 12,5% de açúcares redutores totais (método DNSA). Os inóculos (10% v/v) foram cultivados a temperatura ambiente (28-30º C) sob agitação. Com intervalos de tempo foram retiradas amostras para dosagens de açúcares redutores totais (DNSA) e glicose (GOD-PAP, Kit Merck). O cálculo do teor de frutose: redutores totais-glicose.

Resultados e conclusões: C.Cladosporioides hidrolisou completamente a sacarose e a inulina (frutosanas) evidenciando assim, possuir atividade invertase e inulase. Nos meios de cultivo preparados com sacarose ou extrato de alcachofra de Jerusalem, foi verificada a utilização seletiva de glicose, havendo um acúmulo de frutose, correspondente a 70-75% da disponibilidade inicial. Com a inulina de dália, ainda ocorreu a utilização seletiva da glicose, mas como esta fonte tem inulina com maior grau de polimerização, a hidrólise, provavelmente por mecanismo exo, não favoreceu a acumulação de açúcares redutores ocorrendo uma liberação gradual de frutose, acompanhada de sua utilização.

INFLUÊNCIA DE  $S_0$ , pH,  $X_0$ , T, NA PRODUÇÃO DE LEVANA POR UMA NOVA CEPAS DE *Zymomonas mobilis* .

A.P.MAGALHÃES

DEPTº ENGENHARIA BIOQUÍMICA- UNIV. FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

**OBJETIVOS:** O presente trabalho objetiva estudar o comportamento fermentativo de uma nova cepa de *Zymomonas mobilis* (designada CP444) frente à diferentes  $S_0$ , pH inicial,  $X_0$  e temperatura. O enfoque principal deste trabalho é a cinética de formação de levana.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** A cepa CP444, cedida por Julio C.C.Ribeiro, foi isolada por mutação química induzida (usando-se NTG) da bactéria *Zymomonas mobilis* CP4. A cepa foi mantida em meio líquido contendo glicose ou sacarose, 20g/l; extr.levedo, 10g/l; peptona, 10g/l, e transferida para novo meio a cada 4 semanas. O meio básico de fermentação era composto de sacarose, 150g/l; extr.levedo, 5g/l;  $KH_2PO_4$ , 1g/l,  $(NH_4)_2SO_4$ , 1g/l,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,5g/l. Determinações analíticas: a) Células, por espectrofotometria (comparando-se com curva Peso seco x Absorvância); b) Glicose, por método enzimático (kit GOD-PAP, Merk); c) Frutose, pela diferença entre AR (por Somogyi) e glicose; d) Sacarose, pela diferença entre ART (após hidrólise, por Somogyi) e AR; e) Etanol, pelo método do  $K_2Cr_2O_7$ , (após destilação); f) Levana, pelo método de Kulka (após precipitação e lavagens com etanol 68%).

**RESULTADOS E CONCLUSÃO:** Foram obtidos resultados cinéticos bem semelhantes ao se efetuar fermentações agitadas ou estáticas. Um comportamento típico da cepa CP444 mostra uma rápida hidrólise da sacarose e formação de levana, atingindo o máximo entre 15-20h; neste período, dá-se o acúmulo de glicose e frutose no meio e abaixamento do pH até cerca de 3,5. Observa-se depois, um rápido consumo de glicose, produção de etanol, e lento consumo de frutose livre. Nas últimas horas, observa-se hidrólise da levana, seguido de novo abaixamento de pH e novo crescimento celular. A maior quantidade de levana (21g/l) foi obtida com  $S_0=200g/l$ ,  $pH_0=5,7$  e com  $S_0=150g/l$ ,  $pH_0=4,0$  (24g/l), na temperatura de 30°C. Após sucessivos repiques, a cepa mantida em meio de glicose, não mais produzia levana em quantidades apreciáveis. Este trabalho apresenta uma fonte de dados importante para compreender o comportamento fermentativo da nova cepa de *Zymomonas mobilis* CP444, bem como o perfil cinético de formação de levana. Atingiram-se concentrações de levana da ordem de 25g/l, bastante acima daquelas geralmente reportadas pela literatura. Ao ser sucessivamente repicada em meios de glicose, a cepa parece perder a capacidade de produzir levana, sugerindo uma reversão de mutação às características da cepa original (CP4), de fraca produção de levana.

CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE  $\beta$ -CAROTENO POR UMA LINHAGEM DE RHODOTORULA CRESCENDO EM CALDO DE CANA.

HEBÉ L. MARTELLI; I.M. DA SILVA, NORMA O. SOUZA E D. POMEROY

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA BIOQUÍMICA - ESCOLA DE QUÍMICA - UFRJ

A Produção de  $\beta$ -caroteno pela biomassa de Rhodotorula glutinis var. glutinis obtida em meio de caldo de cana acrescido de nutrientes, seja durante a fase estacionária de crescimento, seja em condições não proliferantes, foi pesquisada. Em média, a eficiência do consumo do açúcar presente foi de 99% e a eficiência da conversão do açúcar em biomassa  $Y \frac{x}{s} = 0,55$ .

A produção de  $\beta$ -caroteno em condições não proliferantes foi de 0,53 a 0,80 mg por grama de célula seca e de 1,7 mg por grama de célula seca quando transferido para água destilada. Neste último caso, o rendimento de  $\beta$ -caroteno por litro foi de 25,0 mg/litro.

"PRODUÇÃO DE XILITOL POR *Candida guilliermondii* UTILIZANDO HIDROLISADO HEMICELULÓSICO SUPLEMENTADO COM FARELO DE ARROZ"

I.C.Roberto; M.G.A.Felipe; S.S.da Silva; I.M. de Mancilha  
Centro de Biotecnologia e Química - FTI - Lorena - SP

OBJETIVO: Utilização do farelo de arroz como suplemento nutricional na conversão de xilose a xilitol, visando o aproveitamento do hidrolisado hemicelulósico.

MATERIAL E MÉTODOS: A avaliação do farelo de arroz como suplemento nutricional para *C.guilliermondii* foi efetuada em meio contendo 30 g/l de xilose, 1 g/l  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,5 g/l  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,1 g/l  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0,1 g/l  $\text{NaCl}$  e 5 g/l  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Este mesmo meio foi também utilizado substituindo o farelo de arroz por extrato de levedura. Como controle utilizou-se 6,7 g/l de YNB (sem aminoácidos) adicionado de 30 g/l de xilose. O hidrolisado hemicelulósico foi obtido do bagaço de cana-de-açúcar embebido em 35mM de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , submetido ao processo de "steam-explosion" a 190°C/5min. O hidrolisado foi submetido a diferentes tratamentos e suplementado com sulfato de amônio, cloreto de cálcio e farelo de arroz. As fermentações foram conduzidas em frascos Erlenmeyer de 125 ml contendo 50 ml do meio de fermentação, em shaker giratório a 30°C sob agitação de 200 rpm. As concentrações de xilose, glicose e xilitol foram determinadas por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC).

RESULTADOS E CONCLUSÕES: A substituição do extrato de levedura por farelo de arroz em meio de cultivo contendo 30 g/l de xilose, resultou em uma produção de 17,96 g/l de xilitol correspondendo a um aumento cerca de 16%. Portanto o farelo de arroz mostrou ser uma fonte alternativa de nutrientes para a produção de xilitol por *C.guilliermondii*. Foi verificado também que a presença de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  no meio de cultivo aumentou a quantidade de produto formado em relação do mesmo meio em que este sal não foi adicionado. O melhor tratamento do hidrolisado hemicelulósico foi utilizando  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  como agente neutralizante. Desta forma, obteve-se um consumo de 95% de xilose, com produção de 30,5 g/l de xilitol, correspondendo a um rendimento de 53% em relação ao teórico, após 130 horas de fermentação.

OXIGÊNIO DISSOLVIDO COMO FATOR LIMITANTE NO DESENVOLVIMENTO DE M. ANISOPLIAE.

J.A. Freire; B.C. Almeida Cunha; J.A. Neto e T.C. Vessoni Penna

Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, C.P. 30.786  
CEP 01051 São Paulo, SP

Metarrhizium anisopliae (Metsch) Sorokin foi cultivado em meios de cultura quimicamente definidos, compostos de  $K_2 HPO_4$ ,  $(NH_4)_2 SO_4$  e dextrose (0,1 a 3,0%). As culturas foram submetidas a condições de temperatura e aeração que permitiram estabelecer correlação entre a disponibilidade de oxigênio no meio de crescimento e a massa micelar máxima obtida. Sendo  $R = (B.C.C.)/(B.A.C.)$ , onde A = área da superfície do meio; C = solubilidade de  $O_2$  em água, e  $B_m/B_n$  a relação entre fatores intrínsecos que podem influenciar o desenvolvimento do fungo ao se variar as condições de m para n, a relação entre as massas micelares obtidas nas condições m e n apresenta valores que divergiram, em média, apenas 5,47% da relação teórica quando se consideram a superfície livre da cultura e a temperatura como fatores determinantes da disponibilidade de  $O_2$  no meio.

## ANÁLISE COMPARATIVA DA PRODUÇÃO DE BIOMASSA A PARTIR DE TRÊS DISTINTAS CIANOBACTÉRIAS

B.L.Faintuch, S.Sato, E.Aquarone

Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo

**Introdução:** As cianobactérias tem sido ensaiadas como complemento alimentar para rações animais e mesmo para nutrição humana, graças a seu elevado teor proteico. A maior experiência disponível relaciona-se a Spirulina maxima, mas diversas investigações foram realizadas também com a Oscillatoria agardhii e a Oscillatoria limnetica. No entanto, uma das dificuldades que limita a sua utilização diz respeito ao custo de produção desta biomassa, em virtude do consumo de fontes nitrogenadas dispendiosas no meio de cultura.

**Objetivos:** Na verificação procedeu-se à análise comparativa da produção de biomassa, com os três microorganismos citados, a partir de distintas concentrações de  $KNO_3$  e também de ureia em baixos níveis, visando identificar opções para um menor custo final.

**Material e métodos:** Realizaram-se neste estudo ensaios de 10 dias com as três cianobactérias em tela, utilizando-se em cada caso o mesmo meio de cultura básico. A fase nitrogenada entretanto abrangeu testes com cinco concentrações de  $KNO_3$  e três proporções de ureia. Os parâmetros de controle foram representados pela determinação da biomassa, verificação de pH no meio nutriente, e dosagem de proteína total no material obtido.

**Resultados:** Houve crescimento regular dos três organismos no meio padronizado, sendo que os valores de biomassa mais elevados foram observados com a Spirulina maxima. No que concerne ao valor proteico, as dosagens mais favoráveis foram alcançadas com a Oscillatoria limnetica, seguidos da Spirulina e, em terceiro lugar, da Oscillatoria agardhii. A ureia não se constituiu numa fonte de nitrogênio tão eficiente quanto o  $KNO_3$ , mas em concentrações baixas permitiu o crescimento das cianobactérias em estudo, a um custo muito vantajoso.

**Conclusões:** 1) Esta pesquisa confirmou a possibilidade de produção regular de cianobactérias com um meio de cultura padronizado;

2) Concentração de proteína mais elevada que a da Spirulina maxima foi proporcionada pela Oscillatoria limnetica;

3) A resposta de crescimento à ureia poderá permitir redução do custo de produção.

PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE CIANOBACTÉRIAS: UTILIZAÇÃO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS

S.Sato; J.C.M. Carvalho; I.Y. Sonehara & E. Aquarone

Depto de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Faculdade de Ciências Farmacêuticas,

Universidade de São Paulo. Cx. Postal 30.786, CEP 01051. São Paulo, SP.

Objetivo: Viabilizar a utilização de águas residuárias de indústrias para obtenção de biomassa de microrganismos fotossintetizantes. **Materiais e Métodos:** Foram utilizados resíduos de indústrias de álcool, cítrica e de massa de tomate como substrato para desenvolvimento de Spirulina maxima. Os experimentos foram desenvolvidos em erlenmeyers de 500 mL, sob agitação de  $100 \text{ min}^{-1}$ , 2,5 Klux e temperatura de 28 a  $30^{\circ}\text{C}$ . Os resíduos foram pesquisados nas condições: in natura, pré-tratado. A concentração de inóculo foi variável, com e sem controle de pH. **Resultados:** O resíduo da indústria de álcool foi inviabilizado devido à sua elevada DBO e DQO. O resíduo pré-tratado de indústria cítrica com controle de pH a 9,4 e inóculo de 60 mg/L apresentou o máximo de crescimento celular no 10º dia e após o 13º dia foi constatado a lise de células. Verificou-se um acréscimo celular de 1.566% em relação ao 1º dia e produtividade de 94 mg/L.dia; com inóculo de 120 mg/L e pH 9,4 controlado diariamente, o acréscimo no 10º dia foi de 716% e produtividade de 86 mg/L.dia. A influência do pH sobre o crescimento de Spirulina maxima em resíduo pré-tratado de indústria cítrica foi importante. No controlado, houve um acréscimo de 2.566% e no sem controle de 1.614%. O resíduo in natura com pH controlado em 9,4 e inóculo de 50 mg/L, apresentou no 9º dia acréscimo de 3.500% e produtividade de 194 mg/L.dia. O resíduo de indústria de massa de tomate tanto no resíduo de entrada como de saída, com e sem controle de pH e concentrações de inóculo diferentes apresentaram valores de produtividade superiores a 150 mg/L.dia, atingindo concentrações máximas por volta do 6º dia de cultivo. **Conclusão:** É possível a utilização de resíduos de indústria cítrica e de massa de tomate para obter biomassa. A concentração de inóculo na faixa de 50 mg/L em massa seca foi a mais indicada. O controle de pH em torno de 9,4 apresentou melhor resultado.

Apoio Financeiro: FAPESP

## ESTUDOS PARA AUMENTO DA PRODUTIVIDADE DE ZEARALENONA EM ISOLADOS DE *FUSARIUM GRAMINEARUM*.

E.R. Martins e C. Kemmelmeier.

Laboratório de Química e Fisiologia de microrganismos - Departamento de Bioquímica da Universidade Estadual de Maringá - CP 331 87.020 - Maringá - Pr.

A zearalenona é um metabólito secundário produzido como hormônio de controle da reprodução sexual em *Fusarium graminearum*. Seu aparecimento em cereais estocados ocorre por contaminação com este fungo e está associado com intoxicações alimentares em suínos e aves. Em ruminantes, pequenas quantidades de zearalenona e do seu derivado zearalanol tem sido usadas como anabolizante (Bennet, G., Veterinary Record. 94:235, 1974).

Estudos com 57 isolados de *F.graminearum* da região Sul do País, levaram a seleção de uma amostra (F.g 42) a qual em pequenos cultivos (40g) produz 14ug de zearalenona por grama de arroz, porém em cultivos maiores, quantidades de até 1.77g/kg de arroz foram obtidos. Dado o interesse econômico deste metabólito, seja como anabolizante ou como micotoxina, estamos verificando a possibilidade de aumentar a produtividade de zearalenona a partir de novos isolados desta amostra. Para tanto, macroconídias ( $2 \times 10^6$ ) foram tratadas com nitrosoguanidina (0,4g%), durante uma hora e plaqueadas em PDA. Os isolados (11) com características de crescimento e pigmentação compatíveis com as de altos produtores de zearalenona (Cullen, Phytopathology, 72-1415, 1982) foram separados, crescidos em arroz por 12 dias a 25°C seguidos por 6 semanas a 12°C, extraídos com acetonitrila, particionados com hexano, cromatografados em coluna com sílica gel e quantificados por HPLC. Em pequenos cultivos, valores mais elevados de zearalenona foram obtidos em relação ao isolado original. Estudos em cultivos maiores estão sendo realizados para verificar a produtividade destes isolados. Porém cuidado deve ser tomado porque na produção de metabólitos secundários nem sempre a produtividade pode ser extrapolada.

Apoio financeiro: CNPq, CONCITEC e FUEM

TÍTULO: CULTIVO DE Pisolithus tinctorius (MARX-185) EM TANQUE AGITADO POR PROCESSO DE BATELADA E POR CORTES.

AUTORES. M.S. OLIVEIRA, S.A.R. LOPES, A.G. PINTO, J.G. PRADELLA, S.S. YOKOI.

INSTITUIÇÃO: INSTITUTO DE PESQUISAS TECNOLÓGICAS DO ESTADO DE SÃO PAULO S/A.

OBJETIVOS: Estudar o crescimento e o aspecto do micélio produzido durante o cultivo em tanque agitado.

MATERIAL E MÉTODOS: *Microrganismo*: Pisolithus tinctorius (Marx-185). *Meio de Cultura* MNM com 10g/l de extrato levedura. *Inóculo*: Micélio obtido em cultivo estático aos 20 dias de idade, era desagregado em liquidificador com solução salina (0,85%) durante 3 segundos. A concentração inicial do micélio no fermentador era cerca de 0,7g/l. *Metodologia analítica*: Amostras eram retiradas periodicamente e efetuadas as análises de açúcares (DNS), massa seca micelial (por filtração e secagem em estufa (65°C/48 hs) e medida do pH. *Fermentador*: New Brunswick modelo Bioferm com dorna de 7l de capacidade, contendo 2,5l de meio de cultura, era esterilizado a 121°C por 1 h. Durante o cultivo eram mantidas as seguintes condições: agitação 400 rpm, temperatura 30°C, 0,2 vvm.

RESULTADOS OBTIDOS E CONCLUSÕES: Os resultados experimentais mostraram que, na fermentação por cortes, a velocidade de crescimento do fungo foi bem superior àquela registrada nos ensaios de fermentação por batelada. O tempo de fermentação foi reduzido de 20 dias para cerca de 7 dias com obtenção de 6g/l de material celular na forma de pequenas pelotas com 3 a 4 mm de diâmetro. Tais resultados permitiram concluir preliminarmente que na fermentação por cortes, obteve-se uma produtividade maior do que no processo de batelada. Há necessidade porém, de otimizar o processo, e também verificar se o produto obtido mantém as características de formação de micorrizas em plantas.

LIXIVIAÇÃO DE MINÉRIO DE COBRE POR *THIOBACILLUS FERROOXIDANS* EM COLUNAS DE PERCOLAÇÃO<sup>1</sup>

NOVO, M.T. M.<sup>2</sup> & GARCIA, JR., O.

DEPTO. DE BIOQUÍMICA, INSTITUTO DE QUÍMICA, UNESP - ARARAQUARA - SP

A lixiviação bacteriana de metais é um processo alternativo aplicado a minérios de baixos teores, devido a seu custo reduzido em comparação a métodos convencionais. Vem sendo estudada em nosso laboratório a potencialidade da aplicação desse método ao minério de cobre da Mina de Surubim, BA. Nos testes iniciais em frascos agitados constatou-se a ação significativa da bactéria na solubilização do metal. Em continuidade aos estudos, avaliou-se essa ação em condições mais próximas àquelas encontradas em aplicações industriais; isto é, lixiviação estática por percolação. Assim utilizou-se duas colunas contendo 500g de minério/coluna, nas quais foram percoladas soluções ácidas (pH~3,0), sendo uma inoculada e a outra esterilizada com formaldeído. Após cerca de 100 dias de ensaio, obteve-se 17 e 8% de extração de cobre na inoculada e na esterilizada, respectivamente, indicando claramente a ação bacteriana no minério.

A seguir testou-se a ação de soluções ácidas de sulfato férrico produzidas pela bactéria, sobre o minério em estudo. Utilizou-se soluções contendo 2,5 e 5,0 g/l em  $Fe^{3+}$  ao pH 2,5 em novas colunas. Após a estabilização do cobre em solução (lixiviado), retirou-se este da solução por "cimentação" e reoxidou-se bacterianamente o  $Fe^{2+}$  originado no processo. A seguir reciclou-se novamente a solução pelo minério para nova etapa de extração. Ao final do ensaio (cerca de 60 dias), obteve-se aproximadamente 25% de extração de cobre. Este resultado pode ser considerado melhor que o do primeiro teste, pois além de um maior valor de extração houve uma considerável redução no tempo do processo e um menor consumo de ácido sulfúrico, utilizado para os ajustes de acidez das soluções lixiviantes.

1. Apoio CNPq - PIG V
2. Bolsista de Aperfeiçoamento - CNPq/PADCT

# BIOLIXIVIAÇÃO DE XISTO POR AÇÃO DE THIOBACILLUS FERROOXIDANS POR PERCOLAÇÃO EM COLUNAS.

DE FRANÇA, F.P. & SÉRVULO, E.F.C.

Departamento de Engenharia Bioquímica, Escola de Química/UFRJ.

A lixiviação bacteriana está baseada na capacidade de certas bactérias, como as do gênero Thiobacillus em degradar minerais sulfetados com a consequente solubilização dos metais. A fim de estudar a aplicabilidade do processo microbiológico de lixiviação do xisto retortado, foram realizados experimentos, em escala de bancada, em condições mais próximas daquelas de campo.

Colunas do tipo air-lift, 4x400mm, foram preenchidas com 70 g de xisto retortado, -1/4 + 4 mesh, e 55 ml de solução de  $H_2SO_4$  0,5 g/l, perfazendo uma altura de 100mm. De modo a avaliar a condução do processo foram feitas determinações periódicas de pH e concentração de sulfato,  $Fe^{2+}$  ferroso e ferro total.

Verificou-se não ser necessária adição de ácido à lixívia, para ajustar o pH próximo ao valor ótimo de crescimento da bactéria empregada, já que isto ocorreu naturalmente em 45 dias, quando efetuou-se a inoculação. Foi realizado ensaio em branco e, para tanto, adicionou-se formaldeído ao xisto. Após a inoculação houve um período (25 dias) em que o pH se manteve em torno do valor inicial, seguido de uma queda lenta até 1.80, decorridos 30 dias, passando a oscilar em torno deste valor. No ensaio em branco o pH manteve inalterado.

Decorridos 140 dias do processo de biolixiviação, propriamente dito, alcançou-se um teor de sulfato de 28,4 g/l, o que conduziu à extração de 19,5% do enxofre total, em relação aos 9,8% extraídos no ensaio em branco. Entretanto, foram obtidas extrações de 12,7% e 16,6%, respectivamente, para tempos de processo em torno de 90 e 110 dias.

Em relação ao teor de ferro total obtiveram-se baixos valores de extração, estando praticamente todo o ferro sob a forma de  $Fe^{3+}$  férrico.

Os resultados obtidos indicam a possibilidade de se extrair por via microbiana o enxofre residual do xisto retortado, e mesmo que no momento, não seja viável economicamente é importante por razões de ordem ecológica podendo ser utilizado como tratamento despoluente. Trabalho auxiliado pelo CNPq e CENPES:

"UTILIZAÇÃO DE SACAROSE NA PRODUÇÃO EM BATELADA DE 2,3-BUTANODIOL POR *Klebsiella pneumoniae* NRRL B-199"

M.M. da Silveira & M.A. Berbert

Centro de Biotecnologia e Química - FTI - Lorena - SP

OBJETIVOS: (i) avaliar a aplicabilidade da sacarose como substrato para a fermentação butileno-glicólica, haja vista a inexistência de estudos publicados neste sentido (ii) verificar a influência da concentração inicial de sacarose sobre a cinética do processo fermentativo.

MATERIAL E MÉTODOS: - Os ensaios foram realizados em um fermentador MICROFERM (NBS) com volume útil de 1,3ℓ. O meio utilizado foi o descrito por PIRT & CALLOW<sup>1</sup>. As concentrações iniciais de sacarose (So) testadas foram 20, 40, 60 e 100 g/ℓ. O pH foi controlado em 5,5 com KOH 5N e a temperatura em 36± 1°C. A agitação foi fixada em 300 rpm e a aeração em 0,43 vvm. Sacarose, após hidrólise com HCl 1N, foi quantificada pelo método do DNS<sup>2</sup>. Os produtos de fermentação foram dosados por cromatografia gasosa (DIC) em coluna PORAPAK-P. A concentração celular foi medida indiretamente através de leitura da absorbância de suspensões de células.

RESULTADOS E CONCLUSÕES: - Os rendimentos e produtividades atingidos foram semelhantes aos obtidos em ensaios que tiveram glicose como substrato<sup>3</sup>, demonstrando que sacarose é um substrato adequado a esta fermentação. Nos experimentos de variação da concentração inicial de sacarose foi observado que o aumento de So favorece a formação de butanodiol. O fator de rendimento  $\gamma_{p/s}$  para So=100 g/ℓ chegou a 0,49, o que equivale a uma eficiência de fermentação de 92,7%. A produtividade do processo teve o mesmo comportamento. Para So=100 g/ℓ o valor atingido foi 1,44 g/ℓ.h. Valores de So mais baixos favoreceram o crescimento celular. Com So=20 g/ℓ, o  $\gamma_{x/s}$  alcançado foi 0,10 enquanto que para 100 g/ℓ, o seu valor decresceu a 0,05. Em todos os ensaios a máxima velocidade específica de produção foi atingida nos tempos finais de fermentação. A duração da "lag-phase" dos cultivos aumentou com o aumento do So, indicando inibição pela sacarose. Não foi observada inibição pelo butanodiol até a concentração mais alta alcançada (48 g/ℓ).

1. PIRT, S.J.; CALLOW, D.S. *J. Appl. Bacteriol.*, 21 : 188, 1958.
2. MILLER, G.L. *Anal. Chemical.*, 31:426, 1959.
3. SABLAYROLLES, J.M.; GOMA, G. *Biotech. Bioeng.*, 26:148, 1984.

PRODUÇÃO DE PENICILINA G POR *Penicillium chrysogenum* IZ - 1609

PAULINO, Oscar F.T. e HOKKA, Carlos O.

Departamento de Eng. Química da Universidade Federal de São Carlos

Este trabalho teve por objetivo o estudo da capacidade de produção de penicilina por parte da cepa *Penicillium chrysogenum* IZ-1609, para posterior utilização em ensaios fermentativos em tanque agitado e aerado. Efetuados os ensaios preliminares, verificou-se que a cultura estoque original se mostrou não produtiva. Desta maneira, um processo de purificação foi realizado no sentido de se obter uma cultura produtora de penicilina.

Foram realizados experimentos em batelada em frascos agitados, a 25°C, com sacarose ou lactose como principal fonte de carbono e energia, e com água de maceração de milho como principal fonte de nitrogênio. A concentração de substrato foi medida através do método de Somogyi, a massa celular foi obtida pelo volume de células compactadas e a concentração de penicilina determinada como o "Método de Discos". A purificação da cepa original foi efetuada através do método das diluições sucessivas, com a posterior verificação qualitativa da capacidade produtiva das culturas obtidas através do método de Wickerham modificado.

Com este procedimento obteve-se quatro culturas diferentes, que testadas em ensaios de produção, apenas uma delas se mostrou com capacidade produtora de penicilina. Assim, foi desenvolvido um roteiro de tratamento de culturas que, quando implementado, propiciou o isolamento de uma cepa produtora de penicilina partindo da cultura estoque original não produtiva.

## "PRODUÇÃO DE ÁCIDO CÍTRICO A PARTIR DE HIDROLISADO CELULÓSICO DE BAGAÇO DE CANA-DE-AGÚCAR"

A.M.R.Prata & I.M. de Mancilha

Centro de Biotecnologia e Química - FTI - Lorena - SP/Universi-  
dade Federal de Viçosa - Viçosa - MG.

**OBJETIVOS:** Determinar a concentração ideal de ferrocianeto de po-  
tássio para a formação de micélios de *Aspergillus niger* com carac-  
terísticas de produção de ácido cítrico, em hidrolisado celulósico  
de bagaço de cana-de-açúcar; avaliar a influência de alguns nu-  
trientes sobre a produção do ácido, em fermentação submersa.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** Utilizou-se hidrolisado enzimático de bagaço  
de cana-de-açúcar pré-tratado por explosão com vapor. Os experi-  
mentos foram conduzidos em "erlenmeyers" de 250 ml contendo 50 ml do  
hidrolisado, pH 3,0, a 30°C e 200 rpm, em agitador rotativo. O tipo  
de inóculo foi o de suspensão de esporos não germinados. O cresci-  
mento celular foi determinado por peso seco e as características  
morfológicas do micélio observadas por preparação a fresco. Açúca-  
res redutores totais foram determinados pelo método Nelson<sup>1</sup> e áci-  
do cítrico pelo método de Marrier & Boulet<sup>2</sup>.

**RESULTADOS E CONCLUSÕES:** Foram testados 5 níveis de ferrocianeto  
(40, 45, 50, 55 e 60 ppm) para a obtenção do crescimento desejado, e  
50 ppm apresentou os melhores resultados de produção (16,1 g/l) e  
conversão (49%). As características ideais foram observadas em to-  
dos os tratamentos, exceto 40 ppm, no qual houve formação de micélios  
com hifas demasiadamente longas e pouco resistentes, resultando  
em baixos valores de produção e conversão (1,6 g/l e 4%). O hidrolí-  
sado, com 50 ppm de ferrocianeto, foi suplementado com  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (1 g/l),  
 $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (2 g/l),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,25 g/l) e suas combinações. Nos tra-  
tamentos contendo  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  obteve-se 20 g/l de ácido cítrico e no  
hidrolisado não suplementado (controle), 16,7 g/l.  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e  
 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , isoladamente e combinados apresentaram valores de 17,6  
a 18,1 g/l. Em relação à conversão, obteve-se 40% para  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e  
 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  com  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e 52% para o controle. Os demais não diferi-  
ram do controle. Na presença dos três nutrientes obteve-se os me-  
nores valores de produção e conversão (14,9 g/l e 40%). Os resul-  
tados indicam a necessidade de um controlador de crescimento do fun-  
go para a produção de ácido cítrico em hidrolisado celulósico de  
bagaço de cana-de-açúcar, e que sua suplementação com  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  pro-  
porciona maior produção de ácido.

1. NELSON, N. Biol. Chem. 153:357, 1944

2. MARRIER, J.R. & BOULET, M. J. Dairy Sci. 41:1683, 1958

"EFEITO DA AGITAÇÃO NA PRODUÇÃO DE ÁCIDO LÁTICO A PARTIR DO  
HIDROLISADO HEMICELULÓSICO DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR"

AUTORES: S.S.Silva & I.M. Mancilha

Centro de Biotecnologia e Química - FTI - Lorena - SP

OBJETIVOS: Aproveitamento do hidrolisado hemicelulósico do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de ácido lático.

MATERIAL E MÉTODOS: O hidrolisado hemicelulósico foi obtido do bagaço de cana-de-açúcar embebido em 35 mM de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, pré-tratado por "steam-explosion" a 190°C/5 min. Microorganismo utilizado : *Lactobacillus xylosus* NRRL.B.4449. O inóculo foi obtido após o cultivo das células em 100 ml do hidrolisado adicionado de sais e extrato de levedura (2,5 g/l) a 30°C/21 h. As fermentações foram conduzidas em fermentador de 1 litro tipo MULTIGEN (New Brunswick Scientific Co.) a 30°C/120 horas sob pH controlado 5,5, em diferentes agitações. Periodicamente amostras foram retiradas para avaliação do crescimento celular, dosagem de ácido lático e de carboidratos redutores totais (CRT).

RESULTADOS E CONCLUSÕES: O efeito da agitação na fermentação láctica do hidrolisado hemicelulósico por *L.xylosus* revelou que, nas condições experimentais utilizadas, a produção de ácido lático foi favorecida com o decréscimo da velocidade de agitação. Verificou-se que o maior consumo de CRT (71%) e o maior rendimento em ácido lático ( $\gamma_{P/S}$  0,78) ocorreu quando a agitação do meio foi de 200 rpm, enquanto que, as menores velocidades específicas de crescimento ( $\mu_x$  0,10 h<sup>-1</sup>) e de produção de ácido ( $\mu_p$  0,20 h<sup>-1</sup>) foram obtidas em maiores velocidades de agitação. Os baixos rendimentos em ácido lático observados quando *L.xylosus* foi cultivado sob agitação de 400 rpm, podem ser explicados principalmente pelo efeito tóxico de O<sub>2</sub> dissolvido no meio. Esta toxicidade pode ser atribuída à formação de radicais superóxidos, os quais influenciaram negativamente no metabolismo celular.

ESTUDO MICROBIOLÓGICO DA FERMENTAÇÃO LÁCTICA DE CENOURA (*DAUCUS CAROTA* L.), COM ACIDIFICAÇÃO INICIAL DA SALMOURA.

J.N. SHIRAKI, C.H. FUNAI & J.S. GOLDONI

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP.

Objetivou-se no presente trabalho fazer o monitoramento microbiológico da fermentação láctica de cenoura, acidificando-se a salmoura de acondicionamento para atingir o nível de pH ao redor de 4,5, empregando-se os ácidos láctico e cítrico. Como controle efetuou-se a fermentação natural sem a adição de agente acidificante, tendo sido as fermentações desenvolvidas simultaneamente e sob as mesmas condições ambientais. No decorrer das fermentações fez-se contagens microbianas para verificar: população total, bactérias lácticas, bactérias do gênero *Leuconostoc*, cocos sal-tolerantes, coliformes, bactérias do grupo butírico (NMP), bactérias halofílicas obrigatórias (NMP) e leveduras.

Através dos resultados obtidos constatou-se, em todos os tratamentos efetuados, a presença desses grupos de microrganismos. A testemunha, no início da fermentação, apresentou contagem maior para: população total, bactérias do gênero *Leuconostoc*, cocos sal-tolerantes e coliformes.

Embora não se tenha efetuado a análise estatística dos dados, depreendeu-se que as fermentações tiveram comportamentos semelhantes, com aumentos e oscilações das populações e, no final do processo fermentativo, mostraram a tendência em diminuir as suas contagens.

MELHORIA FERMENTATIVA DE ZYMOMONAS MOBILIS PELA FUSÃO  
DE ESFEROPLASTOS

G.M.T.Calazans; J.O.F.Morais; J.M.Araújo; E.M.Rios e  
M.F.V.Q.Sousa.

Departamento de Antibióticos, UFPE.

Foram obtidos esferoplastos de Zymomonas mobilis partindo-se das culturas Ag11 e ZAP, por tratamento combinado com lisozima-EDTA e glicina. Feita a fusão de esferoplastos viáveis de Ag11 (levana<sup>-</sup>) com esferoplastos inativados (65°C) de ZAP (levana<sup>+</sup>) resultaram colônias levana<sup>+</sup> origens da série ZAG. Das amostras ZAG usaram-se as ZAG-6 e ZAG-12 para comparação com as cepas parentais por antibiogramas e fermentações sob condições de "stress" (38°C e 18% sólidos solúveis). Antibiogramas realizados em meio sólido (glicose-extrato de levedura) por incorporação das drogas ao meio e deposição superficial das suspensões microbianas. Resultados: As amostras ZAG-6 e ZAG-12 são mais resistentes à penicilina e eritromicina que as parentais; e mais resistentes à tetraciclina e gentamicina que a Ag11 (receptora). Quanto a fermentações, a ZAG-12 revelou-se mais eficiente que as demais (73,7% do rendimento teórico, contra 68,3% da ZAG-6, 66,1% da ZAP e 50,9% da Ag11).

Esses resultados sugerem que as amostras ZAG são produtos geneticamente modificados de Ag11 e ZAP.

Teores de lipídios e polissacarídios de Saccharomyces cerevisiae em diferentes concentrações de etanol produzido.\*

F.P.de França & S.G.F.Leite

Departamento Engenharia Bioquímica-Escola de Química/UFRJ

Foram realizadas fermentações em batelada com alimentação contínua na vazão de 60 ml/h com caldo de cana adicionado de açúcar cristal perfazendo 305 g/l de substrato no meio de alimentação. Essa condição permitiu a formação de diferentes concentrações de etanol por Saccharomyces cerevisiae, objetivando a quantificação do teor lipídico e polissacarídico das células nos diferentes teores de álcool produzido. O caldo foi clarificado e fortificado com  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  e extrato de levedo. Amassa celular foi quantificada por peso seco relacionada com absorvância a 400 nm; unidades formadoras de colônias pelo método pour-plate em gelose Sabouraud; substrato, após hidrólise ácida, pelo método da glicose-oxidase; etanol por cromatografia gasosa, segundo Goel & Pamment, sendo o etanol interno calculado por equação proposta por Dasari et al. e o volume celular medido conforme técnica de Borzani & Vairo; lipídios após extração com solventes (Barreto-Bergter et al.) e polissacarídios após hidrólise alcalina das células e precipitação etanólica (Barreto-Bergter & Travassos).

No decorrer do processo não ocorreu inibição da síntese de lipídios, evidenciando-se, entretanto, significativa diminuição da concentração lipídica quando o valor de álcool foi 106 g/l. A partir de 87 g/l de etanol, ocorreu também diminuição de polissacarídios celulares, mostrando ter havido remoção dos açúcares das células. A viabilidade destas células não sofreu influência, entretanto foram incapazes de produzir maior teor alcoólico. Conclui-se portanto que a modificação na composição celular leva à diminuição da capacidade fermentativa.

\* Auxiliado pelo CNPq

ADAPTAÇÃO DE Saccharomyces cerevisiae  
À DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ETANOL

E. Jessouroun & F. Yokoya (\*)

Pretende-se estudar a sensibilidade de uma cepa de S. cerevisiae isolada de uma usina de álcool, através da avaliação de sistemas fermentativos aerado e não aerado, em ciclos fermentativos consecutivos empregando-se 20% de glicose.

Após cada ciclo, foram feitas curvas de acidificação utilizando-se suspensões de células, 20% de glicose e 0,2,4,6,8 e 10% de etanol. A medida da sensibilidade ao álcool foi avaliada pelo comportamento de levedura durante as curvas de acidificação, empregando-se as diferentes concentrações de etanol.

Observou-se uma adaptação crescente das células ao etanol, nos dois sistemas, ao longo dos ciclos fermentativos. Este fenômeno foi analisado através dos coeficientes angulares obtidos pela relação entre os valores de pH finais e concentrações de etanol testadas nas curvas de acidificação.

Os resultados obtidos contrariam a literatura que faz referência ao desenvolvimento de maior resistência ao etanol em S. cerevisiae cultivadas em presença de oxigênio.

(\*) Trabalho desenvolvido com auxílio da FAPESP.

Comprovação da permeação do etanol em células de Saccharomyces cerevisiae \*

S.G.F. Leite & F.P. de França

Dept<sup>o</sup> Engenharia Bioquímica-Escola de Química

Foram realizados experimentos com 9 diferentes amostras de leveduras em baixo teor de substrato (24g/l e em condição favorável à fermentação (154g/l). Diferentes teores de etanol (0 a 83g/l) foram adicionados ao meio. Nas duas condições foi verificado o efeito do álcool adicionado e do álcool produzido no possível acúmulo intracelular. O meio de cultivo empregado foi caldo de cana de açúcar clarificado, fortificado com 2g/l de  $(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4$  ou diluído e enriquecido com nutrientes quando baixa concentração de açúcar foi requerida. Foram quantificados: substrato, após hidrólise ácida, pela glicose-oxidase; etanol por cromatografia gasosa, segundo Goel & Pamennt. O etanol externo foi determinado no sobrenadante e o interno, na suspensão celular de acordo com Dasari et al., sendo a fração volumétrica celular medida segundo técnica de Borzani & Vairo.

A influência da crescente adição de álcool no meio foi evidenciada pelo aumento do teor final de substrato detectado e pela diminuição do produto formado para todas as amostras estudadas. Nenhuma das linhagens acumulou etanol nos experimentos realizados. Ficou bastante evidenciada a permeação do produto, tendo em vista que a concentração interna foi sempre próxima da concentração de álcool no meio, mesmo quando a produção foi muito baixa. Todas as amostras mostraram-se sensíveis à adição de 83g/l de etanol no meio, quando se verificou atividade metabólica nula.

\*Auxiliado pelo CNPq

## ESTUDO GENÉTICO DA TOLERÂNCIA AO ETANOL EM LEVEDURAS

L.Gimenez Jr.; F.C.A.Tavares

ESALQ/USP-Dpto de Genética-Apoio FAPESP

Na fermentação alcoólica a inibição pelo produto é considerado um sério problema, principalmente devido ao seu efeito sobre a fisiologia e sobre a cinética do processo. A tolerância ao etanol, por conseguinte, vem sendo considerada uma característica importante para o melhoramento de leveduras. Apesar disto, existem informações limitadas quanto à base genética da tolerância ao etanol, verificando-se também dificuldades metodológicas de avaliação e seleção de linhagens. Com o objetivo de estudar estes aspectos, utilizando-se de metodologia que permite associar a inibição pelo etanol entra e extracelular, selecionaram-se sete linhagens, das quais duas contrastantes foram utilizadas na análise genética. Para tanto a inibição pelo etanol foi avaliada, obtendo-se dados sobre as linhagens parentais, o híbrido resultante do seu cruzamento e linhagens segregantes obtidas de meioses completas. Associasse neste estudo a avaliação quantitativa da produção de etanol e a metodologia de análise de tetrades. A análise estatística, em blocos ao acaso e três repetições, compreendeu completamente o desdobramento das fontes de variação e testes de significância.

Com este trabalho obtivemos uma noção da base genética do caráter, constatando uma possível ligação entre o gene estudado e o condicionador da reação sexual. Também podemos chegar a um método eficiente para avaliação deste caráter quantitativo.

INDUÇÃO, ISOLAMENTO E SELEÇÃO DE MUTANTES DE Zymomonas mobilis CP4 MELHORES PRODUTORES DE ETANOL À 40°C.

J.D.G. Vieira, W.V: Guimarães, D.O. Silva  
LAB. MICROBIOLOGIA-DBG, UFV, M.G.

Visando melhorar a produção de etanol à 40°C, células de Z. mobilis CP4 foram tratadas com 50ug/ml de nitrosoguanidina por 1 hora e incubadas em meio ágar RM, por 48-72 horas a 30°C. Cento e nove colônias foram transferidas pela técnica de réplica para ágar RM e incubadas à 30, 40 e 42°C. Observou-se que 8 isolados cresciam à 40-42°C. O tempo de geração destes isolados e da estirpe original foram determinados, tendo sido observado que todos os isolados possuíam um tempo de geração menor que a original. Os 8 isolados foram testados quanto a capacidade de produzir etanol à 40°C em meio RM-sacarose 25%. Após 24 horas de fermentação, alíquotas foram analisadas quanto ao consumo de sacarose e produção de etanol. A análise estatística dos resultados, demonstraram não haver diferença significativa entre os isolados e a original. Três isolados que apresentaram menor tempo de geração, mais a estirpe original, foram testados em caldo de cana-de-açúcar, durante 48 horas. Observou-se que 2 deles apresentaram uma produção maior e mais rápida que a estirpe original.

CAPES/CNPq

## SELEÇÃO DE LEVEDURAS PRODUTORAS DE ETANOL

I.M.G.F.Fonseca; E.M.Rios\*; J.O.F.Morais\*; R.V.Antunes e T.L.V.Nery.

Fundação Instituto Tecnológico de Pernambuco - ITEP.

\*Departamento de Antibióticos, UFPE.

Setenta e oito amostras de leveduras foram avaliadas em meio a base de melaço + caldo de cana quanto a suas capacidades fermentativas a temperaturas de 35°C, 40°C e 42°C. Os valores máximos de perda de massa (método a dotado para a avaliação) em 73,5 ml do meio fermentante foram, respectivamente: 0,91g, 0,81g e 0,73g, após 48h.

Onze amostras deste conjunto de leveduras (9 de Saccharomyces cerevisiae e 2 de S. chevalieri) e mais 6 leveduras contaminantes de fermentações alcoólicas industriais (S. norbensis, Candida curiosa, C. sake, C. lambica, Pichia membranaefaciens e Kluyveromyces sp.) foram testadas quanto a suas resistências a drogas (de uso terapêutico: cetoconazol, lauril-sulfato sódico de mepartricina e nistatina e biocidas de emprego industrial: um derivado de amônio quaternário e um organo-sulfuroso), em meio sólido a base de melaço. As drogas foram incorporadas ao meio em concentrações de 1 a 50 ppm (UI/ml, no caso de nistatina e mepartricina) e os resultados lidos após incubação de 48h a 35°C. Nistatina e mepartricina exibiram maior poder de inibição que o cetoconazol; as leveduras produtoras de etanol mostraram-se mais sensíveis a estas drogas. O derivado de amônio quaternário, usado até 30 ppm, revelou-se inócuo, enquanto o organo-sulfuroso causou inibição a partir de 5 ppm.

Foram investigadas as resistências de 4 amostras de leveduras ao tratamento ácido (pH 2,4 por 3,5h). As reduções de viabilidade celular, quantificadas por contagem de colônias em meio de melaço foram: 9,2%, 12,5%, 13% e 18,4%.

SELEÇÃO DE CULTURAS DE Z. MOBILIS EM CONDIÇÕES ADVERSAS DE FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA E TESTE DE RESISTÊNCIA DESSAS CULTURAS A ALGUNS ANTIBIÓTICOS

M.F.V.Q.Sousa; G.M.T.Calazans; J.O.F.Morais; R.M.Cesário\* e T.L.V.Nery\*

Departamento de Antibióticos, UFPE

\*Fundação Instituto Tecnológico do Estado de Pernambuco

Este trabalho tem dois objetivos: 1º) Selecionar, dentre 17 culturas de Z. mobilis, a que apresenta a maior eficiência de fermentação em caldo misto a Brix 18 e temperatura de 38°C; 2º) Testar essas mesmas culturas quanto à resistência a vários antibióticos, visando a um possível emprego industrial em meios não esterilizados.

As culturas foram conservadas em meio de Swings & de Ley (SDL) e as fermentações feitas em frascos de Erlenmeyer de 250 ml não agitados, contendo 4 ml de inóculo e 170 ml de meio a base de melaço e caldo de cana a Brix 18, enriquecido com  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (1g/l) e  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (1g/l). O meio de fermentação não foi esterilizado mas protegido contra contaminações por Penicilina V (10mg/l), Estreptomicina (20mg/l) e Nistatina (50mg/ml). As fermentações foram acompanhadas por perda de massa, os açúcares redutores totais dosados pelo método do DNS e o etanol, por cromatografia em fase gasosa. Os resultados mostram que a cultura Z-1-85 foi mais promissora nessas condições e apresentou uma eficiência de fermentação de 77,3%.

Os testes de resistência a antibióticos foram realizados em meio sólido SDL e as culturas de Z. mobilis mostraram-se resistentes a Estreptomicina, Gentamicina e a Cloranfenicol (>100 ppm), sensíveis a Tetraciclina e Rifamicina (>1<5 ppm) e com sensibilidade moderada a Penicilina (>25<50 ppm) e a Eritromicina (>75<100 ppm).

Apoio Financeiro: SDI.

## PRODUÇÃO DE ETANOL POR PROCESSO DESCONTÍNUO

ALIMENTADO

J.C.M. Carvalho; E. Aquarone &amp; S.Sato

Depto de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Faculdade de Ciências Farmacêuticas,

Universidade de São Paulo. Cx.Postal 30.786, CEP 01051 São Paulo, SP.

**Objetivos** Verificar a influência da vazão exponencialmente decrescente do tempo de enchimento (T) em processo descontínuo alimentado para produção de etanol, com mosto de melão de cana-de-açúcar nos parâmetros: rendimento e produtividade em etanol.

**Materiais e Métodos:** Trabalhou-se em fermentador de capacidade nominal de 14 L, com volume de operação de 10 L, temperatura de  $32 \pm 1^\circ\text{C}$  e frequência de agitação  $200 \text{ min}^{-1}$ . O inóculo foi preparado com *S. cerevisiae*, na forma de fermento prensado, suspendendo-o em água destilada a fim de preparar 3 L de inóculo com concentração inicial em massa seca ( $X_0$ ) igual a 53 g/L. O melão foi previamente clarificado com  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  e diluído adequadamente a 230 g/L, suplementado com 0,5g/L de uréia e penicilina V ácida na concentração de 500 UI/L. O pH foi corrigido para 4,5 a 5,0. O volume de mosto adicionado foi de 7,0 L, obedecendo-se a seguinte equação de adição:  $F = F_0 \cdot e^{-Kt}$ , onde  $F(\text{L/h}) =$  vazão no tempo  $t$ ;  $F_0(\text{L/h}) =$  vazão inicial,  $e = 2,72$ ;  $k(\text{h}^{-1}) =$  constante de adição e  $t(\text{h}) =$  um tempo genérico ( $0 \leq t \leq T$ ).

**Resultados:** Quando  $T = 5 \text{ h}$  obteve-se para  $K = 0,4 \text{ h}^{-1}$ ,  $P_e = 8,4 \text{ g/Lh}$ ;  $K = 0,6 \text{ h}^{-1}$ ,  $P_e = 8,7 \text{ g/Lh}$ . Quando  $T = 7 \text{ h}$ , obteve-se: para  $K = 0,4 \text{ h}^{-1}$ ,  $P_e = 8,8 \text{ g/Lh}$ ;  $K = 0,6 \text{ h}^{-1}$ ,  $P_e = 8,9 \text{ g/Lh}$ .

**Conclusões:** Os rendimentos em etanol foram praticamente iguais nas diversas variáveis estudadas. As produtividades em etanol para vazões exponencialmente decrescentes foram maiores que para vazões constantes.

Apoio Financeiro: FAPESP

AVALIAÇÃO DA FLORA BACTERIANA EM UMA INDÚSTRIA SUCRO-ALCOOLEIRA DURANTE UMA SAFRA.

J. R. PILON, M.C. BERTOLINI

Instituto de Química, UNESP, 14.800 - Araraquara - SP

O processo de produção industrial de etanol ocorre principalmente com a utilização das leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces uvarum*. No decorrer de uma safra, a levedura original sofre contaminações principalmente com bactérias e outras leveduras. Com o objetivo de se avaliar a contaminação bacteriana de uma indústria alcooleira da região, amostras foram coletadas em diferentes locais da usina durante a safra de 1988 e, após diluição, plaqueadas nos meios "Plate Count Agar", "Main Rugosa and Sharp Agar" e caldo de cana suplementado com extrato de carne 1%. Diferentes colônias, com relação a cor, forma e aspecto foram isoladas, purificadas e classificadas de acordo com as suas características morfológicas e fisiológicas. A população bacteriana contaminante foi predominante Gram positiva (97%) e correspondem aos gêneros *Bacillus* (47%), *Listeria* (17%), *Pseudomonas* (3%), *Clostridium* (3%), *Lactobacillus* (11%), *Leuconostoc* (3%) e bactérias não classificadas (19%). Das amostras coletadas, a água de lavagem de cana apresentou maior diversidade de contaminação bacteriana. A avaliação da sensibilidade das bactérias em relação aos antibióticos ampicilina, kanamicina, tetraciclina e penicilina G, mostrou que o antibiótico kanamicina é o mais eficiente no controle da população bacteriana, uma vez que 94% das bactérias são sensíveis, seguido de tetraciclina (80%). Em relação às bactérias correspondentes a um mesmo gênero, a sensibilidade varia com os diferentes antibióticos utilizados.

CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DE BIOCIDAS USADOS NAS INDUSTRIAS SUCRO-ALCOOLEIRA DE PE., PARA CEPA DE ENTEROBACTERIACEAS.

C.A.M.ESCOBAR;G.M.CAMPOS TAKAKI;E.M.M.RIOS;J.O.F. MO-RAIS.

Depto. Antibióticos - CCB-UFPE.

Foram determinadas concentrações inibitórias mínimas de Enterobacteriaceas frente a quatro biocidas mais utilizados nas destilarias de PE. Todas as cepas apresentaram resistência ao Bactol-Q na mais alta concentração utilizada-100ppm. De modo geral, concluiu-se que as Enterobacteriaceas quando testadas frente aos outros biocidos apresentaram os seguintes resultados: Busan 881 cerca de 58% das cepas foram resistentes a máxima concentração; Busan 1001 foi obtido 75% de resistência a mesma concentração(100ppm) Entretanto, o Busan 887 apresentou 42% das cepas sensíveis a uma concentração entre 10-25ppm; 25% demonstraram inibição para concentração entre 25-50ppm e apenas uma cepa apresentou resistência a concentração de 50-75ppm.

ISOLAMENTO, CARACTERIZAÇÃO E SENSIBILIDADE A DROGAS POR BACILLUS CONTAMINANTES DA FERMENTAÇÃO<sup>1</sup> ALCOOLICA.

C.A.M.ESCOBAR; G.M.CAMPOS TAKAKI; E.M.M.RIOS; J.O F. MORAIS.

Depto. de Antibioticos - CCB-UFPE

Quarenta amostra de Bacillus foram isolados a partir de fermentações industriais sucro-alcooleiras de PE. Foram pesquisados suas características morfológicas e bioquímicas dos espécimens. Foram realizadas concentração inibitória mínima (CIM) para penicilina e tetraciclinas, bem como; agentes biocidas (A,B,C,D) todos usualmente utilizados em processos industriais. Os resultados obtidos demonstraram que 32 cepas correspondiam a Bacillus subtilis, 4 B. pumilus; 2 B. licheni formis; 1 B. cereus; 1 B. brevis.

No teste de atividades com biocidas essas apresentaram comportamento diferentes, variando o grau de resistencia a partir de 5ppm. a superior a 100ppm.

Sendo possível indicar que B. cereus foi // o que se apresenta mais sensível aos testes de atividade.

SCROTIPOS DE STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE ISOLADOS DE LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO (LCR).

A.E. TAUNAY, R. AUSTRIAN, I.M. LANDGRAF, M.F.P. VIEIRA & C.E.A. MELLES.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ - SÃO PAULO.

Desde 1977, o Instituto Adolfo Lutz (IAL) tem participado de um levantamento que tem por finalidade identificar os tipos de S. pneumoniae ou pneumococo isolados de infecções causadas por esta bactéria. Esse estudo visa conhecer a prevalência dos tipos de pneumococos que podem ocorrer em diferentes áreas geográficas e, no presente caso, se limitou à cidade de São Paulo. As cepas de pneumococo isoladas foram encaminhadas ao Dr. Robert Austrian do WHO Pneumococcal Reference Center, da Universidade de Pensilvânia, Estados Unidos, para identificação sorológica. Os resultados desta sorotipagem são apresentados e analisados em relação à prevalência, incidência em diferentes faixas etárias e às estações climáticas, no período de 1977-1988. Cepas de pneumococo isoladas do LCR, em número de 1.000, foram identificadas sorologicamente em 60 sorotipos, obedecendo a nomenclatura dinamarquesa. A maior frequência foi dos sorotipos 1, 6B, 18C, 14, 5, 3, 6A, 23F, 19F, 12F. Estes sorotipos distribuídos segundo faixas etárias demonstraram incidência variável, notando-se uma certa peculiaridade, ou seja, a grande incidência do sorotipo 6B na faixa de zero a 2 anos, do sorotipo 1 na faixa de 3 até 50 anos, e do sorotipo 3 na faixa acima de 50 anos. Nos 12 anos considerados, 25 sorotipos apresentaram uma certa uniformidade na frequência; o mesmo foi observado com referência às estações climáticas, apenas com um número maior de infecções meningéas causadas por pneumococo nos meses mais frios. Considerando a gravidade das infecções pneumocócicas, notadamente as meningites, e a pouca informação relativa aos sorotipos pneumocócicos que ocorrem na região, considerou-se de grande importância atender à solicitação de participar nesse levantamento, pois as informações quanto aos sorotipos são orientação para a produção de uma vacina que contenha os polissacarídeos pneumocócicos mais frequentes na região de sua aplicação.

## ESTREPTOCOCOS ISOLADOS DO SANGUE E OUTROS FLUIDOS ORGÂNICOS

A.A. BORGES-NETO; S.E.L. FRACALANZZA; L.M. TEIXEIRA; M.C. de MATTOS & C.E. LEVY. Departamento de Microbiologia Médica do IM - UFRJ e Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP.

Os estreptococos são importantes agentes etiológicos de uma variedade de processos infecciosos no homem. Em infecções de vias aéreas superiores e de pele destaca-se a participação dos estreptococos beta hemolíticos do grupo A, enquanto que em fluidos orgânicos, os estreptococos mais frequentemente isolados são os alfa e não hemolíticos. Nos últimos anos, esses microrganismos tem sofrido uma série de modificações importantes na sua biologia e taxonomia, sendo dessa forma importante uma caracterização precisa em particular daqueles isolados de infecções mais graves. No período de outubro de 1986 a dezembro de 1988 foram estudadas 190 amostras de estreptococos isoladas de sangue (150 amostras) e outros fluidos orgânicos (líquor - 34 amostras e líquido pleural - 6 amostras) no Laboratório do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP. As fontes de estreptococos beta hemolíticos (30 amostras) foram sangue (26 amostras) e líquido (4 amostras). A identificação sorológica, feita através de reações de precipitação em capilar e/ou aglutinação pelo látex, permitiu a caracterização dos grupos A (15 amostras, 13 em sangue e 2 em líquido), B (9 amostras, 8 em sangue e 1 em líquido), C (2 amostras, apenas em sangue) e G (4 amostras, 3 em sangue, 1 em líquido). Entre as amostras de estreptococos não beta hemolíticos (160 amostras), 97 foram identificadas presuntivamente como Streptococcus pneumoniae (72 de sangue, 22 de líquido e 3 de líquido pleural) através dos testes de susceptibilidade a optoquina e bile solubilidade. As 42 amostras de estreptococos do grupo D foram inicialmente identificadas presuntivamente através do teste da bile esculina, sendo posteriormente confirmadas por testes sorológicos. A diferenciação entre estreptococos do grupo D (9 amostras, 6 em sangue e 3 em líquido) e enterococos (33 amostras, 28 em sangue, 3 em líquido e 2 em líquido pleural), assim como a classificação em espécies foi baseada nos resultados do teste de PYR e testes fisiológicos, respectivamente. As 21 amostras classificadas como estreptococos viridans (18 isoladas de sangue, 2 de líquido e 1 de líquido pleural) foram diferenciadas em espécies de acordo com seu comportamento fisiológico. Os pneumococos e enterococos, respectivamente foram os estreptococos predominantes nos fluidos orgânicos analisados.

Trabalho realizado com auxílio do CNPq, FINEP e CEPG-UFRJ

ESTREPTOCOCCIAS EM PACIENTES DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO - USP.

B.C.S.Cerqueira\*, M.T.Junqueira\*, M.L.Silva\*, A.A.M.Gonçalves\* & C.E.Levy\*\*.

\*Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, \*\*Hospital das Clínicas da FMRP.

As infecções estreptocócicas, segundo as estatísticas mundiais, estão entre aquelas que mais afligem a espécie humana em ordem de prevalência. Os estudos sobre estas infecções constituem uma das linhas básicas de pesquisa para a Disciplina de Microbiologia do Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto há três décadas. A partir de março de 1981 passamos a identificar as amostras isoladas de pacientes do HC-FMRP. Foi feita a classificação antigenica das amostras por precipitação em tubo capilar com anti-soros específicos para grupos A, C e G. O polissacarídeo das amostras foi obtido pela extração enzimática pelo Streptomyces albus, preconizado por maxted. Os anti-soros usados no reconhecimento dos grupos A, C e G foram preparados no laboratório da Disciplina de Microbiologia segundo técnicas e recomendações do "Center for Disease Control" e "Cross Infection Reference Laboratory". Foram classificadas 761 amostras de Streptococcus beta-hemolíticos de pacientes do Hospital das Clínicas provenientes de diversos locais anatômicos: 293 de orofaringe, 122 de lesões de pele, 111 feridas ortopédicas, 36 de sangue, 27 de urina, 172 de outras secreções. Das amostras classificadas 548 foram identificadas como Streptococcus pyogenes, 69 como grupo C, 73 grupo G e 71 não reagiram com nenhum dos soros testados (não A, C, G). As amostras de Streptococcus pyogenes predominaram em lesões de pele, enquanto que as Não A, C, G em urina.

## ANTAGONISMO ENTRE S. AUREUS E ESTREPTOCOCOS $\beta$ HEMOLÍTICOS DO GRUPO A

A. T. Nami & L. C. Benchetrit

Centro de Referência para Estreptococos. Instituto de Microbiologia da UFRJ.

O antagonismo microbiano é um fenômeno biológico onde certas espécies bacterianas podem interferir no crescimento de outras. Essa interferência deve-se possivelmente a formação de bacteriocinas com propriedades antibióticas.

Uma amostra de S. aureus e de S. pyogenes, isoladas de um caso de infecção mista na pele, foram utilizadas neste estudo. A interferência foi pesquisada, utilizando-se tanto o crescimento em meio sólido quanto em meio líquido. Para os testes em meio sólido, uma das amostras foi semeada de forma a se obter um tapete, enquanto que a outra foi posteriormente depositada em "spot" e, vice-versa.

Os estudos em meio líquido foram realizados a partir da mistura dos microrganismos em um mesmo caldo de cultivo. O crescimento foi monitorado através da retirada de alíquotas em tempos determinados (0, 3, 6 e 24hs) para a contagem do número de células viáveis e posterior comparação com a curva de crescimento de cada uma das amostras.

Os resultados obtidos revelaram uma inibição parcial somente do S. pyogenes, tanto no crescimento sobre a forma de tapete, quanto em "spot". Em meio líquido pôde-se observar um considerável declínio no número de colônias de estreptococos, enquanto que a amostra de S. aureus manteve seu crescimento normal, quando comparado com a curva controle. Sendo assim, pôde-se detectar uma inibição de S. pyogenes pela influência de S. aureus com a possível produção de uma bacteriocina, o que caracterizará o fenômeno antagônico entre as duas espécies.

Órgãos financiadores: CNPq, FINEP/PADCT e CEPG da UFRJ

OPACITY-FACTOR NEUTRALIZATION TEST: AN ADDITIONAL MARKER TO IMPROVE THE CHARACTERIZATION OF GROUP A STREPTOCOCCI.

L.C. Benchetrit & D.R. Johnson

WHO Collaborating Center for Reference and Research on Streptococci, University of Minnesota, Minneapolis, USA & Institute of Microbiology of the Federal University, Rio de Janeiro.

M and T-typing of strains of group A streptococci were performed by standard techniques. All HCl extracts were tested for opacity factor (OF) and positive strains for specific inhibition of OF. Only 26% of the streptococci were M-typable. Five of the M-negative, OF-positive strains were OF-typable (types 48, 58 and 73). Two of the OF-positive, T-non-typable strains (27%) were tested with a set of 60 human OF antisera. One was not inhibited by any of the sera. The other was inhibited by 12 different sera all of which shared antibody to M-48 OF. The remaining non-typables were all screened for M-48 but no further positives were found.

Many strains were T-typable only after repeated attempts using mild digestion techniques. Classification of streptococci by inhibition of the OF using human sera remains a valuable additional means of recognizing strains difficult to type.

Study supported by grants from CNPq, FINEP/PADCT, CAPES & CEPG / UFRJ.

CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA DE ESTREPTOCOCOS DO GRUPO B DE ORIGENS HUMANA E ANIMAL.

T.G.F.M. Batista & L.C. Benchetrit

Centro de Referência para Estreptococos. Instituto de Microbiologia da UFRJ.

Os estreptococos do grupo sorológico B (EGB) podem ser identificados presuntivamente através de utilização de vários testes fisiológicos.

Neste trabalho estudamos amostras de EGB frente aos seguintes testes: CAMP; sensibilidade a bacitratina e ao Sulfametoxazol trimetoprim; crescimento em meio hipersalgado (6,5%); hidrólise da bile esculina; hidrólise do hipurato de sódio e utilização da lactose.

Não houve diferenças significativas na capacidade de produzir hipuricase, crescer em meio contendo NaCl, e na resistência ao Sulfametoxazol trimetoprim entre cepas humanas e bovinas. Porém, somente 45% das cepas humanas utilizaram a lactose, 17% das bovinas foram resistentes a bacitracina e 15% destas escureceram o meio de bile esculina.

Diferenças biológicas mais significativas entre essas amostras estão sendo avaliadas.

Órgãos financiadores: CNPq, FINEP/PADCT; CAPES e CEPG da UFRJ

## PRODUÇÃO DE PIGMENTO PELOS ESTREPTOCÓCOS DO GRUPO B

T.G.F.M. Batista; E.M. Ladeira & L.C. Benchetrit

Centro de Referência para Estreptococos, Instituto de Microbiologia da UFRJ.

Os estreptococos do grupo B de Lancefield (EGB), agentes etiológicos de infecções humanas e animais são amplamente estudados devido a sua importância atual nas infecções neonatais. A sua identificação pode ser presuntiva. Dentre os testes presuntivos, a detecção de pigmento vermelho-alaranjado em meios de cultivo contendo amido e peptona é um dos mais específicos para o grupo, já que os demais grupos de estreptococos não elaboram pigmento.

O meio (10ml) utilizado foi descrito por Tapsall & Phillips (Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 7; 225; 1987). O inóculo consistiu de 10 colônias de EGB previamente ativadas em meio de agar sangue. Após incubação por 18h a 37°C, as culturas foram centrifugadas e o sedimento bacteriano lavado com PBS. Um volume de 0,1ml de solução extratora foi adicionado às bactérias e incubado por 30 min a 37°C. Após incubação e nova centrifugação a leitura visual (coloração das células) foi feita contra fundo branco. Juntamente com as cepas de EGB, uma amostra de grupo A (M12, T12) foi utilizada como controle negativo.

Observou-se 98% de positividade para cepas humanas onde detectamos forte produção de pigmento. Cepas bovinas apresentaram 92% de positividade, mas a produção de pigmento foi menos intensa.

Órgãos financiadores: CNPq, FINEP/PADCT, CAPES e CEPG da UFRJ

## DESENVOLVIMENTO DE UM TESTE PRESUNTIVO RÁPIDO PARA A IDENTIFICAÇÃO DE ESTREPTOCOCOS DO GRUPO B.

L.A. Teixeira; A.M.S. Figueiredo & L.C. Benchetrit.

Centro de Referência para Estreptococos. Instituto de Microbiologia da UFRJ.

Os estreptococos do grupo B de Lancefield (EGB) têm sido apontados como importante agente de infecções neonatais. Nós desenvolvemos um teste capaz de diferenciar o EGB dos demais estreptococos beta-hemolíticos, durante o crescimento em meio líquido. O meio se baseia no princípio bioquímico da alteração do pH, indicado pela mudança de cor de um corante presente no meio (púrpura de bromocresol), e da atividade antimicrobiana do ácido nalidíxico e da gentamicina.

Das 86 amostras testadas, 81 (92%) apresentaram reações positivas em apenas 5 horas. Dos 137 estreptococos pertencentes a outros grupos sorológicos apenas 2 amostras do grupo G apresentaram resultados falso positivos. Nós comparamos esses resultados com os de outros testes rápidos para a identificação de EGB e verificamos que o teste por nós desenvolvido apresenta uma sensibilidade comparável a um teste de pigmento rápido (91%) e um sensibilidade um pouco menor que o método de CAMP-rápido (100%). Entretanto, o nosso método apresenta a vantagem de ser de fácil execução, necessitando de menos etapas para sua realização. Sendo assim, este teste poderia ser uma opção aos testes presuntivos rápidos para identificação de EGB, para utilização na bacteriologia clínica em países em desenvolvimento como o Brasil.

Órgãos financiadores: CNPq, FINEP/PADCT, CAPES e CEPG da UFRJ.

## MEIO PARA ENRIQUECIMENTO E DETECÇÃO RÁPIDA DE ESTREPTOCOCOS DO GRUPO B A PARTIR DE MATERIAL CLÍNICO

L.A. Teixeira; A.M.S. Figueiredo & L.C. Benchetrit

Centro de Referência para Estreptococos. Instituto de Microbiologia da UFRJ.

O estreptococo do grupo B de Lancefield (EGB) tem sido apontado como uma das principais causas de infecções em neonatos. Nós desenvolvemos um meio de enriquecimento, seletivo e diferencial capaz de distinguir os EGBs dos demais estreptococos  $\beta$ -hemolíticos, durante crescimento em meio líquido. O meio se baseia no princípio bioquímico da alteração de pH, indicado pela mudança de cor de um corante presente (púrpura de bromocresol), e da atividade antimicrobiana do ácido nádic e da gentamicina. Swabs vaginais de 130 mulheres, 95 não grávidas e 35 grávidas ou no puerpério, foram inoculados ao meio, incubados a 37°C e a leitura da mudança de cor feita até a 6ª hora de incubação. Os estreptococos  $\beta$ -hemolíticos foram isolados posteriormente em placas contendo meio de agar sangue e grupados sorologicamente. Observamos que a taxa de portadores de EGB entre mulheres não grávidas foi de 18% e de 20% para as mulheres grávidas ou no puerpério. Verificamos que quando a mulher apresentava uma pequena colonização vaginal pelo EGB, o meio falhava para indicar a presença deste estreptococo através da viragem do indicador de pH, entretanto o meio foi capaz de detectar 100% dos EGBs em mulheres maciçamente colonizadas. Uma alta colonização vaginal da parturiente, pelo EGB, pode representar um fator de risco para o neonato. O uso desse meio, no período pré-parto, permitiria a rápida detecção desse microrganismo, alertando o clínico quanto a possibilidade da participação do estreptococo, numa doença que venha a se manifestar na criança, logo após o nascimento.

Órgãos financiadores: CNPq, FINEP/PADCT, CAPES e CERPQ da UFRJ

## ESPECIAÇÃO DE AMOSTRAS DE ESTREPTOCOCOS BETA-HEMOLÍTICOS DO GRUPO C.

B.T. Ferreira; M.C. de Mattos & L.C. Benchetrit.

Centro de Referência para Estreptococos. Instituto de Microbiologia da UFRJ.

Os estreptococos beta-hemolíticos do grupo C são de relevante importância como agentes etiológicos de infecções em animais. Porém atualmente, vários trabalhos têm incriminado os microrganismos desse grupo sorológico como causadores de quadros clínicos em humanos, frequentemente associados a surtos epidêmicos. São diferenciados em 4 espécies: *S. equisimilis*, *S. zooepidemicus*, *S. equi* e *S. anginosus*. Uma quinta espécie, *S. dysgalactiae* difere das demais por ser alfa-hemolítica.

No intuito de avaliar o perfil de incidência das diferentes espécies, 98 amostras de estreptococos do grupo C foram diferenciadas de acordo com a sua habilidade para fermentar a lactose, o sorbitol e a trealose e pelo teste de Voges-Proskauer. Do total de amostras, 15 eram de origem animal e 83 de origem humana. Os testes bioquímicos foram inoculados com uma gota da cultura crescida em caldo "Todd-Hewitt" a 37°C durante 18 h, e incubados à mesma temperatura durante 5 dias.

Das amostras de origem animal 6 foram classificadas como *S. equisimilis* e 9 como *S. zooepidemicus*. Dentre as de origem humana 3 amostras eram de *S. anginosus*, 1 de *S. zooepidemicus* e 79 de *S. equisimilis*.

Órgãos financiadores: CNPq, FINEP/PADCT, CAPES e CEPG da UFRJ.

## DETECTION OF T-PROTEIN ANTIGENS IN GROUP G STREPTOCOCCI

L. C. Benchetrit, A. Efstratiou & G. Colman.

Streptococcal Reference Center, Institute of Microbiology of the Federal University, Rio de Janeiro and Central Public Health Laboratory, London, UK.

Serological typing of streptococci belonging to Lancefield group G was performed using T-antigens and specific agglutinating sera. The typability rate was 73% and the following types were identified: 20, 21, 300, 301, 305, 306, 307 and 7/302. This is the first classification of strains of the streptococci in Brazil.

Determination of such serological types could be useful in epidemiologic studies of streptococcal sore throats since the prevalence of group G in patients with pharyngitis is similar to that for group A and suggests that group G strains might be as pathogenic as group A strains.

Study supported by grants from CNPq, FINEP/PADCT, CAPES & CEPG/UFRJ.

DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DE ENTEROCOCCUS ISOLADAS DE ESPÉCIMENS DE ORIGEM HUMANA, ANIMAL E AMBIENTAL

L.M. Teixeira & C.S. Stern

Departamento de Microbiologia Médica do IM-UFRJ

O crescente significado clínico e epidemiológico dos microrganismos do gênero Enterococcus, aliado a ocorrência de alterações relevantes de sua biologia e taxonomia, tem renovado o interesse no seu estudo e no rastreamento mais preciso das infecções por eles causadas. Neste trabalho, a identificação de 134 amostras de enterococos (incluindo 95 isoladas de espécimens de origem humana, 25 de origem animal e 14 de origem ambiental) foi realizada com base nas mais recentes recomendações. Dentre as fontes das amostras de origem humana destacaram-se: urina, sangue e feridas cirúrgicas. As de origem animal foram isoladas, em sua maioria, de equinos, bovinos e suínos. A identificação presuntiva foi baseada nos resultados dos testes de bile-esculina e de PYR. A caracterização serológica, com o intuito de detectar o antígeno do grupo D de Lancefield, foi feita através de testes de aglutinação em lâmina. Para a identificação a nível de espécie foram empregados testes fisiológicos, incluindo os de hidrólise da arginina, utilização do piruvato, mobilidade a 30°C, VP, produção de ácidos a partir de arabinose, inulina, manitol, melibiose, rafinose, rambnose, sacarose, sorbitol, sorbose, trealose e xilose. Entre as amostras estudadas, foram encontradas representantes de 7 das 12 espécies do gênero. Dentre as de origem humana, predominou a espécie E. faecalis (83 amostras), seguida de E. faecium (5), E. avium (2), E. durans (2), E. gallinarum (2) e E. hirae (2). As amostras de origem animal foram identificadas como E. faecalis (11), E. hirae (10), E. faecium (2) e E. casseliflavus (2). Entre as isoladas de ambientes, foram encontradas 10 pertencentes ao grupo fisiológico II, provavelmente à espécie E. faecalis ou E. faecium, 2 E. hirae, 1 E. casseliflavus e 1 E. gallinarum.

Trabalho realizado com auxílio do CNPq, FINEP e CEPG-UFRJ

LESÕES CARIOSAS ABERTAS COMO FONTE DE S. mutans NA SALIVA DE ESCOLARES DA PERIFERIA DE BELO HORIZONTE

B.Q.Souki; J.C.Noronha; M.L.A.Massara; M.M.G.Faria; V.M.S Villar; A.P.A.Nogueira; G.R.Melo.

Faculdade de Odontologia da UFMG

A presença de sítios de retenção microbiana na cavidade oral pode funcionar como reservatório para os S. mutans, que são constantemente deslocados para a saliva. Os níveis salivares deste microrganismo têm sido utilizados, atualmente, como parâmetro microbiológico na avaliação da susceptibilidade à cárie dentária de indivíduos ou de grupos populacionais.

Assim, procurou-se avaliar a influência das lesões cariosas abertas sobre as taxas de S. mutans na saliva de escolares da periferia de Belo Horizonte.

Amostras de saliva de 105 crianças (7-8 anos) foram inoculadas em placas de petri contendo ágar mitis salivarius com sacarose e bacitracina, pelo método da espátula (KOHLER e BRATTHALL, 1979). As placas foram incubadas por 48 hs à 37°C em microaerofilia.

Os resultados revelaram que aqueles indivíduos que apresentaram um grande número de lesões cariosas abertas, sem tratamento, têm uma maior possibilidade de estarem muito infectadas pelo S. mutans, e conseqüentemente devem ser mais susceptíveis ao aparecimento de novas lesões.

UTILIZAÇÃO DO MEIO DE CULTURA NOVOBIOCINA-NITRATO-SACAROSE (NNS) NO DIAGNÓSTICO PRESUNTIVO DE S. saprophyticus.

M.L.C.TONDELLA; C.T.SACCHI; S.S.O.BUSCHINELLI; S.T.CASA-GRANDE; M.C.C.BRANDILEONE; L.G.MILAGRES.

Instituto Adolfo Lutz.

A partir de 1970 o S. saprophyticus vem sendo reconhecido como um dos agentes etiológicos de infecções do trato urinário de mulheres jovens, e a sua diferenciação dos demais Estafilococos Coagulase Negativa (ECN) está baseada na sua resistência à novobiocina na concentração de 5 mcg/ml. Para diferencia-lo de outras espécies igualmente resistentes à novobiocina, tais como S. cohnii, S. sciuri e S. xylosus foi testado um meio de cultura líquido contendo novobiocina, nitrato e sacarose. 74 cepas de ECN isoladas de urina foram semeadas neste meio, cujo inóculo foi constituído de uma gota de suspensão com aproximadamente  $6,0 \times 10^8$  bactérias/ml. Após um período de incubação de 24 hs a 37°C em estufa, foram realizadas as leituras pela verificação de crescimento bacteriano, utilização da sacarose e redução de nitrato pela adição dos reativos de GRISS. 49 (66,2%) das cepas estudadas foram diferenciadas como S. saprophyticus pelo meio NNS e 33,8% das cepas corresponderam às demais espécies. Posteriormente todas as cepas foram caracterizadas a nível de espécie, segundo esquema proposto por KLOOS & SCHLEIFER, o que demonstrou que este meio apresenta resultados de valor preditivo de resultado positivo de 100,0%, sensibilidade de 95,9%, especificidade de 100,0% e eficiência de 97,2%. O meio NNS possibilita um diagnóstico presuntivo do S. saprophyticus diferenciando-o dos outros ECN, não somente pela resistência à novobiocina mas também pela sua utilização da sacarose e ausência da enzima nitrato redutase, uma vez que os S. cohnii falham em utilizar a sacarose em 88,0% das cepas, enquanto os S. xylosus e S. sciuri reduzem nitrato em 100,0 e 80,0% das cepas, respectivamente.

BATERIÚRIA POR STAPHYLOCOCCUS COAGULASE-NEGATIVOS

Montelli, A.C.; Decarlis, R.M.S.T.; Michelin, L.A.; Sadatsune, T. & Watanabe, D.S.A.

Faculdade de Medicina e Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu, São Paulo

Pesquisas recentes comprovaram a participação do Staphylococcus saprophyticus na gênese de processos infecciosos do trato urinário. Neste estudo procuramos avaliar sua participação e a de outros Staphylococcus coagulase-negativos como agentes de bacteriúria significativa em pacientes do HC da FMB no período 1984-1986, determinar a sensibilidade a drogas das amostras isoladas e relacionar os dados laboratoriais com aspectos epidemiológicos dos pacientes envolvidos. Após urinocultura quantitativa, a identificação do S. saprophyticus foi realizada pelas características das colônias, provas de coagulase, urease com novobiocina, glicerol com eritromicina e nitratase. Os demais Staphylococcus foram identificados por meio das provas incluídas no esquema simplificado proposto por KLOOS, W.E. & SCHLEIFER, K.H. (J.Clin. Microbiol., 1:82-88,1975). A concentração inibitória mínima (CIM) das amostras foi realizada pelo método da diluição de drogas em meio de cultura sólido (concentrações de 0,1 a 1.000 mcg/ml). Das 11.199 urinoculturas, 3.446 (31%) foram significativas; destas, 167 (5%) corresponderam a Staphylococcus coagulase-negativos, dentre os quais 63 (38%) de S. saprophyticus. Entre as demais amostras encontramos como espécies mais frequentes: S. warneri - 29 (28%), S. epidermidis - 21 (20%) e S. hominis - 16 (15%). Entre os pacientes com S. saprophyticus houve prevalência do sexo feminino (90,5%), da faixa etária 18-30 anos (47,6%) e de casos de ambulatório (92%). Observou-se elevada sensibilidade às drogas testadas em amostras de S. saprophyticus, sobretudo à penicilina G, norfloxacina, gentamicina e amicacina; as maiores taxas de resistência relacionaram-se à fosfomicina e ao sulfazotrim. Para as demais amostras de Staphylococcus coagulase-negativos registraram-se, comparativamente, os maiores índices de resistência aos antimicrobianos testados. Assim, médicos e laboratoristas devem ser alertados para a importância do S. saprophyticus como agente de infecção do trato urinário, principalmente em pacientes não hospitalizados, do sexo feminino e em fase reprodutiva da vida.

PRESENÇA DE MICROORGANISMO ESPIRALADO DIFERENTE DO  
*Campylobacter pylori* NA MUCOSA ANTRAL HUMANA.

G.A. Rocha, D.M.M. Queiroz, E.N. Mendes, A.P. Lage,  
A.J.A. Barbosa

Laboratório de Pesquisa em Bacteriologia - Faculdade  
de Medicina da UFMG

DENT et al. (*Lancet*, 1987, 2:96) descreveram a ocorrência de um microrganismo espiralado diferente do *Campylobacter pylori*, em 3 dentre 1300 pacientes submetidos à gastroduodenoscopia. Nós observamos um microrganismo semelhante no antro de um paciente, quando pesquisávamos *C. pylori* em 30 pacientes com queixas dispépticas. O microrganismo apresentando 3 a 7 espirais, foi visualizado em cortes histológicos de mucosa antral corados pela carbolfucsina. O paciente apresentava gastrite do antro em atividade e *C. pylori* não foi isolado e nem visualizado nas preparações coradas pela carbolfucsina, hematoxilina-eosina e PAP. Todas as tentativas para isolar a bactéria usando ágar sangue e BHM ágar em condições de anaerobiose e microaerofilia falharam. Além disto, a bactéria não apresentou reação imunológica cruzada com *C. pylori* quando o método do PAP foi empregado. Conclusões: Microrganismos espiralados distintos do *C. pylori* podem também estar associados com gastrite antral em humanos.

PESQUISA DE *Campylobacter pylori* NA MUCOSA ANTRAL DE CRIANÇAS COM ÚLCERA DUODENAL.

D.M.M. Queiroz, A.S.T. Carvalho, E.N. Mendes, G.A. Rocha, A.J.A. Barbosa.

Laboratório de Pesquisa em Bacteriologia - Faculdade de Medicina da UFMG.

A associação *Campylobacter pylori*, gastrite e úlcera duodenal é extremamente frequente em adultos, chegando a 100% em algumas casuísticas. Esta associação necessita ser confirmada em crianças, pois existem poucos trabalhos na literatura relativos ao assunto o que provavelmente se deve à incidência muito baixa de úlcera duodenal na infância. Assim o *Campylobacter pylori* foi pesquisado na mucosa gástrica de 12 pacientes com úlcera duodenal (2 0,10 0; 7 a 16 anos; idade média = 12,1 anos). Foram colhidos fragmentos de biópsia do antro e do corpo gástrico para cultura, histologia, urease pré-formada e Gram. *Campylobacter pylori* foi isolado da mucosa antral e oxíntica de 12 crianças (100%) da mesma forma que o teste da urease e a pesquisa do microrganismo em esfregaços corados pelo Gram foram positivos nos 12 pacientes. Foi observada a presença de gastrite antral em 100% dos casos. Por outro lado, a mucosa oxíntica apresentou gastrite apenas em 36,36%. Conclusões - Os resultados do presente trabalho demonstram, que a semelhança do que ocorre com pacientes adultos, o *C. pylori* parece ser o agente da gastrite antral que acompanha a úlcera duodenal em crianças.

VALOR DO TESTE DA UREASE PARA O DIAGNÓSTICO DA PRESENÇA DE *Campylobacter pylori* NA MUCOSA ANTRAL DE CRIANÇAS.

D.M.M. Queiroz, A.S.T. Carvalho, E.N. Mendes, G.A. Rocha, S.B. Moura

Laboratório de Pesquisa em Bacteriologia - Faculdade de Medicina da UFMG

Os métodos de cultura empregados para o diagnóstico da presença de *C. pylori* em biópsias de mucosa gástrica são relativamente caros, complexos e lentos (no mínimo 3 dias) o que obriga o paciente retornar para receber tratamento com base no diagnóstico laboratorial. Como o *C. pylori* produz grande quantidade de urease, foi proposto um método rápido e simples (pesquisa de urease pré-formada) para diagnóstico da sua presença na mucosa gástrica. Trabalhos realizados em adultos demonstram que o método apresenta grande sensibilidade. Entretanto, são raros e controversos os relatos referentes ao valor do teste em crianças. Assim, comparamos o teste da urease (urêia ágar de Christensen) com a cultura para *C. pylori* (BHM ágar) em fragmentos de antro de crianças submetidas à gastroduodenoscopia. A leitura da urease foi feita nas primeiras 24 horas. A cultura e o teste da urease foram negativas em 40 crianças. Nas 17 biópsias de crianças com úlcera duodenal, a cultura e a urease foram positivas em todas. Em 20 crianças com gastrite antral sem úlcera duodenal a cultura foi positiva em 20 e a urease em 17. Nos três casos nos quais a urease foi negativa houve crescimento de número muito pequeno de colônias (4 a 6/placa). O teste da urease mostrou-se sensível e específico para o diagnóstico da presença do *C. pylori* na mucosa gástrica de crianças (Sensibilidade 85%, Especificidade 100%, Valor Preditivo Positivo 100%). Os 3 falsos negativos foram observados em pacientes com gastrite antral sem úlcera duodenal, resultado muito semelhante ao encontrado por nós em adultos.

PESQUISA DE *Campylobacter pylori* EM 100 PACIENTES. ESTUDO PROSPECTIVO II.

C.A. SOLARI; R.S.P. NOGUEIRA; E.M.F. REIS; E. HOFER; C.A. BASÍLIO; C.M.S. RODRIGUEZ VALIDO & L.L. LUNA

Departamento de Bacteriologia-Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ e Hospital São Vicente de Paulo, RJ.

Foram estudados 100 pacientes consecutivos (19 a 80 anos) com queixas digestivas altas, nos quais procedeu-se a exame endoscópico e retirada de 4 biópsias antrais para estudos bacteriológico(2) e histopatológico(2), com objetivo de avaliar o possível envolvimento de *C. pylori* na etiopatogenia gastroduodenal.

Na metodologia empregou-se: a) detecção da urease pré-formada, diretamente da biópsia (HAZELL *et al*, 1987); b) transporte da biópsia em solução de glicose a 20% sob refrigeração para ser submetida a bacterioscopia pelo método de Gram e semeadura em meio de cultura seletivo (GOODWIN *et al*, 1985); c) Hematoxilina-Eosina; e d) coloração pela prata (Steiner). Incubou-se a 35°C em atmosfera de microaerofilia (Envelope GasPak gerador de H<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>, sem catalisador).

Resultados obtidos, discriminados no quadro abaixo:

Endoscopia/ Nºpacientes	H-E	Prata	Cultura	Urease	Gram
Úlceras Gástricas(8)	GCA 7	5	3	7	5
	GCI/N 1/0	-	-	-	-
Úlceras Duodenal(10)	GCA 9	7	5	9	8
	GCI/N 1/0	-	-	-	1/0
UG-UD(2)	GCA 2	2	1	2	2
	GCI/N -	-	-	-	-
OUTROS(21)	GCA 12	10	2	10	11
	GCI/N 4/5	-	1/0	1/1	1/0
GC(30)	GCA 17	14	10	15	11
	GCI/N 13/0	-	2/0	3/0	2/0
NORMAL(29)	GCA 10	6	5	9	7
	GCI/N 9/10	1/0	2/1	3/1	3/1

OBS:GC-Gastrite Crônica;A-Ativa;I-Inativa;N-Normal

**Conclusões:**A incidência de *C. pylori* em pelo menos um teste foi de 67%; positividade da urease(61%) > Gram(52%) > Prata(45%) > Cultura(32%); estreita correlação de *C. pylori* e GCA(82%) em contraposição a GCI(15%) e N(3%); em quase 50% das endoscopias normais identificou-se a presença de *C. pylori*.

AVALIAÇÃO DO MÉTODO DA PASSIVAÇÃO DO COBRE E DO AGAR CEFOXITINA NO CULTIVO DE CAMPYLOBACTER JEJUNI E CAMPYLOBACTER COLI

M.S. Pinheiro; D.S. Gões e A. Tibana

Departamento de Microbiologia Médica do Instituto de Microbiologia da UFRJ

Vários sistemas de obtenção de microaerofilia e meios de cultura seletivos, vem sendo propostos visando a introdução da pesquisa de Campylobacter jejuni e Campylobacter coli na rotina bacteriológica. No presente trabalho, o método da passivação do cobre (Jurgensen, 1981) e o meio de cultura seletivo Agar Cefoxitina proposto por Levi (Tese de Mestrado, 1982), foram avaliados quantitativamente quanto a sua sensibilidade em relação ao cultivo de C. jejuni e C. coli.

Culturas puras de amostras padrão e amostras isoladas a partir de carcaças de frango, foram semeadas nos meios Agar Skirrow, Agar Camp-Bap, Agar Cefoxitina e Agar Sangue. Após incubação a 42°C durante 48 horas em atmosfera de microaerofilia obtida através dos métodos da passivação do cobre, do envelope gerador de gás e do sistema de evacuação e reposição do ar, foi calculado o número de unidades formadoras de colônias por mililitro do inóculo original. Após a avaliação estatística, nenhuma diferença significativa foi observada entre os sistemas de microaerofilia e os meios de cultura seletivos estudados exceto com relação a amostra padrão C. coli, onde verificamos uma interferência pouco significativa dos meios seletivos no seu crescimento. Logo, o método da passivação do cobre e o Agar Cefoxitina constituem-se numa alternativa simples e econômica para o cultivo de C. jejuni e C. coli.

Órgãos financiadores: CNPq, FINEP e CEPG da UFRJ

DIARRÉIAS POR Campylobacter jejuni EM PACIENTES DO HC DE BOTUCATU

Sadatsune, T.; Watanabe, D.S.A.; Decarlis, R.M.S.T.; Cerqueira F<sup>o</sup>, F.J. & Coelho, C.A.R.

Instituto de Biociências e Faculdade de Medicina, UNESP, Botucatu, São Paulo

O microrganismo Campylobacter jejuni, nos últimos anos, tem-se caracterizado pela sua importância clínica e epidemiológica nas gastroenterites. Objetivou-se conhecer a frequência de Campylobacter jejuni em fezes de pacientes com diarreia, assim como sua variação sazonal e correlacionar os dados com os de outros enteropatogênicos. Foram realizadas coprocultura de 219 crianças com diarreia, atendidas na Enfermaria e Ambulatório de Pediatria, e Centro de Saúde-Escola da FMB. Para obtenção de ambiente de microaerofilia requerida no cultivo de Campylobacter utilizou-se metodologia preconizada por MAGALHAES e col. (Rev. Microbiol., 13: 124-5, 1982), no qual foram empregadas soluções de sulfato de cobre, "bombril" e pastilha de sal de fruta; o isolamento e identificação dos enteropatogênicos clássicos foram realizados pelos métodos convencionais. Coproculturas foram positivas em 81 crianças (37%), isolando-se: Campylobacter jejuni (38,3%), Shigella sp (28,4%), E. coli EP (19,8%), Salmonella sp (4,9%); Campylobacter jejuni + E. coli EP (19,8%), Campylobacter jejuni + Shigella sp (2,5%), E. coli E.P. + Salmonella (1,2%). Observou-se assim, que Campylobacter jejuni foi encontrado nas fezes de 37 crianças, correspondendo a 42% do total de agentes enteropatogênicos isolados. Em relação à variação sazonal a frequência de isolamento de Campylobacter jejuni foi alta e constante no decorrer do ano todo. Verificou-se aumento de 15% na elucidação do diagnóstico das gastroenterites bacterianas, quando comparamos os dados obtidos entre as coproculturas tradicionais e aquelas acrescentadas com culturas para Campylobacter jejuni.

**Salmonella:** MICRORGANISMO MAIS FREQUENTEMENTE ISOLADO DAS HEMOCULTURAS REALIZADAS NO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFMG NO PERÍODO DE 07/82 A 06/83.

D.M.M. Queiroz, E.N. Mendes, L.M.H. Resende

Laboratório de Pesquisa em bacteriologia - Faculdade de Medicina da UFMG

No período entre Julho/82 a Junho/83 foram realizadas 372 hemoculturas de pacientes internados no Hospital das Clínicas da UFMG. Em média eram colhidos 4 balões de cada paciente (2 incubados em anaerobiose e 2 em "microaerofilia" método da vela). Quarenta e nove culturas foram positivas (13,17%) tendo sido isolados os seguintes grupos de microrganismos: enterobactérias 23 (46,93%), cocos gram positivos facultativos 15 (30,61%), bacilos gram negativos não fermentadores 2 (4,08%), cocobacilos gram negativos 2 (4,08%), anaeróbios 2 (4,08%) e leveduras 2 (4,08%). Em 4 pacientes (8,16%) foi observada associação de microrganismos. **Salmonella** foi a bactéria mais frequentemente isolada 17 - correspondendo a 34,69% do total, sendo 14 do sorotipo **typhimurium** (82,35%), uma do sorotipo **S. agona** (5,88%), uma **S. oranienburg** (5,88%) e uma **S. typhi** (5,88%). É importante ressaltar que as amostras de **S. typhimurium** não tendem a invadir a circulação, ao contrário de outras salmonelas, como **S. choleraesuis**, **S. dublin** e **S. panama**, que costumam apresentar localização extra-intestinal (SAPHRA et al., 1957, **New Eng. J. Med.**, 256:1128). Entretanto, os resultados do presente estudo, distintos daqueles da literatura internacional, provavelmente se devem à alta incidência, em nosso meio, de associação de Esquistossomose e Salmonelose, com consequentes quadros de Salmonelose Septicêmica Prolongada.

ISOLAMENTO DE YERSINIA ENTEROCOLÍTICA EM RIBEIRÃO PRETO.- ASPECTOS LABORATORIAIS E CLÍNICOS.

C.E.LEVY, V.R.S.PERRONE, M.C.R.ARAÚJO (1), J.E.C. GOES, S.E.HERING (2) & D.P.FALCÃO(3)

(1)Laboratorio de Microbiologia do Hospital das Clínicas da F.M.Ribeirão Preto -USP

(2)Depto de Pediatria da Fac. Medicina R.P.-USP

(3)Fac. Ciencias Farmacêuticas de Araraquara UNESP

No período de agosto de 1987 a março de 1988 foram isoladas 15 cepas de Y. enterocolítica no Lab. Micro. do HC da FMRP-USP. Os meios de cultura utilizados foram: agar Mac Conkey, agar SS, caldo Selenito, com posterior semeadura em agar SS, todos a 37°C, durante 24hs. Para identificação foram empregados os seguintes testes: motilidade (T ambiente e 37°C), citrato, indol, lisina, ureia e comportamento no TSI agar. Caracterização sorológica com soros polivalentes e monovalentes da Probac. Complementação do estudo sorológico e fagotipagem realizadas no Lab de Referência de Yersinias da Fac Ciencias Farmac. de Araraquara.

Resultados: 13 das 15 cepas pertenciam ao biotipo 4, sorotipo O<sup>3</sup> e fagotipo VIII e as duas restantes biotipo 4 sorotipo O<sup>3</sup> e fagotipo IXa, sendo estas duas cepas as primeiras com fagotipo IXa descritas em humanos no Brasil. O teste de sensibilidade aos antimicrobianos pelo método de Kirby-Bauer revelou: 100% de sensibilidade para Amicacina, Cloranfenicol, Fosfomicina, Gentamicina, Sulfametoxazol-Trimetoprim e Tetraciclina e 100% de resistencia das 15 cepas para Ampicilina, Carbenicilina e Cefalotina. As informações e achados clínicos mais relevantes foram:

1).predomínio de casos em crianças (6 menores que 2 anos, 4 entre 2 e 5 anos, 3 entre 5 e 12 anos e 2 casos em adultos. 2).13 casos residentes em Rib. Preto sendo 11 em zona urbana, em bairros diferentes e 2 em zona rural; 1 caso de Barrinha (urbano) e 1 caso de Mococa (rural). 3).Por ocasião do diagnóstico predominavam os seguintes dados clínicos: 60% apresentavam febre nos ultimos 5 dias, 40% dor abdominal e 93% diarreia.

DESCRIÇÃO DO PRIMEIRO CASO HUMANO NO BRASIL DE GASTROENTERITE CAUSADO POR YERSINIA ENTEROCOLITICA BIOTIPO 4 SOROGRUPO O:3 FAGOTIPO IXa.

C.E.LEVY, M.E.NADALETTO, A.M.U.TANAKA<sup>1</sup> & D.P.FALCÃO<sup>2</sup>  
Hospital das Clinicas da F.M.R.P.-USP 1  
Faculdade de Ciencias Farmaceut.-Araraquara- UNESP<sup>2</sup>

Paciente de 47anos fem. branca, procedente de Mococa SP, zona rural, procurou o HCFMRPUSP em 31/08/87 com quadro de diarreia sem sangue muco ou pus, 5 a 10 evacuações diárias, há 5 dias, acompanhada de dor abdominal, dor articular, febre e lesões disseminadas pela face tronco e membros.

Ao exame clínico paciente apresentava quadro de eritema polimorfo, hipertensão arterial moderada e diarreia a esclarecer.

Dos exames laboratoriais solicitados destacamos a coprocultura realizada em 02/09/89 que revelou a presença de Yersinia enterocolitica na sementeira em agar Mac Conkey, após 24 horas de incubação, a 37°C. A confirmação laboratorial foi realizada pelo Laboratório de Referência de Yersinias da FCF de Araraquara - UNESP, revelando tratar-se de uma cepa biotipo 4, sorogrupo O:3 e fagótipo IXa. Segundo informação deste Laboratório, este seria o primeiro caso detectado em humanos, no Brasil, de cepa com o fagótipo IXa.

A paciente permaneceu hospitalizada por um período de 10 dias fazendo uso de Ampicilina 1g vo de 6/6 hs, apresentando no 7º dia de hospitalização regressão quase total dos sintomas inicialmente apresentados.

PRESENÇA DE MICROORGANISMOS NÃO FERMENTADORES DA GLICOSE EM IMUNOBIOLÓGICOS.

M.B.M.Clementino, Z.Silva e J.A.B.Figueiredo.

Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Depto. de Microbiologia e Imunologia, Laboratório de Bacteriologia.

**OBJETIVOS:** Foram analisados pelo INCQS no período de 1983-1988 os imunobiológicos (soros e vacinas) utilizados no Brasil pelo Ministério da Saúde. Dentre os testes padronizados e requeridos pela OMS (Organização Mundial de Saúde), está o de esterilidade, que tem por finalidade assegurar a completa ausência de microrganismos contaminantes nas diversas etapas do processo de produção. Nestes 5 anos foram encontrados microrganismos não habituais em produtos biológicos industrializados: grupo dos não fermentadores da glicose.

**MATERIAL E MÉTODOS:** A metodologia adotada no isolamento e identificação bioquímica dos microrganismos foi segundo bibliografia atualizada Nacional e Internacional. Foram semeados a partir do caldo Caseína Soja e Tioglicolato em Agar Sangue (AS) e Eosin Methylene Blue (EMB) e incubados a 37°C 24-48 horas. Do crescimento originário em AS e EMB, foi feita a bacterioscopia (método de Gram) e semeados em meios de triagem bioquímica a 37°C 24-48 horas. De acordo com respostas fornecidas pela bacterioscopia e pela triagem, seguiram-se as provas bioquímicas necessárias para a identificação final. Para alguns microrganismos esta identificação foi complementada com o teste de Sensibilidade a Antimicrobianos (TSA) - polimixina B, tetraciclina, sulfametoxazol-trime-tropim, etc.

**RESULTADOS E CONCLUSÕES:** Neste período foram realizadas análises de 7364 lotes de Imunobiológicos estando 33 lotes (0,4%) contaminados (total de 48 análises bacteriológicas). A frequência de bactérias isoladas foi: Alcaligenes faecalis 7 cepas (14,6%), Acinetobacter calcoaceticus anitratus 3 cepas (6,2%), Acinetobacter calcoaceticus Iwoffii 9 cepas (18,8%), Achromobacter sp. Vd. 2 cepas (4,2%), Achromobacter xyloxidans 2 cepas (4,2%) Moraxella atlantae 2 cepas (4,2%), Moraxella osloensis 2 cepas (4,2%), Pseudomonas aeruginosa 1 cepa (2,1%), Pseudomonas diminuta 3 cepas (6,2%), Pseudomonas maltophilia 3 cepas (6,2%), Pseudomonas putida 3 cepas (6,2%), Pseudomonas testosteroni 3 cepas (6,2%), entre outros menos frequentes 8 cepas (16,7%)

De acordo com os resultados obtidos estes produtos foram considerados insatisfatórios estando portanto impróprios para o consumo.

AEROMONAS SP: ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE AMOSTRAS  
OBTIDAS DE URINAS DE PACIENTES DO HOSPITAL UNIVERSITÁ  
RIO DA UFRJ.

A.C. Freitas; M.P. Nunes; I.D. Ricciardi

Departamento de Microbiologia Médica do Instituto de  
Microbiologia da Universidade Federal do Rio de Janei  
ro.

Amostras de urina, provenientes de pacientes ambu  
latoriais ou internados no Hospital Universitário da  
UFRJ, foram estudadas quanto a presença de Aeromonas  
sp. Em 500 amostras de urina processadas para urino-  
cultura quantitativa, foram isoladas e caracterizadas  
2 cepas de A. hydrophila e 4 de A. caviae, de seis pa-  
cientes adultos (1,2%), sendo que em apenas um desses  
pacientes, A. hydrophila, foi encontrada em quantidade  
compatível à infecção urinária. A pesquisa do poten-  
cial patogênico das amostras isoladas foi realizada a-  
través da detecção de enterotoxina termoestável (ST),  
da capacidade de auto-aglutinação e da presença de en-  
zimas extra-celulares (hemolisina, estafilolisina, lí-  
pase, protease e lecitinase). Não foi observada nenhu-  
ma amostra toxigênica, ou auto-aglutinável. Entre as  
atividades enzimáticas extra-celulares estudadas, ape-  
nas as hemolíticas e estafilolíticas foram detectadas  
nas amostras de A. hydrophila, sendo variável a produ-  
ção das outras enzimas frente às seis amostras. Obser-  
vou-se resistência de todas as amostras à ampicilina,  
amoxicilina, cefalexina e cefalotina, sensibilidade ao  
cloranfenicol, gentamicina, nitrofurantoina, ácido na-  
lidíxico, amicacina, colistina e polimixina B. Quanto  
aos antimicrobianos sulfazotrim, norflaxacina, tetra-  
ciclina, carbenicilina e cefoxitina o comportamento  
foi variável.

Órgãos Financiadores: CEPG, CAPES, CNPq e FINEP

PSEUDOMONAS MALTOPHILIA ISOLADAS EM MATERIAL CLÍNICO NO HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE SÃO PAULO.

C.E.LEVY & R.H.A.R.GIRONI

Laboratorio de Microbiologia do HC-FMRP-USP

No período de um ano a partir de janeiro de 1988 , foram isoladas no setor de Bactérias Gram Negativas Não Fermentadoras do Lab Microbiologia do HC-FMRP-USP 52 cepas de Pseudomonas maltophilia oriundas de material clínico. Os testes empregados para caracterização foram: 1.-crescimento em Mac Conkey; 2.-oxidase; 3.-motilidade; 4.- DNase; 5.- Gelatinase; 6.- OF Glicose; 7.- OF Maltose; 8.- Crescimento a 42°C; 9.- Redução de nitrato; 10.- ONPG; 11.- Urease; 12. Sensibilidade à Polimixina.

Quanto a procedencia, predominou nitidamente o material de origem hospitalar (48 dos 52 materiais isolados). As enfermarias com maior número de isolamentos foram: a) Berçário:10; b) Ortopedia:8; c) Cirurgia:8; d) Clínica Médica:7; e) Pediatria:7.

Os materiais que revelaram maior número de isolamentos foram:

- I).- secreção endotraqueal (12 cepas)
- II).- feridas e abscessos (11 cepas)
- III).- orofaringe e escarro (9 cepas)
- IV).- cateter venoso (7 cepas)
- V).- ocular (4 cepas)
- VI).- hemoculturas (3 cepas)

Pela predominancia dos isolamentos em pacientes internados e materiais característicos de infecção hospitalar (itens I e IV e provavelmente II), evidencia-se o papel deste agente etiológico em infecções hospitalares.

O teste de sensibilidade aos antimicrobianos pelo método de Kirby-Bauer revelou os seguintes percentuais de Sensibilidade: Amicacina: 79%; Ampicilina 8%; Carbenicilina 56%; Cefalosporinas: 0%; Cloranfenicol: 96% ; Fosfomicina:35%; Gentamicina: 83%; Polimixina 100% ; Sulfazotrim: 100% e Tetraciclina 19%.

INCIDÊNCIA DE H.aegyptius, AGENTE DA FEBRE PURPÚRICA BRASILEIRA, NA CIDADE DE SÃO PAULO.

B.MEZZACAPA NETO, I.M.LANDGRAF, M.F.P.VIEIRA, M.L.C.TON-  
DELLA.

Instituto Adolfo Lutz

A Febre Purpúrica Brasileira (F.P.B.), doença sistêmica de caráter agudo, vinha acometendo crianças de zero a 10 anos, somente em cidades do interior do estado; entre tanto em 1988 ocorreram casos suspeitos deste agravo na cidade de São Paulo. No decorrer da investigação destes casos, foram isoladas 221 cepas de Haemophilus sp a partir de secreção conjuntival e orofaríngea. As cepas foram caracterizadas na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz - São Paulo, segundo a técnica de Mogens Killian. De 157 cepas isoladas de secreção conjuntival, 14,01% eram H.aegyptius, das quais 54,55% foram caracterizadas como cepas invasoras. De secreção orofaríngea foram isoladas 64 cepas, das quais 9,38% eram H.aegyptius, tendo sido 16,67% caracterizadas como cepas invasoras. Do total das 157 cepas de secreção conjuntival, 85,35% caracterizaram-se como H.influenzae, com maior incidência do biotipo II, atingindo 58,95%, e apenas 0,64% de H.parainfluenzae. No total das 64 cepas de secreção orofaríngea, o H.influenzae alcançou o percentual de 73,44%, com maior incidência dos biotipos II e III com o percentual de 31,91% para cada biotipo, e 17,18% de H.parainfluenzae. Em relação à faixa etária as cepas invasoras de H.aegyptius foram isoladas em crianças de zero a 14 anos de idade e ainda em um caso de adulto com 25 anos. A existência de cepas invasoras de H.aegyptius na cidade de São Paulo, comprovadas laboratorialmente, ressalta a importância do Sistema de Vigilância Epidemiológica das conjuntivites, no controle e prevenção de F.P.B., uma vez que as mesmas normalmente antecedem este agravo.

INCIDÊNCIA DE MICROORGANISMOS NAS CONJUNTIVITES PURULENTAS EM CRIANÇAS COM MENOS DE 10 (DEZ) ANOS NA REGIÃO DE CAMPINAS-SP.

M. RASKIN, M. M. M. ROCHA, I. M. LANDGRAF, B. MEZZACAPA NETO.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ-CAMPINAS-IAL SÃO PAULO.

Conjuntivites agudas sazonais de crianças, especialmente em climas quentes, tem características clínicas de etiologia múltipla. Frente ao interesse apresentado às conjuntivites de origem bacteriana, notadamente as causadas por espécies do gênero *Haemophilus*, foi proposto um estudo dos agentes etiológicos dessas conjuntivites em crianças menores de 10 anos, na região de Campinas, S. P. dirigido principalmente ao *Haemophilus influenzae* biogrupo *egyptius* (*H. egyptius*) culturas de 157 amostras de secreção conjuntival apresentaram uma positividade de 57,32% (90). Espécies do gênero *Haemophilus* corresponderam a 57,77% (52 cepas) destas bactérias. Sabendo-se que a Febre Purpúrica Brasileira é geralmente precedida por conjuntivite purulenta e sendo ambas causadas pelo *H. influenzae* biogrupo *egyptius*, considerou-se de grande interesse epidemiológico a incidência desta bactéria em 25% dos casos (13 cepas), das quais 15,38% (2 cepas) foram caracterizadas como cepas epidêmicas.

HAEMOPHILUS AEGYPTIUS, AGENTE DA FEBRE PURPÚRICA  
BRASILEIRA EM SURTO EPIDÊMICO DE CONJUNTIVITE NA CI-  
DADE DE PRADÓPOLIS (SP), EM 1989.

O.A.L.Cintra; P.Schor; S.Scarpelini; G.M.Rocha; M.C.  
C.Ferez; B.C.S.Cerqueira.

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto U.S.P.

O objetivo do presente trabalho foi o de avaliar a distribuição do Haemophilus aegyptius soroadglutinante para Febre Purpúrica Brasileira (FPB) em um surto de conjuntivite na cidade de Pradópolis (SP).

Tal estudo baseou-se no isolamento prévio do microorganismo em 4 pacientes pelo Instituto Adolpho Lutz-RP. Foram identificados 10 contactantes para cada caso, dos quais foram colhidos swabs conjuntival e de orofaringe e semeados em agar chocolate. Procedeu-se à investigação microbiológica pelo Gram, provas bioquímicas e soroadglutinação específica. Procurou-se agrupar os casos na planta geográfica da cidade levando em conta a densidade populacional da casa e/ou da instituição que o paciente frequentava.

A análise inicial das culturas mostrou 10 colônias suspeitas com confirmação sorológica em 6 delas e a existência de portadores sãos. Questiona-se a patogenicidade da bactéria, assim como sua sensibilidade à antibioticoterapia tópica.

ANÁLISE DE PLASMÍDIOS NAS INVESTIGAÇÕES EPIDEMIOLÓGICAS DE CONJUNTIVITES POR H.aegyptius.

M.L.C.Tondella.;M.Kaku.;S.N.Neme.;A.Y.Tanaka.;e I.Landgraf. e Grupo de Estudo da F.P.B. .

Instituto Adolfo Lutz.

A febre purpúrica brasileira (FPB) tem como agente etiológico o Haemophilus aegyptius com características definidas, entre elas a presença de um plasmídeo de 24 Mdal. Plasmídios extraídos de cepas de H.aegyptius associados a casos de FPB apresentam, após a clivagem com a enzima de restrição AccI, um perfil de restrição específico denominado 3031. Esta característica tem-se constituído em um importante marcador molecular que vem sendo utilizado na vigilância epidemiológica das conjuntivites como um meio de controle e prevenção da FPB. Este estudo objetivou a verificação da presença destes plasmídios em cepas de H.aegyptius isoladas durante os surtos de conjuntivite ocorridos no período 1987-1989, em diferentes Municípios do Estado e da Capital, 147 cepas, originárias de secreção da conjuntiva e da orofaringe, foram submetidas à extração de plasmídeo pelo método de lise alcalina, seguido de eletroforese em gel de agarose, tendo como padrão de peso molecular, um plasmídeo de 24 Mdal com o perfil de restrição 3031. Entre as 147 cepas estudadas, 50 (34,01%) apresentaram um plasmídeo de 24 Mdal. 88% das cepas portadoras deste plasmídeo eram provenientes de Municípios onde os surtos de conjuntivite foram seguidos do aparecimento de casos confirmados ou suspeitos de FPB, e somente 12% de cepas portadoras deste plasmídeo eram provenientes de Municípios onde não ocorreram casos de FPB. Estudos até agora realizados não permitem concluir o papel exato destes plasmídios, entretanto a sua presença é uma característica sempre presente nas cepas invasoras de H.aegyptius.

FEBRE PURPÚRICA BRASILEIRA, CARACTERIZAÇÃO RÁPIDA DAS CEPAS INVASIVAS DE Haemophilus aegyptius

M.C.C.BRANDILEONE, R.C.ZANELLA, V.S.D.VIEIRA, M.L.C.TONDELIA, C.T. SACCHI, I.M.LANDGRAF, K.IRINO, e Grupo de Estudo da Febre Purpúrica Brasileira.

Instituto Adolfo Lutz

A Febre Purpúrica Brasileira (FPB) é uma doença sistêmica que tem como agente etiológico o H.aegyptius, apresentando-se associada a surtos de conjuntivite purulenta. Epidemias de conjuntivite purulenta que tem como agente etiológico o H.aegyptius ocorrem frequentemente em países de clima quente, e tem sido observadas desde 1984 na região Oeste do Estado de São Paulo e em 1989 no Município da Capital. Cepas de H.aegyptius isoladas em surtos de FPB no Brasil, foram caracterizadas pelo método de aglutinação em lâmina, utilizando um antissoro produzido em coelho com cepa de H.aegyptius isolada de cultura de sangue de paciente de FPB. Foram estudadas 331 cepas de Haemophilus sp: 22 cepas de H.aegyptius isoladas de 17 casos de FPB no Brasil; 1 cepa de H.aegyptius isolada de um caso de FPB na Austrália; 99 cepas de H.aegyptius, 163 cepas de H.influenzae e 37 cepas de H.parainfluenzae de secreções conjuntivais e/ou de orofaringe isoladas durante surtos de conjuntivite ocorridos no Brasil; 7 cepas de H.aegyptius procedentes de outros países e 2 cepas padrões de H.aegyptius e H.influenzae. Através deste método foi possível identificar cepas de H.aegyptius responsáveis por surtos de conjuntivite com características antigênicas iguais às cepas isoladas de FPB. A sensibilidade e especificidade da soroglutinação em lâmina foi de 97,7% e 99,6% respectivamente. Este método pela sua fácil reprodutibilidade, alta sensibilidade e especificidade tem sido utilizado com êxito em estudos de conjuntivite purulenta para detectar cepas invasivas de H.aegyptius associada a FPB, possibilitando assim a implantação de medidas que ampliem a eficiência na prevenção e na vigilância epidemiológica da doença.

ESTUDO COMPARATIVO DE MÉTODOS DE PRESERVAÇÃO DE MICROORGANISMOS  
HAEMOPHILUS INFLUENZAE (BIOGRUPO AEGYPTIUS).

A.C.R. Ghilardi\* ; M. Ortolan ; C.M.S. Giampaglia\* & E.N. De Gaspari\*\*

Instituto Adolfo Lutz, Seção de Coleção de Culturas\* e Seção de Imunologia\*\* São Paulo - São Paulo - Brasil

Um grande número de técnicas são utilizadas na preservação de microrganismos tornando-se difícil a escolha do método mais eficaz. Todos os métodos apresentam vantagens e desvantagens e a sua escolha dependerá da necessidade de aplicação. As amostras de Hae mophilus influenzae (biogrupo aegyptius) mantidos na Seção de Co leção de Culturas foram isolados de pacientes na época da epide mia que ocorreu em São Paulo entre 1984 a 1986 (FEBRE PURPÚRICA BRASILEIRA). Estudo comparativo tem sido realizado entre as dife rentes cepas de H. influenzae (biogrupo aegyptius), H. aegyptius (ATCC11116) e H. influenzae b que se encontram em diferentes condi ções de preservação a um ano em Nitrogênio líquido, liofilização e miçangas (glass beads). Este trabalho tem por objetivo demonstrar que entre os diferentes métodos de preservação a utilização das miçangas apresenta muitas vantagens entre elas ,manuseio fácil e vitando o descongelamento periódico das amostras. Suspensões de bactérias de aproximadamente  $3 \times 10^9$ /ml foi feita em caldo nutri ente com 15% de glicerol e adicionada as miçangas previamente tratadas com detergente neutro, HCl 1N e lavadas com água destila da. A metodologia utilizada em Nitrogênio líquido e liofilização foi feita como descrita no livro (Maintenance of Microorganisms, 1984). Não observamos uma diferença significativa quando analisa mos as diferentes preparações antigenicas por eletroforese em gel de poliacrilamida e "Immunoblotting".

RESISTÊNCIA DE CAMUNDONGOS À INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR  
HAEMOPHILUS INFLUENZAE (BIOGRUPO AEGYPTIUS).

E.N.De Gaspari<sup>\*</sup> e A.C.R.Ghilardi<sup>\*\*</sup>

Instituto Adolfo Lutz, Seção de Imunologia<sup>\*</sup> e Seção de Coleção de Cultura<sup>\*\*</sup>

Febre Purpúrica Brasileira é uma doença que acometeu a faixa etária infantil em várias regiões do Estado de São Paulo no final de 1984 a 1986.

Diferentes linhagens de camundongos isogênicos Balb/c, C<sub>57</sub>B1/10, F<sub>1</sub> (Balb/c X C<sub>57</sub>B1/10), (DBA XA/J) e albinos foram inoculados intraperitonealmente com suspensão de bactérias (6 X10<sup>8</sup>) em 0,2 ml de diferentes cepas epidêmicas, H. aegyptitus (ATCC 11116) e H.influenzae b. Observamos uma alta bacteremia em todas as linhagens e um comportamento anormal dos animais nas primeiras horas após inoculação com uma melhora dos mesmos após 24 horas.

Os isotipos de imunoglobulinas IgG e IgM específicos para as cepas utilizadas foram estudados no curso da infecção. O soro desses animais coletados em diferentes períodos após infecção, titulados por "Immunodot" utilizando-se antisoros comerciais específicos para a cadeia  $\gamma$  e  $\mu$ . Como antígenos foi utilizado suspensões de bactérias submetidas ao tratamento por Ultra Som e componentes de membrana externa obtidos pelo tratamento com cloreto de Lítio.

Foi feita eletroforese em gel de poliacrilamida em presença de SDS das diferentes preparações antigênicas em gel e 10% simultaneamente com marcadores de peso molecular, procedeu-se a coloração com Coomassie Blue ou impregnação pela prata.

A transferência eletroforética para o papel de Nitrocelulose "Immunoblotting" e conseqüentemente revelado com antisoro marcado com peroxidase. O reconhecimento de polipeptídeos por anticorpos de animais infectados com cepas epidêmicas poderá auxiliar na diferenciação do H.influenzae (biogrupo aegyptius).

"UREAPLASMA UREALYTICUM E CHLAMYDIA TRACHOMATIS: PREVALÊNCIA EM PACIENTES COM ALTERAÇÕES DO TRATO GENITURINÁRIO."

R.A.F. CUNHA e M.A.R.B. MIRANDA.

Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo e Instituto de Medicina Especializada e de Gastroenterologia.

A implicação da Chlamydia trachomatis e dos Micoplasmas, sobretudo do Ureaplasma urealyticum nas uretrites não gonocócicas (UNG) está evidenciada através dos dados contidos na literatura internacional. O intuito deste trabalho foi o de verificar a prevalência destes microrganismos em pacientes com sintomatologia de uretrites, vaginites e cervicites entre outras.

Em 43 pacientes femininos com várias alterações do trato geniturinário e em 37 pacientes masculinos com sintomas de uretrite foram pesquisados: Micoplasmas, Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Gardnerella vaginalis, Trichomonas sp e leveduras. A pesquisa foi feita a partir de secreções cervicais e uretrais masculinas. Para isolamento e identificação de micoplasmas foram empregados os meios preconizados por Shepard e modificados por CUNHA. A identificação final de alguns micoplasmas foi sorológica empregando-se a técnica de imunodifusão dupla de Ouchterlony. C. trachomatis foi pesquisada pelo método imunoenzimático (ELISA). O isolamento de G.vaginalis foi obtido utilizando-se o meio agar Vaginalis e o de Neisseria gonorrhoeae, o meio seletivo de Thayer Martin. Trichomonas sp e leveduras foram observadas no exame a fresco e na bacterioscopia pelo Gram. Foram obtidos os seguintes resultados: 31(38,8%) isolamentos de micoplasmas, sendo 16 (20%) de U.urealyticum, 10 (12,5%) de M. hominis, e 5(6,3%) casos de associação dos referidos micoplasmas. C.trachomatis foi detectada em 11 (13,8%) pacientes enquanto que G. vaginalis foi isolada em 10 (12,5%). Leveduras e Trichomonas sp foram observadas em 7 (8,8%) e 1(1,3%) casos, respectivamente. Neisseria gonorrhoeae não foi isolada em nenhum dos pacientes estudados. Os resultados obtidos indicam uma maior prevalência de micoplasmas (Ureaplasma urealyticum) em relação aos outros microrganismos pesquisados. Fica claro, portanto a necessidade cada vez maior de se pesquisar micoplasmas, não tão somente em casos de UNG, como em outras alterações do trato geniturinário.

## "Gardnerella vaginalis EM OBSTETRÍCIA"

G.DUARTE; S.P.CUNHA; R.K.YANO; A.M.P.CUNHA; A.YASSIN.

Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP.

O objetivo do presente trabalho foi tentar esclarecer se existe associação entre infecção por Gardnerella vaginalis e trabalho de parto pré-termo e o efeito de duas formas diferentes de tratamento sobre este germe. Para isto foram estudadas prospectivamente 46 gestantes pertencentes ao Serviço de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP. Estas gestantes eram portadoras de infecções pela Gardnerella vaginalis, diagnóstico realizado através da clínica, Whiff-Test e Colpocitologia. Foram divididas em 3 grupos, assim distribuídos: o grupo I, composto de 16 pacientes, não se submeteu a nenhuma terapêutica; o grupo II, composto de 15 pacientes submeteu-se a tratamento vaginal com derivado imidazólico e o grupo III, com 15 pacientes, submeteu-se a tratamento vaginal e oral também com derivado imidazólico.

Na evolução destas gestantes observou-se os seguintes resultados: entre as pacientes do grupo I, 37,5% desenvolveram trabalho de parto pré-termo; do grupo II, 20% e do grupo III, apenas 6,6% apresentou esta complicação. Todas as crianças dos grupos II e III foram avaliadas até dois meses após o nascimento não se constatando nenhuma anormalidade.

Baseando-se nestes resultados, conclui-se que a terapêutica da Gardnerella vaginalis durante o período gestacional está indicada, obtendo-se melhores resultados quando se utiliza o tratamento oral e vaginal concomitante.

"ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS ANAERÓBIAS E Gardnerella vaginalis, ANTES E APÓS A ELETROCAUTERIZAÇÃO DO COLO UTERINO"

A.M.P.CUNHA; A.YASSIN; S.P.CUNHA; G.DUARTE; M.H.L.CALIRI.

Núcleo Para o Estudo de Bactérias Anaeróbias de Ribeirão Preto-USP. Apoio: FAPESP, CNPq, FINEP.

As bactérias anaeróbias constituem importante componente da flora bacteriana do colo uterino e em determinadas condições, podem assumir um caráter patogênico. Por outro lado, discute-se nos dias atuais a real participação da Gardnerella vaginalis como componente da flora bacteriana do trato genital ou como agente etiológico em certas infecções. A eletrocauterização do colo uterino por sua vez, por alterar as condições microbiológicas neste sítio, pode propiciar o aparecimento de infecções subclínicas retardando o processo de cicatrização.

O objetivo do presente trabalho foi isolar e identificar bactérias anaeróbias e microaerófilas antes e após a eletrocauterização do colo uterino, analisando o efeito desta medida sobre esta flora.

Foram estudadas 32 pacientes submetidas à eletrocauterização cervical, realizando-se colheitas de espécimes clínicos antes e no 7º dia após o procedimento.

O isolamento e a identificação das bactérias anaeróbias e Gardnerella vaginalis foram realizadas segundo Finegold (1977), Sutter (1980) e Cunha (1985 e 1987).

Observou-se que a eletrocauterização do colo uterino, levou a um aumento na incidência de bactérias anaeróbias, microaerófilas e facultativas, tanto na região cervical quanto na região vaginal.

"EFEITO DO TINIDAZOL SOBRE BACTÉRIAS ANAERÓBIAS E Gardnerella vaginalis, ANTES E APÓS A ELETROCAUTERIZAÇÃO DO COLO UTERINO"

S.P.CUNHA; A.YASSIN; A.M.P.CUNHA; G.DUARTE; M.H.L.CALIRI; R. K.YANO.

Núcleo Para o Estudo de Bactérias Anaeróbias de Ribeirão Preto-USP. Apoio: FAPESP, CNPq, FINEP.

O objetivo do presente trabalho foi analisar o efeito da eletrocauterização do colo uterino sobre a flora anaeróbia e microaerófila das regiões cervical e vaginal, assim como, o efeito do Tinidazol sobre esta mesma flora.

Foram estudadas 63 pacientes submetidas à eletrocauterização cervical, das quais, 31 utilizaram creme vaginal com Tinidazol e 32 utilizaram placebo.

O isolamento e a identificação das bactérias anaeróbias foram realizadas segundo Finegold (1977), Sutter (1980) e Cunha (1985 e 1987).

Notou-se que a eletrocauterização cervical, aumentou a incidência de germes anaeróbios e microaerófilos nas regiões cervical e vaginal destas pacientes e também que o uso do Tinidazol reduziu a incidência destas bactérias nestes locais.

## DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS VAGINITES

Raddi, Maria Stella Gonçalves e Vidal, Antonio Fernando Longo

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara e Serviço Especial de Saúde de Araraquara (SESA).

Material vaginal de 74 pacientes atendidas pela Clínica Ginecológica do SESA foi analisada visando correlacionar o diagnóstico clínico com possíveis agentes etiológicos envolvidos. As mulheres examinadas foram enquadradas nos grupos: 32,4% com sinais e sintomas de vaginite, número de piócitos aumentado e com pelo menos um agente etiológico definido, 21,6% com sintoma de vaginite, número de piócitos reduzido ou ausente e com um possível agente etiológico definido, 14,9% com sinais e sintomas de vaginite, número de piócitos aumentado e sem agente etiológico definido e 31,1% com queixa, sem sinais clínicos de vaginite, número de piócitos reduzido ou ausente e sem agente etiológico definido.

Apresentamos as principais observações em relação ao exame direto à fresco, bacterioscópico, bacteriológico e pH vaginal dos materiais examinados.

O exame minucioso do conteúdo vaginal pode oferecer resultados concisos e ser de grande utilidade na clínica ginecológica, visto ser o exame bacteriológico pouco valorizado pelos especialistas da área.

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E IMPORTANCIA CLÍNICA DE  
BACTÉRIAS ANAERÓBIAS EM PACIENTES COM CORRIM-  
ENTOS VAGINAIS

A. M. P. CUNHA

C. SOLÉ-VERNIN

S. P. CUNHA

G. DUARTE

J. N. C. LOPES

Uma situação frequente, na clínica de ginecologia e obstetrícia é a queixa de pacientes com relação a corrimentos vaginais referidos de duas maneiras, uma, afirmando que "nunca apresentaram qualquer problema vaginal e que notaram recentemente, aumento da secreção vaginal" (CORRIMENTO VAGINAL AGUDO) e outra, "que por várias vezes, já procuraram tratamento médico e o problema do corrimento vaginal não foi solucionado" (CORRIMENTO VAGINAL CRÔNICO). Os objetivos do trabalho foram identificar bactérias aneróbias, Trichomonas e Candida presentes em corrimentos. A metodologia seguiu os padrões usados por FINEGOLD, 1977; SUTTER, 1980 e UZEDA, 1982. Concluimos que nas pacientes sem corrimento identificamos 3 gêneros de bactérias anaeróbias em 23% das pacientes e naquelas com corrimento agudo ou crônico 8 gêneros em 47% das pacientes. Ficou caracterizado que a maioria das pacientes com infecção por Trichomonas apresentaram populações bacterianas anaeróbias associadas, sendo que o mesmo não pode ser dito em relação a Candida.

Núcleo para Estudo de Bactérias Anaeróbias em Ribeirão Preto - USP. Apoio recebido: FAPESP, CNPq, FINEP

## ALTERAÇÃO DA FLORA BACTERIANA ANAERÓBIA APÓS A ELE- TROCOAGULAÇÃO DO COLO DO ÚTERO

A.M.P.CUNHA; R.K.YANO; S.P.CUNHA; G.DUARTE; J.N.C.  
LOPES.

Núcleo para Estudo de Bactérias Anaeróbias em Ribeirão Preto - USP. Apoio recebido: FAPESP, CNPq, FINEP

As características das infecções por bactérias anaeróbias levou-nos a refletir sobre as probabilidades de uma eletrocoagulação da região endocervical do colo do útero, como forma de tratamento médico e de características cirúrgicas, alterar a flora bacteriana anaeróbia local, deixando-a durante um período crítico, mais susceptível à reiniciar um processo infeccioso de causa endógena. Os objetivos do trabalho foram: a) identificar bactérias anaeróbias da região vaginal e endocervical do útero, antes da eletrocoagulação do colo uterino e no 7º dia após o referido tratamento. b) comparar as populações bacterianas identificadas antes e após a eletrocoagulação, visando a profilaxia da infecção iatrogênica endocervical e vaginal. A metodologia para identificação das bactérias anaeróbias observou padrões estabelecidos por FINEGOLD, 1977, SUTTER, 1980 e UZEDA, 1982. Concluímos que a eletrocoagulação do colo uterino ocasiona uma região de tecidos necróticos, facilitando a proliferação acentuada de populações bacterianas anaeróbias, conseqüentemente ocorrendo uma infecção secundária. Os gêneros de bactérias anaeróbias isolados com mais frequência foram: Fusobacterium sp., Bacteroides fragilis (grupo)

Peptostreptococcus sp. e Bacteroides sp. mas grandes populações bacterianas microaerófilas e aeróbias não foram isoladas do mesmo modo.

PADRONIZAÇÃO TEMPORAL DE HEMOCULTURAS NAS BACTEREMIAS TRANSITÓRIAS DO PARTO VAGINAL

M.H.L. Caliri, A.M.P. Cunha; S.P. Cunha e G. Duarte.

Núcleo para estudo de bactérias anaeróbias em Ribeirão Preto da USP. Apoio: FAPESP, CNPq, FINEP.

As bactérias anaeróbias prevalecem no corpo humano como flora endôgena, sendo natural que possam estar comumente envolvidas em bacteremias transitórias. Os estudos de bacteremias transitórias durante o parto apresentam a incidência de isolamento de 0,5 a 5,5% porém os anaeróbios foram raramente isolados. O objetivo deste trabalho foi identificar quais os momentos de bacteremia transitória no parto vaginal em relação à padronização temporal da técnica de hemocultura, visando as bactérias anaeróbias. Estudamos 29 pacientes, sem sinais ou sintomas clínicos de infecção, padronizando os momentos de colheita de hemocultura visando as manobras obstétricas. A metodologia utilizada no isolamento de anaeróbios seguiu padronização realizada por Finegold (1977), Sutter e cols (1980), Cunha e cols (1985, 1987). Neste estudo concluímos que as bacteremias foram mais frequentes no momento imediatamente após a saída do concepto (46% das pacientes) sendo 83,3% por bactérias anaeróbias estritas e 16,7% por bactérias facultativas.

## ISOLAMENTO DE ANAERÓBIOS EM BACTEREMIAS TRANSITÓRIAS NO PÓS-PARTO VAGINAL

M.H.L. Caliri, A.M.P. Cunha; S.P. Cunha e G. Duarte.

Núcleo para estudo de bactérias anaeróbias em Ribeirão Preto da USP. Apoio: FAPESP, CNPq, FINEP.

Bacteremia transitória pode ocorrer espontaneamente ou após manipulação em regiões onde existe uma flora normal ou um processo infeccioso. As bacteremias assintomáticas relacionadas com o parto têm sido pouco estudadas e a maior parte dos estudos não isolaram anaeróbios pois os procedimentos laboratoriais não estavam adequados na época. O objetivo deste trabalho foi pesquisar a presença de bacteremias transitórias em pacientes durante o parto vaginal, identificando a presença de bactérias anaeróbias. Estudamos 29 pacientes em trabalho de parto, sem sinais ou sintomas clínicos de infecção. A metodologia utilizada no isolamento de anaeróbios seguiu a padronização feita por Finegold (1977), Sutter e cols (1980) e Cunha e cols (1985 e 1987). As conclusões encontradas neste trabalho foram: a) as manobras obstétricas realizadas durante o parto vaginal foram capazes de produzir bacteremias transitórias em 38% das pacientes; b) das 127 hemoculturas realizadas 13 (10,23%) foram positivas; c) as bactérias anaeróbias estritas foram responsáveis por 84,6% das bacteremias transitórias.

## ANAERÓBIOS NA MORBIDADE FEBRIL PÓS-CESAREANA.

C.C. RIBEIRO, L.D. JÜRGENSEN, L.G. PESSOA DA SILVA e  
C.A. JÜRGENSEN.

Laboratório de Bactérias Anaeróbias do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFF. Niterói. RJ.  
Serviço de Obstetrícia do HUAP - UFF. Faculdade de Medicina da UFRJ.

Estudo realizado em 44 pacientes em trabalho de parto submetidas à operação cesariana e a um curso perioperatório, com cefradina, objetivando reduzir a morbidade febril (MF) pós-operatória.

Em sete pacientes (15,9%) com clínica e sinais de MF foi colhido material do endométrio utilizando a técnica de dupla sonda, da ferida cirúrgica obtido por punção seguida de aspiração dos prováveis sítios de infecção, urina por punção supra-púbica, e sangue através de punção venosa (quatro amostras). No material colhido foi feita a pesquisa de facultativos e anaeróbios. A anaerobiose foi obtida em jarra pela passivação do cobre, com leitura em 48h. Das bactérias isoladas, foi determinada a sensibilidade a cefradina. Para facultativas foi usada a técnica de Bauer e col. e para as anaeróbias a técnica de eluição do disco em caldo proposta pelo NCCLS.

Das sete pacientes com MF, de três foram isolados *Peptostreptococcus* (1 *Ps. anaerobius*, 1 *Ps. prevotii*, 1 *Ps. micros*, 2 *Ps. magnus* e 1 *Ps. constellatus*). Todas se mostraram sensíveis *in vitro* a cefradina (6mcg/ml). Dentre os 11 facultativos isolados (9 *Streptococcus spp* e 2 *Escherichia coli*) só 2 *Streptococcus* apresentaram resistência *in vitro*. Estes achados podem justificar a baixa incidência de MF pós-cesareana com uso de uma antibiótico-profilaxia feita com dose única de cefradina.

## ANAERÓBIOS EM PLACENTA HUMANA

K. R. N. SANTOS, A. G. P. GARCIA e C.A. JÜRGENSEN.

Laboratório de Bactérias Anaeróbias do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFF. Niterói. RJ. e Instituto Fernandes Figueira.

Foi realizado estudo bacteriológico de 21 placentas, faces materna e fetal, objetivando-se o isolamento de bactérias anaeróbias e facultativas e um possível relacionamento desses achados com patologia. O material, após transporte em meio de Cary-Blair com 0,2% de agar, descontaminação externa em água fervente e dispersão em solução redutora, foi semeado nos meios de cultura: Columbia Agar Base (CAB) com 5% de sangue de carneiro (AS), CAB com 5% de sangue lisado de carneiro e gentamicina (40mcg/ml), CAB com 5% de sangue lisado de coelho e gentamicina e caldo Trypticase Yeast Glucose para isolamento de bactérias anaeróbias, e AS, Teague e Chapmann para bactérias facultativas. A incubação em jarra de anaerobiose, usando-se a passivação do cobre, foi utilizada para bactérias anaeróbias e incubação convencional para bactérias facultativas. A identificação dos microrganismos anaeróbios foi realizada através de 20 provas, segundo o Manual Minitex de Identificação Anaeróbia, sendo feita leitura para identificação final no próprio Manual. Os bacilos Gram negativos facultativos foram identificados segundo Trabulsi *et al*, e os cocos Gram-positivos facultativos através da atividade hemolítica sobre sangue de carneiro, crescimento em caldo hipercloretado e prova da coagulase.

A ocorrência de bactérias anaeróbias (*C. perfringens* 5,26%; *C. sporogenes* - 15,78%; *Clostridium spp* - 68,42%; *Bacteroides spp* - 5,26% e *P. acnes* - 5,26%) foi verificada em 57,13% das placentas, sendo que em 14,28% somente estes microrganismos foram isolados. Bactérias facultativas foram encontradas em 76,18% das placentas. Achados patológicos microscópicos como corioamnionite e/ou alterações morfológicas permitiram correlação entre o isolamento obtido e alterações placentárias. Entretanto, estudos posteriores devem ser realizados para melhor compreensão.

ISOLAMENTO DE BACTERIAS ANAERÓBIAS EM MATERIAL CLÍNICO NO HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO - USP

C.E.LEVY & R.H.A.R.GIRONI

Laboratorio de Microbiologia do HC-FMRP-USP

No período de janeiro de 1986 a dezembro de 1988 foram processados pelo setor de anaeróbios do Lab. Microbiologia do HC-FMRP-USP 1.563 espécimes clínicos. A metodologia empregada baseou-se no Wadsworth Anaerobic Bacteriology Manual, third ed., 1980.

Foram obtidas deste material 432 culturas positivas (27,6% de positividade) e isoladas 529 bacterias anaeróbias. Os materiais que contribuíram com maior número de isolamentos foram: Abscessos localizados (32%), aspirado de cavidade abdominal (31%) e hemoculturas (21%).

A distribuição das bacterias isoladas em função dos materiais foi a seguinte:

ANAEROBIOS	MATERIAL*				
	A	B	C	D	E
<b>COCOS GRAM POSITIVOS</b>					
Peptoestreptococcus sp	24	24	45	02	13
Peptococcus sp	06	09	16	02	13
<b>BACILOS GRAM POSITIVOS</b>					
B.G.P. não esporulados	30	32	23	02	13
Clostridium sp	14	18	06	00	09
<b>COCOS GRAM NEGATIVOS</b>					
Veillonella sp	00	01	02	00	01
<b>BACILOS GRAM NEGATIVOS</b>					
Bacteroides sp	15	10	17	01	06
B. sp Grupo fragilis	22	69	55	03	15
B. melaninogenicus	01	02	05	00	04
Fusobacterium sp	02	00	01	00	01

\* A= hemocultura

B= aspirado de cavidade abdominal

C= abscessos localizados

D= aspirado de ferida cirurgica

E= outros materiais

ASPECTOS METODOLÓGICOS NA IDENTIFICAÇÃO BIOQUÍMICA DE ESPÉCIES DO GRUPO Bacteroides fragilis.

N.L.C. RAYMUNDO; S.L. SILVA; M.J. AVILA-CAMPOS; L.M. FARIAS; C.A.V. DAMASCENO; M.A.R. CARVALHO & E.O. CISALPINO.

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA DO INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DA UFMG.

Foi avaliada a influência do período de incubação na interpretação dos testes de fermentação de carboidratos utilizados na identificação bioquímica de bactérias do Grupo Bacteroides fragilis.

As cepas utilizadas foram isoladas de placa dentária e de diferentes regiões do trato intestinal de Callithrix penicillata. A fermentação dos carboidratos foi realizada em meio básico peptonado extrato de levedura -PY- (Holdeman et alii, 1977) acrescido dos açúcares: Arabinose 0,5% (Merck); trealose 0,5% (Merck); ramnose 1% (Merck) e xilose 1% (Aldrich), incubando-se em condições de anaerobiose (10%CO<sub>2</sub>+90%N<sub>2</sub>), por 48 e 120 horas. As leituras foram realizadas em potenciômetro, obtendo-se o índice de acidificação pela diferença de pH dos tubos inoculados com a cepa-teste com carboidratos e sem carboidratos (controle).

É sabido que muitas das bactérias anaeróbias apresentam crescimento relativamente lento, o que pode gerar consequências importantes de ordem metodológica. A leitura preconiza para anaeróbios, a leitura das provas de fermentação de carboidratos após 5 dias de incubação (Holdeman et alii, 1977; Sutter et alii, 1980; Almeida, 1986).

Os resultados dos testes de fermentação de carboidratos expressos pelo índice de acidificação do meio após 48h e 5 dias de incubação, sugerem diferenças que poderiam ter significado taxonômico para o grupo bacteriano em estudo, tendo em vista que a identificação presuntiva ou mesmo a definitiva toman por base esses dados, entre outros, e que esses resultados poderiam ser afetados por produtos metabólicos produzidos pelos microrganismos durante o longo período de incubação.

APOIO : CAPES, FINEP e CNPq.

## MODIFICAÇÃO DO MEIO DE BBE\*. ESTUDOS PRELIMINARES.

M.C.Ferreira; R.M.C.P.Domingues e F.A.C.Magalhães

Departamento de Microbiologia Médica do Instituto de Microbiologia da UFRJ

O meio de BBE\* (*Bacteroides fragilis* bile-esculina) foi proposto para a seleção e a identificação pre-suntiva de cepas do grupo *B. fragilis*. Este meio de cultura contém além da base nutritiva, bile e gentamicina como agentes inibidores e esculina como substância indicadora de *Bacteroides* esculina positiva. Na nossa experiência tínhamos a observação de que a gentamicina não se mostrava assim tão impediante para várias cepas de Enterobactérias, na concentração de 1mg/ml preconizada pelos autores do meio (Livingston et al. J. Clin. Microbiol. 7: 448-453, 1978).

Com o objetivo de avaliar diferentes concentrações (1,2,3,4,5 e 6mg/ml) de gentamicina no meio de BBE, foram testadas 76 amostras de Enterobactérias (entre *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* e *P. vulgaris*, *Enterobacter*, *Providencia* e *Citrobacter*), 22 amostras de cocos Gram positivos (entre *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus faecalis*) e 10 amostras de *Bacteroides fragilis*, todas em condições de anaerobiose. O meio de BBE sem gentamicina serviu como controle do meio e o agar sangue suplementado, como controle da amostra.

Obtiveram crescimento em até 6X a concentração original de gentamicina: *K. pneumoniae* (20%), *S. marcescens* (33,3%), *Enterobacter* sp. (31%), *Proteus* (24%). Dentre os Enterococos, 33,3% das amostras testadas cresceram em até 2X a concentração do aminoglicosídeo.

Como esses resultados demonstram que as amostras de Enterobactérias já apresentam níveis elevados de resistência à gentamicina, uma avaliação criteriosa do meio de BBE deve ser realizado para que permaneça como uma peça importante no isolamento de *Bacteroides fragilis* (grupo) de materiais clínicos.

ISOLAMENTO DE *Clostridium difficile*

K. R. N. SANTOS e C.A. JÜRGENSEN

Laboratório de Bactérias Anaeróbias do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFF. Niterói. RJ.

Alternativa no isolamento de *C. difficile* a partir de fezes de crianças foi avaliada, utilizando-se para atmosfera de incubação a técnica de vácuo-mistura gasosa com lâ de aço cobreada, também podendo ser usada a técnica de pré-redução dos meios, com incubação convencional. O cultivo de 123 espécimes foi realizado nos meios de cultura: a) Trypticase Yeast Glucose Agar (TYGA) com estreptomicina (Es) (500 mcg/ml e cefoxitina (Ce) (16 mcg/ml) - TYGA/A e b) TYGA com Es (250mcg/ml), Ce (8 mcg/ml) e lisozima (Li) (5 mcg/ml) para a parte do espécime sem tratamento térmico, e c) TYGA somente com Li (5 mcg/ml) - TYGA/l para aquela parte com tratamento térmico (80°C - 10 min). A identificação dos bacilos Gram positivos anaeróbios (BGPA) foi realizada a través das provas: produção de H<sub>2</sub>S, gelatinase, indol, mobilidade, redução do nitrato, hidrólise da esculina, fermentação de açúcares (glicose, frutose, maltose, lactose, manitol) e pesquisas: da atividade proteolítica, enzimas lecitinase e DNase e esporos. O maior percentual de isolamento (95%) foi obtido quando foram pesquisadas células vegetativas e esporuladas, simultaneamente, usando-se os meios TYGA/A e TYGA/l.

Cerca de 85% de adultos com diarréia associada a antibióticos e cultura positiva para *C. difficile* tem apresentado colite, enquanto resultados falso-negativos para pesquisa de toxina poderiam ocorrer já que esta é termo e ácido-lábil. Assim, o isolamento a partir de fezes diarréicas de BGPA, esporulado, resistente aos antimicrobianos do meio e/ou ao tratamento térmico, estimulado pela lisozima, com colônias "rajadas" e clínica compatível, devem ser considerados subsídios importantes para iniciação de terapêutica adequada.

ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE *Propionibacterium acnes*  
EM PACIENTES COM ACNE VULGAR.

N. ARAÚJO BARRETO e C.A. JÜRGENSEN

Laboratório de Bactérias Anaeróbias do Departamento de  
Microbiologia e Parasitologia da UFF. Niterói. RJ.

*Propionibacterium spp.*, bastonete Gram positivo, pseudo-ramificado, anaeróbio, um dos componentes da microbiota normal da pele, tem sido implicado por muitos anos na etiopatogenia de acne vulgar, especialmente nos estágios inflamatórios da doença. Foi realizado um estudo em voluntários e pacientes portadores de acne (77 casos) para o conhecimento das espécies de *Propionibacterium* envolvidas com acne vulgar, em nosso meio.

A técnica de "fricção" proposta por Williamson & Kligman, foi utilizada para a colheita do material clínico, que era semeado na superfície do meio de cultura sólido de Marshall & Kelsey, modificado, suplementado com 5% de soro normal de cavalo e a incubação, em estufa a 35°C por um período de 4 a 5 dias, utilizando-se jarra para obtenção de anaerobiose, pelo método de passivação do cobre. As amostras isoladas, verificada suas características morfo-tintoriais e sensibilidade ao oxigênio, foram identificadas usando-se microtécnica pelo sistema API 20 A, com respostas a 21 testes bioquímicos.

Do grupo de indivíduos estudado, foi isolada unicamente a espécie *Propionibacterium acnes* em 72 casos (93,5%). Das amostras isoladas, 15 utilizavam sorbitol com produção de ácido (sorogrupo I) e 57 não utilizavam (sorogrupo II), resultados não compatíveis com os da literatura internacional. *P. acnes* foi isolado de indivíduos em todas as faixas etárias estudadas, em ambos os sexos e indistinta cor, sendo encontrado tanto em comedão como nas pústulas examinadas.

CARACTERIZAÇÃO SOROLÓGICA DE F.meningosepticum .

T.M.I.VAZ., K.RINO., C.T.CALZADA., C.R.GONÇALVES.

Instituto Adolfo Lutz.

A meningite neonatal está entre as principais infecções causadas por Flavobacterium meningosepticum e a sua ocorrência no nosso meio já vem sendo relatada desde a década de 60. Estas infecções, embora raras apresentam uma alta taxa de mortalidade ou deixam graves sequelas. O sorotipo C tem sido o mais frequentemente encontrado em surtos epidêmicos. A determinação da frequência dos sorotipos de cepas identificadas no nosso meio, constituiu nosso principal objetivo. Após a identificação bioquímica, as 21 cepas de F.meningosepticum, sendo a maioria isolada de líquido cefalorraquidiano, foram submetidas a testes de aglutinação em lâmina com antissoros somáticos específicos preparados com cepas padrões pertencentes a 15 sorotipos ( A a O ). Das 21 cepas estudadas, 17 (80,95%) foram classificadas sorologicamente, predominando o sorotipo C ( 10 ) com 58,8%. Outros sorotipos encontrados foram F ( 3 ), B ( 1 ), D ( 1 ), O ( 1 ) e H ( 1 ); quatro cepas não foram tipáveis. A maioria das cepas procederam de crianças recém nascidas.

PESQUISA DE ANTÍGENOS NO SORO ATRAVÉS DA IMUNOELETRÓFO-  
RESE CRUZADA.

M.G. F. ADELINO, I.M. LANDGRAF, C.E.A. MELLES, M.F.P.  
VIEIRA & A.E. TAUNAY.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ - SÃO PAULO.

A etiologia das meningites bacterianas vem sendo esclarecida através do exame bacteriológico e da pesquisa de antígenos no líquido cefalorraquidiano (LCR) pela imunoelectroforese cruzada (IEC). A partir de julho/1988 a pesquisa de antígenos bacterianos também vem sendo realizada no soro sanguíneo de doentes com suspeita de meningite bacteriana. De 474 soros, 55 (11,60%) deram reação positiva. Desses, 37 (67,27%) foram positivos para Neisseria meningitidis, das quais 27 do grupo B, 4 do grupo C e 6 do grupo W135, e 18% (32,73%) para Haemophilus influenzae b. Dos 55 soros positivos, em 20 (36,36%) esse exame só foi positivo no soro, em 27 casos (49,10%) foram obtidos resultados positivos no soro e no LCR, e de 8 (14,54%) soros positivos não foi enviado LCR.

A pesquisa de antígenos no soro contribuiu para que 24 casos com suspeita clínica de doença meningocócica e 4 casos de Haemophilus influenzae b tivessem o seu diagnóstico etiológico esclarecido.

## MEIO PARA MANUTENÇÃO DE AMOSTRAS DE NEISSERIA

A. Smânia Jr., M.L. Gil, E.F.A. Smânia

UFSC - Florianópolis - SC

As espécies de Neisseria patogênicas para o homem são mantidas eficazmente quando liofilizadas ou quando congeladas a  $-70^{\circ}\text{C}$ . Porém, a maioria dos nossos laboratórios não tem condições para adquirirem os equipamentos necessários para o desenvolvimento dessas técnicas. Portanto, o objetivo deste trabalho foi idealizar um meio de conservação eficiente e de baixo custo.

O meio desenvolvido foi um ágar semi-sólido enriquecido com suplemento VX e 3% de hemácias de carneiro lisadas pelo calor. Após a inoculação de uma suspensão bacteriana espessa, os tubos foram incubados a  $35^{\circ}\text{C}$  por 18 horas e posteriormente a superfície do meio foi coberta com óleo mineral. As culturas foram estocadas a temperatura ambiente.

Com o uso do presente meio, cepas de Neisseria gonorrhoeae e Neisseria meningitidis foram mantidas com sucesso. Dez amostras de cada espécie foram estocadas por quatro meses e, exceto uma de N. gonorrhoeae que contaminou, as demais permaneceram viáveis.

Considerando os resultados obtidos, sugerimos que este meio também seja testado em outros laboratórios e, inclusive com outras espécies bacterianas de difícil manutenção.

SOROTIPAGEM DE LEPTOSPIRAS ISOLADAS DE CASOS HUMANOS

E.E.SAKATA\*; P.H.YASUDA\*\*; E.C.ROMERO\*; A.V.LOMAR\*\*\*  
& M.V.SILVA\*

\*Instituto Adolfo Lutz, \*\*Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo e \*\*\*Hospital Emílio Ribas

Dezesseis amostras de leptospiras foram isoladas de sangue e/ou líquido de pacientes internados no Hospital Emílio Ribas e Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo em 1986 (11) e 1989 (05). Destas amostras, sete foram sorotipadas definitivamente pela técnica de absorção cruzada de aglutininas: seis cepas mostraram-se idênticas ao sorotipo copenhageni e uma, ao sorotipo monymusk, ambos pertencentes ao sorogrupo Icterohaemorrhagiae. O sorotipo icterohaemorrhagiae é descrito como o mais prevalente em nosso meio, entretanto, diante dos resultados obtidos, os autores chamam a atenção para o sorotipo copenhageni, identificado em maior porcentagem até o momento neste trabalho e também isolado e identificado em outras ocasiões no Brasil.

LEPTOSPIROSE HUMANA NO ESTADO DE SÃO PAULO, TRIÊNIO  
1986-1988

E.E.SAKATA\*; E.C.ROMERO\*; P.H.YASUDA\*\* & S.V.  
STILIANO\*

\*Instituto Adolfo Lutz e \*\*Instituto de Ciências  
Biomédicas da Universidade de São Paulo

OBJETIVOS: Estudo epidemiológico da leptospirose humana no Estado de São Paulo, através de amostras de soro recebidas pelo Setor de Leptospirose do Instituto Adolfo Lutz.

MATERIAL E MÉTODOS: Análise das amostras de soro pela reação de Aglutinação Microscópica, utilizando os seguintes sorotipos de Leptospira: icterohaemorrhagiae, grippotyphosa, canicola, brasiliensis, pomona, bataviae, australis, pyrogenes, tarassovi, andamana, autumnalis, shermani, wolffi, javanica, panama, cynopteri, celledoni, djasiman, hebdomadis, castellonis, butembo e patoc.

RESULTADOS E CONCLUSÕES: Os dados demonstram que a doença seguiu um padrão sazonal com maior incidência no verão e outono, com pico nos meses de fevereiro e março. A água, em nosso meio, é um fator importante na veiculação da doença, quando no período das chuvas, a população entra em contato com a água das enchentes contaminada por leptospiros. Isso ocorreu principalmente na região da Grande São Paulo onde se concentrou a maioria dos casos de leptospirose (75,7%). A seguir, a região de Santos deteve 16,3% dos casos e as demais regiões apresentaram um pequeno percentual. Houve uma predominância da doença nos indivíduos do sexo masculino (91,9%) e 66,6% dos casos situaram-se entre 11 a 50 anos, sugerindo maior exposição ao risco de adquirir a infecção. A faixa etária mais atingida foi a de 21-30 anos (23,0%) e o sorotipo infectante mais prevalente encontrado neste estudo, pertenceu ao sorogrupo Icterohaemorrhagiae (69,9%), secundado pelo sorogrupo Canicola (5,9%).

Título:Febre Maculosa: apresentação de um caso clínico com comprovação etiológica no Estado de São Paulo.

Autores: Melles, H.H.B; Colombo, S.; Silva, M.V. da.

Resumo: Foi isolado riquetsia, por inoculação intrape - ritoneal em cobaias, a partir de amostra de pele de uma criança de 2 anos com sintomas clínicos de febre maculo sa.

O diagnóstico sorológico realizado através da imuno fluorescência indireta com antígeno padrão de Rickettsia rickettsii, constatou conversão sorológica de 4 vezes da 1ª amostra de sangue (1:510) para a 3ª amostra (1:2048). Evidências de infecção recente foi constatada pela presença de IgM com título de 1:128 nas 3 amostras estudadas. Considerando-se também que essa mesma conversão ocorreu quando se utilizou como antígeno o microorganismo isolado, podemos asseverar de acordo com as evidências sorológicas de que o agente isolado era a R. rickettsii.

Foi feita também detecção de anticorpos específicos para R. rickettsii no soro das cobaias inoculadas.

É importante ressaltar ainda, que não ocorreu reação cruzada com o agente causador do tifo murino

Rickettsia typhi.

Disseminação de *Mycoplasma* em culturas celulares.

Timenetsky, J. & Melo, M.S.F.

Depto. de Microbiologia. Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo - Av. Prof. Lineu Prestes, 1374 - CEP 05508 - São Paulo, SP.

Micoplasmas podem passar despercebidos em culturas celulares e causar diversas alterações citogenéticas, alterando resultados laboratoriais ou a eficácia da produção industrial. Em nosso instituto, uma linhagem celular não estava apresentando o desempenho esperado num laboratório de virologia. Desta maneira, 17 linhagens celulares foram avaliadas para a pesquisa de micoplasma. Quinze apresentaram cultura positiva (88,2%). A morfologia das colônias ("ovo frito") e os resultados das provas diferenciais (Coloração de Dienes; resistência à digitonina; produção de ácido a partir de glicose, xilose e sacarose; hidrólise da arginina, esculina e arbutina; redução do tetrazólio; produção de pigmentos carotenóides) foram os mesmos. Sugerimos desta maneira, que as culturas estavam infectadas com *Acholeplasma laidlawii*. Soro bovino fetal, tripsina e outros componentes para os meios de culturas de células não evidenciaram cultura positiva. A origem desta disseminação não foi estabelecida.

PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS PARA CITOMEGALOVÍRUS EM MULHERES NA IDADE REPRODUTIVA E RECÉM-NASCIDOS EM RECIFE-PE.

M.I.S.Linhares\*, G.P.Andrade\*, A.F.Coelho\*\*, S.Tateno\*, Y. Eizuru\*\*\*, Y.Minamishima\*\*\*.

\* Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami

\*\*Departamento Materno Infantil

Universidade Federal de Pernambuco - Recife-PE.

\*\*\*Department of Microbiology, Miyazaki Medical College, Kiyotake, Miyazaki, Japan.

RESUMO: Determinamos a prevalência de anticorpos anti-citomegalovírus (CMV) pelo método imunoenzimático (ELISA), em 363 mulheres em idade reprodutiva e 100 recém-nascidos em Recife-PE. A soropositividade foi de 55,5% e 78,0% nas mulheres gestantes de classe sócio-econômica média e baixa, respectivamente, enquanto foi de 56,5% e 87,9% para mulheres não gestantes de classes equivalentes, respectivamente. De 100 mães e bebês somente 3 jovens mães na idade de 13 a 20 anos, mas não seus bebês, foram positivas para anticorpos IgM para CMV. Verificamos que nessa amostragem a prevalência de anticorpos IgG para CMV entre mulheres na idade reprodutiva varia significativamente com a condição sócio-econômica, mas pouco com a idade e gravidez. Infecção intrauterina por CMV não foi detectada nos recém-nascidos de mães positivas para anticorpos IgM anti-citomegalovírus.

Agradecimento

Esse estudo foi financiado pela Japanese International Cooperation Agency (JICA).

## HEMAGLUTINAÇÃO DE AMOSTRAS DE BACTEROIDES FRAGILIS COM HEMÁCIAS DE DIFERENTES ORIGENS EM TEMPERATURAS DIVERSAS

R.M.C.P. Domingues & M.C. Ferreira

Departamento de Microbiologia Médica do Instituto de Microbiologia da UFRJ

O *Bacteroides fragilis*, embora seja um dos menores componentes da flora fecal, é um importante microrganismo nas infecções intra-abdominais, sugerindo, portanto, que ele possui alguns fatores de virulência que o selecionam. A adesão microbiana é um desses fatores pois já tem sido implicada como iniciadora de doenças infecciosas.

Como as técnicas de hemaglutinação oferecem, devido a sua simplicidade, subsídios para o estudo das interações entre bactéria e a superfície celular, foi nosso propósito analisar a aglutinação de 33 cepas de *B. fragilis* isoladas de flora normal e de material clínico, incluindo uma de coleção de cultura internacional (ATCC). Utilizamos hemácias humanas dos grupos sanguíneos A, B e O, e hemácias de carneiro e cobaio, em duas temperaturas de reação: 4°C e 37°C.

Foram obtidos nove modelos diferentes de hemaglutinação, onde apenas 6 das 33 amostras não apresentaram atividade hemaglutinante com qualquer dos eritrócitos. Nove amostras hemaglutinaram com hemácias humanas, de carneiro e de cobaio não só à 37°C quanto à 4°C. As demais apresentaram perfis variados de hemaglutinação não só quanto à temperatura como com as diferentes hemácias.

Esses resultados parecem sugerir a presença de diferentes estruturas, possivelmente "lectin-like", na superfície das amostras de *B. fragilis*, testadas, responsáveis pela aderência às células sanguíneas.

Órgãos financiadores: FINEP, CNPq e CEPG da UFRJ

## ADERÊNCIA DE AMOSTRAS DE BACTEROIDES FRAGILIS À DIVERSAS LINHAGENS CELULARES

R.M.C.P. Domingues & M.C. Ferreira

Departamento de Microbiologia Médica do Instituto de Microbiologia da UFRJ

Como a habilidade em colonizar a superfície epitelial tem sido aceita como um importante mecanismo patogênico, foram analisadas cinco amostras de *B. fragilis* quanto à capacidade de aderir à linhagens de células de mamíferos (Hep-2, Ma 104, MDCK e MRC-5) assim como à uma cultura primária obtida de carcaça de cobaia (guinea pig carcass - GPC). Tais amostras apresentavam graus variados de hemaglutinação à eritrócitos humanos do grupo A, em duas temperaturas de reação, 4°C e 37°C.

Todas as amostras hemaglutinantes, pelo menos à 4°C, foram capazes de aderir à GPC mas não às demais linhagens celulares testadas. Estudos de ultra-estrutura por Microscopia Eletrônica de Transmissão revelaram a presença de material capsular nas respectivas amostras aderentes, sugerindo a sua participação neste processo de adesão.

Órgãos financiadores: FINEP, CNPq e CEPG da UFRJ

PRODUÇÃO DE DNase POR ESTREPTOCOCOS BETA-HEMOLÍTI COS DOS GRUPOS SOROLÓGICOS A,B,C e G.

B.T. Ferreira; A.C.D. de Castro; T.G.F.M. Batista & L. C. Benchetrit.

A desoxiribonuclease (DNase) tem sido descrita como importante fator de virulência dos estreptococos do grupo A. Esta é produzida e liberada extracelularmente também por amostras pertencentes aos grupos B e C. Entretanto os microrganismos do grupo G não tem sido frequentemente referidos como produtores desta enzima. Nas infecções de pele, causadas por amostras do grupo A, a DNase desencadeia intensa resposta de anticorpos no soro dos pacientes, cuja detecção é mais útil no diagnóstico do que a determinação do título de antiestreptolisina O.

Neste trabalho estudamos quantitativamente a produção de DNase por 312 amostras de estreptococos utilizando-se um método baseado na medida da capacidade de descoloração do complexo DNA-verde de metila incluído em gel de agarose. A atividade enzimática específica foi determinada nos sobrenadantes das culturas e expressa como o número de unidades enzimáticas por unidade de absorvância do crescimento bacteriano. As médias das atividades específicas foram 593 (grupo A), 25 (grupo B), 161 (grupo C) e 174 (grupo G). A enzima foi elaborada por 79 das 80 amostras do grupo A, 74 das 87 do grupo B, 73 das 98 do grupo C e 36 das 59 do grupo G.

Concluimos que, pelo menos em nosso meio, a maioria dos isolados de estreptococos do grupo G são produtores de DNase em quantidades somente inferiores a produzida pelas amostras de S.pyogenes.

Orgãos Financiadores: CNPq, FINEP/PADCT, CAPES e CEPG da UFRJ

PRODUÇÃO DE FATORES DE VIRULÊNCIA DE ESTREPTOCOCOS DO GRUPO B  
" IN VIVO " .

R.G.Silva Filho, S.E.L.Fracalanza & M.C. de Mattos

Disciplina de Microbiologia da UNI-RIO e Departamento de Microbiologia Médica do IM-UFRJ.

A forma precoce da infecção neonatal por estreptococos do grupo B é caracterizada por uma alta taxa de mortalidade mesmo com a instituição de uma terapia antimicrobiana adequada quando do diagnóstico clínico. Apesar da correlação entre os diversos fatores de virulência descritos para EGB e o desenvolvimento do quadro clínico ser bastante controversa, evidências recentes sugerem que a hemolisina e o pigmento teriam um papel importante na instalação de um quadro clínico irreversível levando à morte quando inoculados em camundongos. No entanto, até o momento, não foi demonstrada a produção destes dois fatores quando da multiplicação do microrganismo no hospedeiro.

Com este objetivo, utilizamos um modelo animal que consiste na implantação cirúrgica de câmaras permeáveis contendo uma cultura de EGB do tipo II na cavidade peritoneal de camundongos. A partir do 5º dia de implantação da câmara foi possível observar a formação de pigmento alaranjado típico, particularmente na face interna das membranas de nitrocelulose que fecham a câmara. Esta produção tende a se intensificar de acordo com o prolongamento do tempo de permanência da câmara na cavidade peritoneal. Em um outro experimento utilizando células do microrganismo crescidas durante 5 dias "in vivo", foi demonstrada a produção de hemolisina, através da reação em microplacas com uma suspensão de hemácias de carneiro a 1%.

Estas evidências são a primeira demonstração da produção destes fatores de virulência quando da multiplicação do EGB em um modelo animal.

Trabalho realizado com o auxílio da FINEP; CNPq e CEPG da UFRJ.

IMPORTÂNCIA DO STAPHYLOCOCCUS AUREUS COMO AGENTE DE ABSCESSO HEPÁTICO PIOGÊNICO NA CRIANÇA

M.C.C. FERREZ 1\*; M.L. ISAAC 2\*; G.M. ROCHA 3\*; I.A. VICENTE 4\*

1 - Profa. Departamento de Puericultura e Pediatria da FMRP; 2 - Pós-graduanda do Departamento de Puericultura e Pediatria da FMRP; 3 - Prof.Dr. do Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia da FMRP; 4 - Prof. do Departamento de Cirurgia, Ortopedia e Traumatologia da FMRP.

\*Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP  
Av. Bandeirantes, 3900 - 14049 - Ribeirão Preto - USP

Apesar de ser raro, de julho de 1987 a julho de 1988, 4 crianças foram diagnosticadas como portadoras de abscesso hepático no HC-FMRP-USP, sendo 3 do sexo masculino e 1 do sexo feminino, de 5 a 8 anos de idade, procedentes de cidades da região. O tempo de história da síndrome infecciosa foi aguda (4 dias) em dois casos e subaguda (20 dias) nos outros dois. Os sinais e sintomas foram: febre (100%), dor abdominal (75%), hepatomegalia (100%), vômitos (75%) e colúria (50%). O leucograma variou de 5650 a 20150 com desvio para esquerda. A transaminase glutâmico oxalacética estava elevada em dois de três pacientes em que foi dosado. Dois pacientes estavam com pneumonia por diagnóstico clínico e radiológico. O raio X simples de abdome mostrou hepatomegalia em 3 casos e abscesso com nível gasoso em um caso. A ultrassonografia foi exame que mostrou abscesso único em 3 casos e múltiplos em um caso, e orientou para punção percutânea para cultura e drenagem em 3 casos, pois o último faleceu antes do procedimento. Em 3 casos foi isolado Staphylococcus aureus e no caso que foi a óbito bacilo gram-negativo.\* O tratamento com antibiótico parenteral durou em média 30 dias. O objetivo é mostrar a importância dos estafilococos como etiologia de abscessos hepáticos em crianças, discutindo mecanismo de infecção direta (pneumonia adjacente) e disseminação hematogênica (múltiplos abscessos), além de mostrar a vantagem diagnóstica e terapêutica da punção percutânea.

\* Os estafilococos foram fagotipados em: 80/81; 29/52A/79/83A/94/96 e outro não tipável pelos fagos disponíveis.

MARCADORES DE VIRULÊNCIA EM AMOSTRAS DE  
STAPHYLOCOCCUS COAGULASE NEGATIVO

M.A.P. DA SILVA; A. NIGRI; R. PRESMAN  
(Disciplina de Microbiologia do Departamento  
de Microbiologia e Parasitologia da UNI-RIO)

Foram estudadas 40 amostras de Staphylococcus coagulase negativos isolados de microflora normal e casos infecciosos humanos, para observar a produção de hemolisina, lecitinase, protease e gelatinase. Das amostras isoladas da microflora normal 5% produziram hemolisina, 30% protease, 11% lecitinase, 25% gelatinase. A produção de enzimas extracelulares pelas amostras isoladas de casos infecciosos humanos foi: hemolisina - 15%; protease - 40%; lecitinase - 65%; gelatinase - 35%. Houve diferença significativa somente na prova de produção de hemolisina, apesar que ainda deva ser melhor estudada, visto que os estafilococos produzem diferentes tipos de hemolisinas.

INTERAÇÃO BACTÉRIA-CÉLULA HOSPEDEIRA NA ADESÃO LOCALIZADA DE  
ESCHERICHIA COLI ENTEROPATOGÊNICA A CÉLULAS HeLa

M.L.M. Silva, R.A. Mortara, H.C. Barros, W. Souza & L.R. Trabulsi  
Escola Paulista de Medicina e Instituto de Biofísica Carlos Chagas  
Filho, UFRJ

A interação bactéria-célula hospedeira no processo de adesão localizada (AL) de E. coli enteropatogênica (EPEC) a células HeLa foi estudada através de microscopia óptica, microscopia eletrônica de varredura e da observação da distribuição de actina celular por imunofluorescência. Os testes de adesão foram realizados com E. coli 0041-1-85 (0111:H<sup>-</sup> AL<sup>+</sup>). Foi feita a cinética da adesão localizada conforme técnica padrão (período de infecção de 30min, lavagem, período de multiplicação de 3h), tendo sido o experimento interrompido em intervalos regulares. As preparações observadas por microscopia eletrônica de varredura mostraram células HeLa cobertas por microvilosidades, onde se ligam as bactérias. Durante o processo de adesão ocorre um rearranjo das microvilosidades, que são mantidas somente nos locais da adesão bacteriana. Foi também estudado o efeito da temperatura e da citocalasina D sobre a adesão e a velocidade da redistribuição dos filamentos de actina. A técnica utilizada foi a de centrifugação de bactérias sobre células crescidas em lamínulas colocadas em tubos de fundo plano. Com esta técnica foi observado um aumento do número de grumos bacterianos por célula e um rápido rearranjo dos microfilamentos de actina nos locais de adesão. O número de grumos bacterianos decai quando são utilizadas baixas temperaturas ou citocalasina D.

EFEITO DE SOROS DE CRIANÇAS COM DIARRÉIA SOBRE A ADESÃO DE  
ESCHERICHIA COLI ENTEROPATOGÊNICA (EPEC) A CÉLULAS HeLa

H.C. Barros, M.L.M. Silva & S.R.T.S. Ramos

Escola Paulista de Medicina, SP

Este trabalho teve por objetivo verificar o efeito de soros de 16 crianças internadas com diarreia por EPEC sobre a adesão a células HeLa de amostras correspondentes aos sorotipos isolados (055:H6, 0111:H<sup>-</sup>, 0111:H2, 0119:H6 e 0142:H6). Para tanto, foram utilizadas 2 amostras de soro de cada criança: uma colhida durante a fase aguda do processo diarreico e a outra na época de alta. Os soros de um paciente foram também inativados (56°C/30min) e testados na presença das mesmas amostras bacterianas citadas acima, exceto da 0111:H2. Os testes de adesão foram realizados segundo Scaletsky et al., 1985, após uma pré-incubação de 25µl da suspensão bacteriana como 100µl de soro ou PBS (controle) por 1h a 37°C. Os resultados foram analisados através da porcentagem de células HeLa apresentando bactérias aderidas em cada experimento. As duas amostras de soro de cada criança inibiram significativamente a adesão de amostras homólogas e heterólogas, sendo total em muitos casos. Estes dados sugerem que a inibição de adesão se deve a fatores desenvolvidos pela própria criança (provavelmente anticorpos IgM na fase aguda). Os soros inativados mostraram inibição menor que os não inativados, demonstrando participação do complemento. Além disso, fatores inespecíficos presentes no soro também podem estar presentes.

EFEITO DO COLOSTRO E LEITE MATERNO SOBRE A ADESÃO LOCALIZADA DE  
ESCHERICHIA COLI ENTEROPATOGÊNICA A CÉLULAS HeLa

M.L.M. Silva & C.M.S. Giampaglia

Escola Paulista de Medicina

A ação protetora do colostro e leite materno nas diarreias infantis por E. coli enteropatogênica (EPEC) foi estudada através de testes de adesão dessas bactérias a células HeLa. Foram utilizadas 5 amostras de colostro e três de leite humano nos testes de adesão de 8 amostras de EPEC pertencentes aos sorotipos O55:H<sup>-</sup>, H6 e H7; O86:H34; O111:H<sup>-</sup> e H2; O119:H6 e O142:H6. Os testes foram realizados em 4 diferentes condições, com e sem pré-incubação das bactérias ou células com as amostras de colostro e leite. Os resultados foram analisados através da porcentagem de células HeLa apresentando bactérias aderidas em cada experimento. Foi observado que testes realizados na presença de colostro ou leite mostram uma redução drástica na adesão das 8 amostras bacterianas a células HeLa. A pré-incubação das células com colostro ou leite pode aumentar essa inibição, o mesmo não ocorrendo se a pré-incubação for feita com as bactérias. A inibição de determinados sorotipos variou conforme a amostra de leite utilizada, provavelmente devido a exposição das mães à EPEC de diferentes sorotipos. Testes de adesão por centrifugação e curvas de crescimento realizados na presença de leite materno sugerem que o efeito inibitório ocorre a nível da adesão e não da multiplicação bacteriana.

PADRONIZAÇÃO DE UM SISTEMA "IN VITRO" PARA ESTUDOS DE ADERÊNCIA DE ESCHERICHIA COLI ENTEROPATOGÊNICA À MUCOSA INTESTINAL HUMANA

M.Z. Pedroso, T.A.T. Gomes & L.R. Travassos

Escola Paulista de Medicina, SP

Para estudar a capacidade aderente de amostras de Escherichia coli à mucosa intestinal humana foi adaptado um sistema de cultivo de órgão "in vitro" a partir de fragmentos duodenais humanos colhidos, por via endoscópica, de pacientes adultos normais. Neste sistema foram testadas uma amostra de E. coli enteropatogênica clássica (sorotipo 0111:H<sup>-</sup>) e uma amostra de E. coli K12 HB101 não patogênica; a interação bacteriana com a mucosa foi analisada por intermédio de cortes histológicos corados com Giemsa.

Com a amostra de E. coli 0111:H<sup>-</sup>, foram observadas áreas de adesão bacteriana em diversas regiões dos vilos intestinais; aparentemente as bactérias estavam associadas à borda em escova dos enterócitos. Os testes com E. coli HB101 não apresentaram focos bacterianos associados à mucosa, embora esta estivesse bem preservada.

Este sistema, que emprega mucosa intestinal humana, possibilitará o estudo de diferentes mecanismos de adesão bacteriana de uma forma mais próxima ao que ocorre "in vivo" e, consequentemente, auxiliará o esclarecimento dos mecanismos de virulência de E. coli enteropatogênica associados à gênese da diarreia humana

ESTABILIDADE E EXPRESSÃO DA CARACTERÍSTICA ADESÃO LOCALIZADA (AL) EM TRANSCONJUGANTES DE AMOSTRAS DE ESCHERICHIA COLI AL<sup>-</sup> PERTENCENTES A DIFERENTES SOROTIPOS

M.L.M. Silva, R.M. Silva & M.Z. Laporta

Escola Paulista de Medicina, SP

A característica adesão localizada (AL) a células hospedeiras tem sido apontada como um fator de virulência da Escherichia coli enteropatogênica (EPEC). Neste trabalho foi estudada a estabilidade e expressão do plasmídeo pMS71 (SuSmCmAp AL) em 40 amostras de Escherichia coli AL<sup>-</sup> pertencentes a 32 sorotipos diferentes, enteropatogênicos ou não. O plasmídeo foi introduzido nessas amostras por conjugação e os transconjugantes foram selecionados através de resistência a drogas. Sete amostras receberam o plasmídeo (sorogrupo 03, 033, 037, 055, 086, 0119 e 0127), detectado através da resistência a ampicilina e eletroforese em gel de agarose, cindo das quais expressaram AL. A transferência de pMS71 para os sorogrupos 03 e 037 foi obtida através de mobilização. Em alguns casos foi observada incompatibilidade entre pMS71 e os plasmídios presentes na receptora. Os transconjugantes foram estocados por dois anos e testados novamente quanto à resistência a drogas, conteúdo plasmidial, adesão e presença dos genes AL através da sonda EAF. Verificou-se que o plasmídeo foi mantido em todas as amostras de forma estável. Entretanto, a expressão da característica AL em 5 dos 7 transconjugantes, embora indiscutível quando testados imediatamente após a sua obtenção, vem sendo perdida nos sorogrupos 055 e 086. Por outro lado, os transconjugantes de 033 e 037 mostraram-se não aderentes desde a sua obtenção, embora tenham conservado o plasmídeo aparentemente intacto nestes dois anos. O fato de todos os transconjugantes apresentarem o plasmídeo de adesão, mas essa característica ser preferencialmente expressada nos sorogrupos pertencentes a EPEC, sugere que genes cromossômicos devam estar envolvidos no processo de adesão.

FATORES DE VIRULÊNCIA EM AMOSTRAS DE E. COLI DO SOROGRUPO 029 E SUA RELAÇÃO COM SOROTIPOS, PERFIL PLASMIDIAL E CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS.

B.E.C. Guth, R.M. Silva, M.R.F. Toledo, T.M.O Lima, L.R. Trabulsi  
Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia. Escola Paulista de Medicina, São Paulo

Amostras de E. coli pertencentes ao sorogrupo 029 foram primeiramente caracterizadas como invasoras porém, alguns trabalhos também descrevem a produção de enterotoxina termo-estável (ST-1). O objetivo desse estudo foi verificar a existência de uma correlação entre os fatores de virulência e o sorotipo, perfil plasmidial, e características bioquímicas de amostras de E. coli desse sorogrupo, isoladas de diarreia. Testes em animais, cultura de células e hibridização com sondas específicas foram utilizados para detecção da capacidade invasora, aderência, produção de enterotoxinas e citotoxinas. Verificou-se que entre as 25 amostras estudadas 5 eram invasoras, 10 produziam ST-1 e 10 não apresentavam os fatores de virulência pesquisados. As amostras invasoras pertenciam ao sorotipo 029:H<sup>-</sup> enquanto que todas as amostras toxigênicas apresentavam o sorotipo 029:H21. As demais amostras pertenciam a sorotipos diferentes. Amostras invasoras foram bioquimicamente menos ativas do que as toxigênicas e apresentavam o plasmídio de invasão. Testes de hibridização demonstraram que a produção de ST-1 estava relacionada a um plasmídio de 90 Mdal. Parece, portanto que um padrão bioquímico específico, o sorotipo e perfil plasmidial seriam características úteis para distinguir amostras de E. coli 029 invasoras, toxigênicas das não patogênicas.

PRODUÇÃO DE CITOTOXINA POR AMOSTRAS DE *Escherichia coli* E OUTRAS BACTÉRIAS ISOLADAS DE DIARRÉIA INFANTIL

R.GIRALDI, B.E.C.GUTH & L.R.TRABULSI

Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da Escola Paulista de Medicina.

A produção de citotoxinas semelhantes à toxina de Shiga (SLT-I e SLT-II) foi estudada em filtrados de 466 amostras de *E. coli*, 19 *Aeromonas*, 8 *Citrobacter*, 10 *Edwardsiella*, 14 *Enterobacter*, 18 *Klebsiella*, 20 *Proteus*, 4 *Providencia*, 7 *Pseudomonas*, 20 *Salmonella*, 4 *Serratia*, 29 *Shigella*, 9 *Yersinia* e 46 *Vibrio*. Estas amostras foram isoladas, em sua maioria de diarréia infantil, com exceção das amostras de *Vibrio*, isoladas de água. Os testes foram realizados em cultura de células HeLa e Vero, e os soros anti-SLT-I e anti-SLT-II foram utilizados em testes de neutralização.

Uma baixa frequência de produção de citotoxina foi detectada entre as amostras estudadas. A produção de SLT-I foi verificada em 1 amostra de *E. coli*, 5 EPEC e 1 *Shigella dysenteriae* tipo 1. As amostras de EPEC pertenciam aos sorotipos O111:H<sup>-</sup> (2 amostras), O111:H2 (2) e O119:H6 (1), sendo que citotoxina foi detectada apenas nos sonicados bacterianos. Em 5 amostras de *Aeromonas* foi verificada produção de citotoxina porém, não neutralizável pelos soros anti-SLT-I e/ou anti-SLT-II. Não se detectou produção de SLT-II entre as amostras estudadas.

Embora produção de citotoxina tenha sido observada apenas em amostras isoladas de diarréia, não se pode estabelecer uma relação importante entre estes dois fatores em nosso meio. Além disto, o significado da produção de baixos níveis de citotoxina, verificado em algumas EPEC, na patogênese da diarréia precisa ser melhor estudado.

PESQUISA DE NOVAS FÍMBRIAS DE ADERÊNCIA EM AMOSTRAS DE  
Escherichia coli ENTEROTOXIGÊNICAS ISOLADAS DE CASOS  
DE DIARRÉIA HUMANA

L.C.Ricci\*, F.P.de Faria\* & A.F.P. de Castro\*

\* Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biologia da UNICAMP

De casos de diarréia em crianças na região de Ouro Preto, foram identificadas 17 amostras LP+ e 7 STa+. Uma vez que através de provas sorológicas de hemaglutinação manose resistente com hemácias humanas, bovinas e de galinha não caracterizamos padrão sorológico e hemaglutinante compatível ao das fímbrias de aderência já conhecidas, essas amostras foram pesquisadas com o objetivo de caracterizarmos possíveis novas fímbrias de aderência. Desta forma as mesmas foram semeadas nos meios CFA, Minca e Meio Mínimo e testadas em provas de hemaglutinação e microhemaglutinação manose-resistente com hemácias humanas, bovinas, de galinha, cobaia e cavalo. Verificamos em algumas delas características hemaglutinantes novas, o que nos leva a crer que devam possuir fímbrias de aderência que divergem das já descritas em amostras ETEC humanas, até o momento.

Este projeto recebeu apoio financeiro do CNPq, FAP e FINEP.

PESQUISA DE CFA I, CFA II E E8775 EM AMOSTRAS DE  
Escherichia coli ENTEROTOXIGÊNICAS (ETEC), ISOLADAS DE  
CASOS DE DIARRÉIA EM CRIANÇAS NA REGIÃO DE PAULÍNIA  
S.P.

L.C.Ricci\*, P.S.de Siqueira\*, G.R.E.Tavares\* & A.F.P.de Castro\*

\* Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biologia da UNICAMP.

Com o objetivo de tentarmos caracterizar fímbrias de aderência conhecidas nas amostras de ETEC isoladas de casos de diarréia em crianças na região de Paulínia, SP, 30 amostras LT+, 28 STa+ e 4 LT+STa+ foram pesquisadas quanto ao padrão de hemaglutinação. Desta forma, foram realizadas provas de hemaglutinação manose resistente com hemácias humanas, de boi e de galinha. Posteriormente, também se pesquisou sorologicamente as mesmas amostras, através dos soros específicos a-CFA I, a-CFA II, e a-E8775. Nenhuma amostra, dentre as pesquisadas, apresentou resultado compatível com o padrão hemaglutinante e antigênico dessas fímbrias. Entretanto quatro amostras ETEC hemaglutinaram só hemácias humanas, quatro só hemácias de galinha, duas hemácias bovinas e de galinha com sorologia para CFA II negativa e duas só hemácias humanas e bovinas, com sorologia para CFA I negativa.

Este projeto recebeu apoio financeiro do CNPq, FAP e FINEP.

ESTUDO PRELIMINAR DOS FATORES DE PATOGENICIDADE DE EPEC DE ORIGEM HUMANA.

A.H. KOBAYASHI\*; A. CARNIETO JR\*; A.O. MOCELIN\*; R.G. BALAN\*; H.O. SARIDAKIS\*\*.

Departamento de Patologia Geral - Centro de Ciências Biológicas - Universidade Estadual de Londrina.

Doze cepas de E.coli enteropatogênica clássica isoladas de crianças com diarreia na faixa etária de 25 dias a 4 anos foram submetidas a testes bioquímicos, identificação sorológica, antibiograma e testes para produção de colicinas.

Os sorogrupos encontrados foram : 0111 - 6 casos (50%), 0125 - 2 casos (16,7%), 026 - 1 caso (8,3%), 0119 - 1 caso (8,3%), 0142 - 1 caso (8,3%), 0158 - 1 caso (8,3%).

A biotipagem apresentou grande variação, não sendo possível definir biotipos específicos ou correlacioná-los com sorogrupos. Colicina foi produzida por 3 cepas (25%), todas pertencentes ao sorogrupo 0111. O sorogrupo 0111 esteve associado com alta frequência de resistência a antibióticos (cloranfenicol, tetraciclina, gentamicina), o que não ocorreu com os demais sorogrupos estudados.

\* Estagiários de Microbiologia do Dptº. de Patologia Geral. CCB/FUEL.

\*\* Docente do Deptº. de Patologia Geral. CCB/FUEL.

FATORES DE VIRULÊNCIA DE *Escherichia coli* URINÁRIA

M.C. VIDOTTO & M.C.FURLANETO

Departamento de Patologia Geral-CCB-UEL  
Londrina-PR.

Foram estudadas 100 amostras de *E.coli* isoladas de urinoculturas positivas de pacientes do Hospital Universitário de Londrina quanto à produção de hemolisinas, colicinas, capacidade de crescer na presença de soro normal humano (resistência sérica) e hemoglutinação (HA) monose sensível (MS) e monose resistente (MR).

Trinta e dois por cento das amostras são hemolíticas em ágar com 5% de sangue de carneiro, 25% produzem colicina V, 45% aglutinam eritrócitos humanos na presença de monose (MRHA) e 50% apresentam MSHA. A análise dos dados revela uma significativa correlação entre a produção de hemolisinas, resistência sérica e MRHA. Das 32 amostras hemolíticas, 22 (68%) são produtoras de adesinas MR e MS e 16 (50%) são resistentes ao soro; das 45 amostras resistentes ao soro, 22 (49%) dão MRHA e MSHA; das 25 amostras colicinogênicas, 10 (40%) dão MRHA e MSHA.

Reação de coaglutinação estafilocócica para detecção de enterotoxina termolábil (LT) de Escherichia coli.

A.D. Barbosa; R.M. Yanaguita; L.A. Silva & A.E. Gílio

Departamento de Microbiologia - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

O objetivo do presente trabalho foi pesquisar enterotoxina termolábil (LT) em amostras de E. coli hospitalar pela técnica de coaglutinação estafilocócica usando cepa Cowan I corada com Ponceau S.

As amostras de E. coli foram isoladas de 100 crianças internadas na Pediatria do Hospital Universitário da USP, sendo pesquisada uma amostra bacteriana por criança e todas negativas para EPEC (E. coli enteropatogênica).

A suspensão de Staphylococcus aureus foi preparada pela técnica de Kronvall e sensibilizada com soro hiperimune anti-CT (anti toxina colérica).

Obteve-se 7 amostras (7%) produtoras de LT. Concluiu-se que esta técnica poderá substituir os ensaios biológicos e imunológicos, uma vez que apresenta sensibilidade compatível com as técnicas que usam culturas celulares Y<sub>1</sub> e CHO.

PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FIMBRIAS DE Salmonella agona e Salmonella adelaide.

M. EHARA\* , S.A. FERNANDES\*\* , M. ISHIBASHI\* , e Y. ICHINOSE\*

Institut of Tropical Medicine , Nagasaki , Japan.\*  
Instituto Adolfo Lutz\*\*

A aderência bacteriana às células da mucosa é geralmente considerada como uma etapa fundamental no estabelecimento de uma infecção. Nos diferentes grupos bacterianos estudados, as organelas que facilitam a adesão bacteriana às células são as fimbrias ou pili. Considerando que no Brasil as salmoneloses de origem animal, principalmente as hospitalares, constituem um sério problema de saúde pública, o objetivo deste trabalho foi caracterizar as fimbrias de S. agona, segundo sorotipo mais frequentemente isolado no nosso meio. As fimbrias foram extraídas e purificadas pelo método de Korhonen e cols. A caracterização foi realizada pela microscopia e imunomicroscopia eletrônica. Para a determinação do peso molecular das subunidades foi utilizada a eletroforese em gel de poliacrilamida pelo método de Laemmli. Anticorpos anti-fimbria de S. agona e S. adelaide foram produzidos em coelhos, e a técnica de Western-blotting foi utilizada no estudo do reconhecimento antigênico. Propriedades hemaglutinantes foram determinadas pela técnica de Jones e Freter. Verificou-se que o diâmetro das fimbrias era de 5 a 7 nm e suas subunidades tinham um peso molecular de 21.000 Da. Aminoácidos hidrofóbicos das fimbrias compreendiam 32% da composição total dos aminoácidos. Células íntegras fimbriadas possuíam atividade hemaglutinante inibida pela D-manose, no entanto, fimbrias purificadas não possuíam nenhuma propriedade de hemaglutinação. Anticorpos anti-fimbrias reconheciam as fimbrias íntegras (totais), porém não as suas subunidades. Determinantes antigênicos comuns estão presentes nas fimbrias de S. agona e S. adelaide. Considerando as fimbrias como um possível fator de virulência em Salmonella, após sua caracterização será verificada a sua implicação na adesão às células, etapa inicial da infecção.

## INVASIBILIDADE E DETECÇÃO DE PLASMÍDEOS EM AMOSTRAS DE YERSINIA spp

M.I.R. Apfel; A. Tibana; M.A.L. Miguel & A.L.S. Noletto

Departamento de Microbiologia Médica, Instituto de Microbiologia da UFRJ

Foram estudadas 5 amostras de Yersinia spp. que apresentaram potencial de virulência em testes preliminares. Destas, 4 amostras foram isoladas de alimentos e uma de fezes diarréicas de cão. Y. enterocolitica 0:8 (NCTC 10938) foi utilizada como padrão. Determinou-se a invasibilidade em olho de cobaio (teste de Sereny), dose letal (LD<sub>50</sub>) em camundongos, presença de plasmídeos e cinética de infecção em diferentes órgãos de camundongos suíços após inoculação endovenosa. Para a cinética de infecção os animais foram observados diariamente e sacrificados em intervalos de 6 horas e 3,6, 10, 14 e 21 dias após inoculação, para observação de alterações macroscópicas e microscópicas dos diferentes órgãos, contagem de bactérias viáveis no sangue e homogeneizado destes órgãos.

Y. enterocolitica 0:8 (LD<sub>50</sub>=3,8x10<sup>4</sup> UFC/ml, plasmídeos de 82,42 e 9,4Mdal, teste de Sereny+) foi isolada de todos os órgãos e do sangue provocando abscessos no fígado, baço e linfonodos, sendo que todos os animais apresentaram diarréia e morreram na primeira semana de infecção. Y. enterocolitica 0:5 (LD<sub>50</sub>=4,8x10<sup>7</sup> UFC/ml plasmídeos de 42 e 9,4Mdal, teste de Sereny+) provocou hipertrofia dos linfonodos, áreas claras no fígado e placas de Peyer (após o 6º e 10º dias respectivamente). Os exames histopatológicos apresentaram áreas de necrose no baço e fígado regredindo no 10º e 14º dias respectivamente, sendo possível detectar a presença de células viáveis em todos os órgãos. Y. intermedia 0:13, 7Xz (plasmídeos de 88, 42 e 8,8Mdal), Y. enterocolitica 0:16Xz (plasmídeos de 54 e 9,4Mdal) Y. intermedia 0:29Xz (plasmídeos de 27 e 8,8Mdal), Y. intermedia NAG Xo (deteção de plasmídeo não realizada) foram isoladas do baço e fígado apenas nas 6 horas após inoculação, provocaram hipertrofia e hiperplasia de linfonodos e/ou placas de Peyer. A amostra Y. enterocolitica 0:16Xz foi também isolada dos rins, linfonodos e sangue (6 horas).

Órgãos financiadores: CNPq, FINEP, CEPG da UFRJ

OCORRÊNCIA DE FATORES DE VIRULÊNCIA EM CEPAS DE YERSINIA SPP DE DIFERENTES SOROTIPOS.

T.M. Bauab & D.P. Falcão

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara - UNESP

A virulência em Yersinia tem sido associada à presença de plasmídeo ou classe de plasmídios de 40-48 MDa. A expressão desse determinante genético confere diversas propriedades fenotípicas fortemente influenciadas pela temperatura, como: dependência nutricional ao cálcio, ocorrência de antígeno VWa, capacidade de autoaglutinação e resistência ao soro humano normal, entre outras. Objetivou-se avaliar a ocorrência destes fatores de virulência em diferentes cepas de Yersinia spp. Foram utilizadas 19 amostras, sendo 16 de Y. enterocolitica, uma de Y. intermedia, uma de Y. frederiksenii e uma de Y. kristensenii, analisadas quanto a ocorrência de plasmídeo, dependência de cálcio à 37°C, ocorrência de antígeno VWa, autoaglutinação e resistência ao soro humano normal. Destas, 6 cepas de Y. enterocolitica dos sorotipos 0:8 e 0:3 apresentaram plasmídeo de 40-48 MDa e positividade nos testes de dependência de cálcio, antígeno VWa, autoaglutinação e resistência ao soro. Seus respectivos derivados desprovidos do referido plasmídeo, bem como as demais cepas, apresentaram-se negativos em todos os testes de virulência testados. Demonstrou-se assim, estreita correlação entre a presença do plasmídeo de 40-48 MDa e positividade nos testes de dependência de cálcio, ocorrência de antígeno VWa, autoaglutinação e resistência ao soro humano normal.

COMPARAÇÃO DA CINÉTICA DE INFECÇÃO EM ANIMAIS INFECTADOS COM CEPAS DE YERSINIA PORTADORAS E NÃO PORTADORAS DE PLASMÍDIO DE VIRULÊNCIA

T.M. Bauab & D.P. Falcão

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara - UNESP

A virulência de patógenos pertencentes ao gênero Yersinia, tem sido associada à ocorrência de plasmídeo de 40-48 Mda. Objetivou-se avaliar a capacidade invasora de cepas portadoras ou não do referido plasmídeo, inoculadas experimentalmente em animais.

Foram utilizadas cepas de Y. enterocolitica pertencentes a diferentes sorotipos e de Y. intermedia, Y. frederiksenii e Y. kristensenii, portadoras do plasmídeo de 40-48 Mda, seus derivados desprovidos do referido plasmídeo e cepas originalmente não portadoras do mesmo. As amostras foram inoculadas em camundongos por via intragástrica. Após 6 horas, 3, 6, 10, 15, 21 e 30 dias da inoculação, lotes de animais foram sacrificados e deles retirados o baço, fígado, rins, gânglios mesentéricos, placas de Peyer, ceco e 0,5 ml de sangue, onde os microrganismos foram pesquisados. Observou-se que as cepas portadoras de plasmídeo, seus respectivos derivados e outras do sorotipo 0:3 inicialmente não carreadoras do mesmo, foram capazes de penetrar e multiplicar-se nos diferentes órgãos e tecidos dos animais, nos diferentes períodos de tempo. As demais foram pouco invasoras. Estes resultados sugerem que o papel do plasmídeo na infecção, não se relaciona à capacidade de invasão das cepas que o possuem.

VIRULENCE FACTORS OF AEROMONAS STRAINS ISOLATED FROM FAECES OF CHILDREN WITH AND WITHOUT DIARRHOEA

K.S. GHENGESH, M.R.F. Toledo &amp; L.R. Trabulsi

Disciplina de Microbiologia, Escola Paulista de Medicina, São Paulo

A total of 39 Aeromonas strains, isolated from children with and without diarrhoea, were surveyed for the production of haemolysin (human and sheep erythrocytes model), cytotoxin (HeLa and Vero cells model), heat-stable (ST)-enterotoxin (infant mouse model), invasion ability (HeLa cells and Serény test), and ability to adhere to HeLa cells. Of the 39 Aeromonas isolates, 6 strains (3 from patients) were A. hydrophila, 8 strains (5 from patients) were A. sobria, and 25 strains (17 from patients) were A. caviae. In general a significant correlation was found only between the production of haemolysin, cytotoxin, and A. hydrophila and A. sobria species, regardless of whether isolated from patients or controls. Only one A. hydrophila and one A. caviae isolates were positive in the infant mouse test. Most of the tests performed with A. hydrophila and A. sobria strains in the HeLa adhesion and invasion assays could not be interpreted since these strains produced cytotoxin which detaches the cell monolayers. The 2 A. hydrophila strains analysed (both from patients) adhered weakly to HeLa cells and one was invasive in HeLa. Of the 4 A. sobria strains analysed, 3 (from patients) were positive in the HeLa invasion test, while the fourth (from a control) was negative. Aeromonas sobria strains analysed exhibited moderate adherence to HeLa cells. Most A. caviae strains, whether from patients or controls, showed strong adherence to HeLa cells, and the majority were invasive in HeLa. All Aeromonas strains were negative in the Serény test, although they were positive in HeLa cells.

DETECÇÃO DE TOXINAS POR AMOSTRAS DE AEROMONAS VERONII

M.S. Neves; M.P. Nunes; A.M. Milhomem & I. D. Ricciardi

Departamento de Microbiologia Médica do Instituto de Microbiologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

O gênero Aeromonas encontra-se atualmente situado na família Vibrionaceae possuindo espécies que tem sido constantemente implicadas em uma variedade de patologias tanto em humanos como em animais. A.veronii espécie móvel e ornitina descarboxilase positiva foi isolada de materiais clínicos por Hickman-Brenner em 1987.

A partir de água doce e salgada coletadas em diversos locais da cidade do Rio de Janeiro foram isoladas quinze amostras de A.veronii. Setenta e três por cento foram positivas para a enterotoxina semelhante a ST de E.coli e detectadas pelo teste do camundongo recém nascido. Quatorze amostras (93,3%) foram produtoras de hemolisina, pelo teste em tubo. Das 14 amostras de A.veronii produtoras de hemolisina, sete foram investigadas para produção de citotoxina em cultura de células Vero e todas produziram efeitos citopáticos. A detecção de enterotoxina e citotoxina em A.veronii é de grande importância pelo fato das mesmas não terem ainda sido descritas nessa espécie.

Órgãos Financiadores: CEPG, CAPES, CNPq e FINEP

CARACTERIZAÇÃO DOS FATORES POSSIVELMENTE ENVOLVIDOS NA CAPACIDADE DE AGRESSÃO DE VIBRIO VULNIFICUS.

D.P.Rodrigues\*; R.V.Ribeiro\*; J.E.C.Moura Costa\*\*; R.M. Alves\*\*; J.C.Valentim\*\*; E.Hofer\*\*.

Departamento de Bacteriologia - Instituto Oswaldo Cruz - FIOCRUZ

V.vulnificus é talvez a mais invasiva das espécies de Vibrio, podendo determinar septicemia, com elevado índice de mortalidade, através da ingestão de alimentos ou, celulite com propagação no tecido muscular, pelo contato com a água do mar. Muitos fatores estão implicados em sua patogenicidade, contudo o mecanismo real ainda não está esclarecido.

Objetivando verificar sua capacidade de agressão, avaliamos em 20 amostras, mantidas em agar tamponado à temperatura ambiente (15 de praias e 5 de ostras), oriundas do litoral do Rio de Janeiro, as características bioquímicas, morfologia colonial (Variação O-T), presença de enzimas, segundo técnicas descritas por Thorpe et alii (1981), West & Colwell (1984) e Rodrigues & Hofer (1986) e capacidade de agressão em modelo animal (camundongo adulto e recém nato), segundo Bowdre (1981) e Nishibuchi & Seidler (1983).

As características bioquímicas das duas amostragens (água e ostra) revelaram comportamento semelhante, tendo variações mais concordantes com a bibliografia consultada, nas oriundas de ostras.

Na avaliação da morfologia colonial, as condições de manutenção, não influenciaram, visto que obtivemos colonias opacas em todas as amostras.

Quanto a presença de diferentes enzimas e sua relação à patogenicidade, observa-se, na literatura, uma correlação entre a produção de colagenase, elastase e gelatinase, com a capacidade de agressão em modelo animal. Nas amostras estudadas, há concordância em apenas 5%. Contudo, quando avaliamos somente a letalidade em camundongo adulto, verificamos que 65% atuaram sobre este modelo. Em relação ao recém nato, nem todas foram capazes de determinar acúmulo de fluido, o que é justificado em função do procedimento empregado para a extração da toxina e a necessidade de células viáveis quando da utilização deste modelo animal.

\* FIOCRUZ - UFRJ

\*\* FIOCRUZ

**VIBRIO CHOLERAE NÃO O1: PESQUISA DOS FATORES DE PERMEABILIDADE VASCULAR E DE ACÚMULO DE FLUIDO INTESTINAL.**

D.P.Rodrigues\*; R.V.Ribeiro\*; J.E.C.Moura Costa\*\*; R.M. Alves\*\*; J.C.Valentim\*\*; E.Hofer\*\*.

Departamento de Bacteriologia - Instituto Oswaldo Cruz - FIOCRUZ

V.cholerae não O1, isolado do meio ambiente e de pacientes com diarreia, podem produzir uma enterotoxina semelhante à colérica e certos fatores como os de permeabilidade vascular, hemorrágicos e citotóxicos.

Na tentativa de avaliar algumas destas propriedades (permeabilidade vascular-PF e acúmulo de fluido intestinal), foram analisadas 190 amostras, oriundas de águas de praias do município do Rio de Janeiro.

A metodologia empregada na extração da toxina para o primeiro ensaio, consistiu inicialmente na utilização de duas técnicas (Ohashi et alii, 1972 e Gyobu et alii, 1984) em 30% da amostragem. Os resultados obtidos foram semelhantes, optando-se pela segunda, na qual é utilizado o Hearth Infusion Broth, para o crescimento das amostras. Após 18h a 37°C, a cultura foi centrifugada (10000g/4°C/1 hora) e 0,1 ml do sobrenadante inoculado por via subcutânea em três cobaias (10 amostras/animal). Quanto ao acúmulo de fluido intestinal em camundongo recém nato (CRN), seguiu-se a orientação de Nishibuchi & Seidler, 1984 (5 animais por amostra), com inoculação intragástrica, através de catéter. Assinala-se que este ensaio, foi efetuado em 27% da amostragem.

Na avaliação dos resultados, observou-se que 42,5% das amostras foram capazes de determinar o aumento da permeabilidade vascular. Este modelo animal, mostrou-se plenamente satisfatório pelas características quanto à resposta e a reprodutividade dos ensaios efetuados.

Quanto ao CRN, 24% das cepas produziram acúmulo de líquidos no lúmen intestinal, salientando-se no entanto, que foi impossível estabelecer qualquer associação entre os dois ensaios.

Admite-se, com base nos dados obtidos e circunstancia dos nas observações de Gyobu et alii (1988), que tais fatores podem desempenhar um importante papel no mecanismo de patogenicidade de V.cholerae não O1.

\* FIOCRUZ - UFRJ

\*\* FIOCRUZ

VIBRIO CHOLERAE NÃO 01: CORRELAÇÃO ENTRE SOROGRUPOS E A OCORRÊNCIA DO FATOR DE PERMEABILIDADE VASCULAR (PF).

D.Ernandez, S.E.A. da Silva e E.Hofer

Laboratório de Vibrio, Departamento de Bacteriologia, Instituto Oswaldo Cruz-FIOCRUZ, Rio de Janeiro-R.J.

A evidenciação da atividade enterotoxigênica em amostras de Vibrio cholerae não 01, pelo modelo experimental do aumento da Permeabilidade Vasculuar (PF) em pele de coelho e cobaia, após inoculação intradérmica de preparos enterotóxicos, substitue em certas condições as técnicas de verificação "in vitro" e "in vivo" (Craig, Nature, 207:614-616, 1965 e Evans & Evans, Infect. Immun. 8: 725-730, 1973).

Do ponto de vista epidemiológico, salienta-se que alguns sorogrupos estão envolvidos primariamente em certos processos patológicos. Assim sendo, procurou-se analisar a freqüência desses tipos sorológicos em águas residuais, e a ocorrência do Fator de Permeabilidade (PF).

A identificação sorológica das amostras foi realizada pelo Dr. Riichi Sakazaki, National Institute of Health, Japão.

No cômputo geral, em 46 amostras de Vibrio cholerae não 01, provenientes dos afluentes das estações de tratamento de esgotos da Ilha do Governador e Penha (R.J.) observou-se a predominância do sorogrupo 64 com 13,00%, seguindo-se do 51 com 6,5% e do 19 com 4,3%. Ressalta-se que em 100% das amostras dos sorogrupos predominantes, observou-se reação positiva para o Fator de Permeabilidade Vasculuar (diâmetro acima de 4 mm).

## ESTUDO ETIOLÓGICO DE DIARRÉIA AGUDA EM CRIANÇAS HOSPITALIZADAS

M.B. de ASSIS &amp; E.M. MAMIZUKA

Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP.

Foram realizadas coproculturas de 244 crianças com diarréia aguda internadas no Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, com idade de 0 a 12 meses, no período de abril de 1985 a maio de 1986, com a finalidade de determinar a etiologia e a frequência de isolamento de enteropatógenos. O tempo médio de internação foi de 5 dias, com mínimo de 2 e máximo de 40 dias.

Seguiu-se a metodologia de Edward e Ewing para identificação de enterobactérias patogênicas. As toxinas termo-lábil (LT) e termo-estável (ST) de Escherichia coli enterotoxigênica (ETEC) foram determinadas pelo método de hibridização de DNA segundo a técnica de Maas e cols. Para identificação de Campylobacter termofílico seguiu-se a metodologia de Skirrow modificado e o método imunoenzimático (Rotazyme-Abbott) para detecção de Rotavirus.

As bactérias enteropatogênicas e o Rotavirus foram isolados de 62,7% (153/244) dos casos. Os agentes mais prevalentes foram: Escherichia coli enteropatogênica clássica (EPEC) isolada em 35,2% (86/244) dos casos, Rotavirus em 32,3% (79/244), Salmonella sp não tifosa em 15,1% (37/244), Shigella sp em 4,9% (12/244), Escherichia coli enterotoxigênica (ETEC) em 4,0% (10/244) Campylobacter termofílico em 2,4% (6/244) e Escherichia coli invasora (EIEC) em 0,4% (1/244).

A predominância da Escherichia coli (EPEC) e do Rotavirus foi verificada em todas as faixas etárias estudadas.

Em 39,2% (60/153) de casos positivos foi observada infecção mista por dois ou mais agentes etiológicos, sendo que a maioria 95% (57/60) destas infecções ocorreu em crianças com o período de internação acima de 5 dias.

Os dados mostraram que quanto maior o período de internação maior a ocorrência de infecção mista.

## ETIOLOGIA DA DIARRÉIA AGUDA EM CRIANÇAS

E.A, Lomazi<sup>\*</sup>; M.S.V. Gatti<sup>\*\*</sup>; L.C. Ricci<sup>\*\*</sup>; M.M.G. Ferraz<sup>\*\*</sup>;  
 P.S. Siqueira<sup>\*\*</sup> & A.F.P. de Castro<sup>\*\*</sup>

\* Departamento de Pediatria da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP.

\*\* Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biologia da UNICAMP.

Os autores realizaram um estudo prospectivo para pesquisar a etiologia da diarréia aguda em pacientes atendidos nos serviços de atenção primária à saúde do Município de Paulínia - São Paulo. No período de outubro de 87 a outubro de 88 foram estudadas 342 crianças na faixa etária de 1 mês a 12 anos de vida. Para cada paciente na vigência de um episódio de diarréia aguda foi colhido uma amostra de fezes na qual se pesquisou os seguintes agentes bacterianos enteropatogênicos: EPEC, ETEC, EIEC, Shigella, Salmonella, Campylobacter e Yersinia e os vírus: Rotavírus e Adenovírus entéricos. Bactérias enteropatogênicas foram encontradas nas coproculturas de 137 (42,9%) pacientes e vírus em 57 (16,6%). Entre as bactérias foi verificada a seguinte distribuição: ETEC - 59 (17,5%), EPEC - 42 (12,2%), Shigella - 32 (9,3%), EIEC - 4 (1,1%), Salmonella - 0 (0%), Campylobacter - 0 (0%) e Yersinia - 0 (0%).

Agentes virais foram encontrados em 57 pacientes, sendo que em 54 deles, foi identificado Rotavírus e em 3 o Adenovírus.

Este projeto recebeu apoio financeiro da FAP e FINEP.

ETIOLOGIA DA DIARRÉIA AGUDA ENDÊMICA EM ADOLESCENTES E ADULTOS NA CIDADE DE SÃO PAULO

N.N.Q. Santos<sup>1</sup>, M.R.F. Toledo<sup>2</sup>, A. Castelo Filho<sup>1</sup>, T.A.T. Gomes<sup>2</sup>, M.A.M. Vieira<sup>2</sup> & L.R. Trabulsi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Disciplina de Doenças Infecciosas e Parasitárias e <sup>2</sup>Disciplina de Microbiologia, Escola Paulista de Medicina, São Paulo

São raros na literatura os dados sobre a etiologia da diarréia aguda endêmica em adolescentes e adultos. Neste trabalho foram determinadas as frequências dos diferentes enteropatógenos nas fezes de indivíduos, na faixa etária de 10 a 74 anos, apresentando diarréia aguda. Foram pesquisados as enterobactérias enteropatógenas, Campylobacter, Aeromonas, Vibrio, Rotavirus e parasitas. Rotavirus foi pesquisado pela técnica de aglutinação de partículas de látex. A pesquisa de E. coli enteropatógena clássica (EPEC), E. coli enterotoxigênica (ETEC) e E. coli enterohemorrágica (EHEC) foi realizada através de sondas genéticas e a dos outros enteropatógenos, através dos métodos convencionais.

Os resultados mostraram que o enteropatógeno bacteriano mais frequentemente isolado foi Shigella (14% dos indivíduos), vindo a seguir ETEC (8,6%), Aeromonas (5%), Salmonella (5%), E. coli enteroinvasora (3%), Campylobacter (2,5%), EHEC (1,2%) e Vibrio parahaemolyticus (1%). Infecções bacterianas mistas foram observadas em 6% dos indivíduos. Rotavirus foi detectado em 8,6% dos casos. Nos exames proto-parasitológicos Ancylostoma duodenale foi o agente mais frequente (13% dos casos), seguido de Strongyloides stercoralis (8%), Ascaris lumbricoides (6,5%), Trichuris trichiura (5%), Giardia lamblia (1,6%) e Schistosoma mansoni (1,6%). Em nenhum dos pacientes se isolou Yersinia enterocolitica ou se detectou amostras de EPEC ou de Entamoeba histolytica.

## ETIOLOGIA DA DIARRÉIA INFANTIL EM SÃO PAULO

V. Rassi<sup>1</sup>, T.A.T. Gomes<sup>1</sup>, S.R.T.S. Ramos<sup>2</sup>, B.E.C. Guth<sup>1</sup>, M.A.M. Vieira<sup>1</sup>, M.R.F. Toledo<sup>1</sup>, J.A.N. Candeias<sup>2</sup>, P.A. Blake<sup>3</sup> & L.R. Trabulsi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Escola Paulista de Medicina, SP, <sup>2</sup>Universidade de São Paulo, SP e <sup>3</sup>Centers for Disease Control, Atlanta, Ga., USA

Para avaliar a prevalência dos enteropatógenos na diarréia infantil, foram coletadas fezes de 500 crianças com diarréia aguda (casos) e 500 sem sintomas gastrointestinais (controles), menores de 1 ano de idade, que procuraram o ambulatório do Hospital Infantil Menino Jesus (SP), entre maio de 1985 e junho de 1986.

Escherichia coli, Salmonella, Shigella, Yersinia e Campylobacter foram pesquisados através de métodos padrões. E. coli enteropatógena clássica (EPEC), invasora (EIEC) e enterohemorrágica (EHEC) foram pesquisadas por testes sorológicos e E. coli enterotoxigênica (ETEC), através da pesquisa de enterotoxinas LT, pelo teste de hemaglutinação indireta, e ST, em camundongos recém-nascidos. Rotavirus foi pesquisado pelo teste de ELISA (EIARA).

EPEC, ETEC, Salmonella, Shigella e Rotavirus apresentaram associação significativa com diarréia. EPEC foi o patógeno mais frequente, prevalecendo os sorotipos O111:H<sup>-</sup>, O111:H2 e O119:H6. O segundo patógeno mais frequente foi Rotavirus. EIEC e Campylobacter foram pouco frequentes e apresentaram apenas tendência a associação com diarréia. EHEC e Yersinia não foram isolados. Foi encontrada alta frequência de infecções mistas, que se mostraram significativamente associadas com diarréia.

EPEC teve maior prevalência na primavera enquanto Rotavirus foi mais frequente no outono e inverno. Campylobacter ocorreu apenas no verão e outono. Os demais enteropatógenos não apresentaram variações sazonais consistentes.

A APRESENTAÇÃO SERÁ FEITA ATRAVÉS DE POSTERS.

PERFIL ETIOLÓGICO DA DIARRÉIA AGUDA INFANTIL NO RIO DE JANEIRO.

V.L.R.BRAVO; A.H.REGUA; A.N.DUARTE; R.DUARTE; L.A.SILVA;  
Z.A.SILVA & M.C.LEAL\*

Departamentos de Ciências Biológicas e Epidemiologia e  
Métodos Quantitativos em Saúde\* ENSP/FIOCRUZ

Com o objetivo de determinar o perfil etiológico das diarreias infecciosas foram analisadas amostras fecais de 406 crianças de 0 a 3 anos de idade internadas e/ou atendidas na Clínica Médica de Emergência do Hospital Municipal Sales Neto, Rio de Janeiro. Investigou-se a presença de Shigella, Salmonella, Campylobacter sp., Yersinia enterocolitica, E.coli enteropatogênica (EPEC), E.coli enteroinvasora (EIEC) e E.coli enterotoxigênica (ETEC STa eLT).

Foram utilizados métodos convencionais para o isolamento e identificação dos enteropatógenos. Os percentuais encontrados para os agentes estudados foram: Shigella 0.5%, Salmonella 1.5%, Campylobacter sp. 9.8%, Rotavirus 11.3%, Adenovirus 1.7%, EPEC 16.5% e ETEC 20.9%. Em nenhuma amostra foi identificado Y.enterocolitica e apenas em uma delas foi detectado EIEC pelo teste de Serény. Em 51.5% dos casos não houve isolamento de enteropatógenos e em 38.2% foi encontrado somente 1 agente. Foi observada associação entre dois patógenos (8.1%), três (2.0%) e quatro (0.2%) sendo a mais frequente entre EPEC/ETEC.

A população estudada foi distribuída em três faixas etárias: de 0 a 5 m, 49,3%; de 6 a 11m, 26.8% e de 12 e + meses, 23.9%. No primeiro grupo o patógeno mais isolado foi EPEC (20.5%) no segundo Campylobacter sp. e Rotavirus (14.6%) e no terceiro ETEC (28.9%).

Os resultados obtidos são compatíveis com os citados por outros autores, em países em desenvolvimento.

OCORRÊNCIA DE ENTEROPATÓGENOS DE COPROCULTURAS REALIZADAS NO PERÍODO 1986-1989.

A.M.G.DIAS, E.KANO, L.K.NAKAHARA, A.T.TAVECHIO, S.A. FERNANDES, G.R.F.VALLE, C.T.CALZADA.

Instituto Adolfo Lutz.

As gastroenterites ainda representam importante problema de saúde pública no nosso meio. Este trabalho teve como objetivo verificar a frequência dos dife- rentes enteropatógenos isolados durante o período de janeiro de 1986 a março de 1989. De 2831 coproculturas realizadas neste período, 334 exames procediam de pacientes acometidos pela SIDA. As enterobactérias pa- togênicas isoladas foram caracterizadas através de testes bioquímicos, sorológicos e de patogenicidade. O isolamento e a identificação de Campylobacter foi realizado segundo o método de SKIRROW. O índice de positividade neste período foi de 20,59%. O enteropa- tógeno mais frequentemente isolado foi E.coli entero- patogênica (215), seguidos de Shigella (163), Campy- lobacter (125), Salmonella (60), E.coli enterotoxigê- nica produtora da toxina STa (49) e E.coli enteroinva- sora (35). Foram encontradas 12,35% de infecções mis- tas por 2, 3 ou 4 enteropatógenos. Quanto a distribui- ção por faixa etária, verificou-se que nas crianças entre 0-5 anos, havia o predomínio de E.coli enteropa- togênica, enquanto que em pacientes de outras faixas etárias destacavam-se a Shigella e o Campylobacter como os mais frequentes. Observou-se também neste pe- ríodo uma diminuição do número de isolamentos de Salmonella. Com relação ao grupo de pacientes portado- res da SIDA, constatou-se um índice de positividade de 11,37% entre os pacientes maiores de 15 anos, enquanto que no grupo não portador da SIDA e da mesma faixa etá- ria este índice foi de apenas 2,32%.

OCORRÊNCIA DE BACTÉRIAS ENTEROPATOGÊNICAS CLÁSSICAS EM CRIANÇAS COM DIARRÉIA EM JUIZ DE FORA - M.G.

M.G. Oliveira (1); G.V.A. Pessôa (2); L.K. Nakahara (3); L.G. Milagres (4)

(1) Universidade Federal de Juiz de Fora; (2) ICB-USP; (3) Instituto Adolfo Lutz; (4) F.C.F.

Universidade de São Paulo

Bactérias enteropatogênicas clássicas foram pesquisadas nas fezes de 187 crianças com diarreia, na faixa etária de 0 a 5 anos, de procedência ambulatorial e hospitalar. A metodologia utilizada baseou-se no isolamento e identificação bioquímica e sorológica convencionais, seguida da pesquisa da enterotoxina STa através da inoculação em camundongos recém-nascidos para as amostras de ETEC e do teste de Serény para Shigella e EIEC.

Em 33,6% dos casos isolou-se, pelo menos, um enteropatógeno. Shigella foi o mais frequente com 16,5%, seguido de 8,02% de EPEC, 6,9% de ETEC, 2,6% de Salmonella e nenhum isolamento de EIEC. 93,5% das shigelas pertenceram ao subgrupo B, sendo 86,2% do sorotipo 2. Marcas de resistência fixa como Cloranfenicol-Sulfametoxazol-trimetoprim-Tetraciclina estavam presentes em 80,0% das amostras deste sorotipo. Destaca-se a elevada resistência ao Sulfametoxazol-trimetoprim, fato recente no Brasil. A taxa de isolamento de Shigella se mostrou alta nos 8 meses da pesquisa, caracterizando a endemicidade da infecção em áreas com alegada infra-estrutura sanitária.

PREVALÊNCIA DE *Salmonella* e *Shigella* EM COPROCULTURAS DE CRIANÇAS COM DIARRÉIA EM BELO HORIZONTE NOS PERÍODOS DE JUNHO/81 A OUTU - BRO/83 E DE AGOSTO/86 A SETEMBRO/87.

D.M.M. Queiroz, E.N. Mendes, L.M.H. Resende, F.J. Penna

Laboratório de Pesquisa em Bacteriologia da Faculdade de Medicina da UFMG

Nos períodos compreendidos entre Junho/81 a outubro/83 e Agosto 86 a Setembro/87 foram realizadas 370 coproculturas de crianças com diarreia aguda. No primeiro período, em 293 amostras de fezes, isolou-se *Salmonella* em 29 (9.9%). Dentre as *Salmonella*, o sorotipo mais freqüente foi *S. Typhimurium* 15 (51.7%) seguido da *S. infantis* (6 - 20.7%) e *S. Saint Paul* (1 - 3,5%). Das 41 amostras de *Shigella* isoladas (14.0%), 40 foram classificadas como *S. flexneri* (97.6%) e 1 como *S. dysenteriae* (2.4%). No segundo período o gênero *Salmonella* foi isolado em apenas 2 amostras dentre as 77 estudadas (2.6%) e *Shigella* em 7 (9.1%). Destas apenas 2 (28.6%) eram *S. flexneri* e 1 (14.3%) *S. dysenteriae*. As outras 4 foram classificadas como *S. sonnei* (52.1%). Conclusões: Como os casos estudados são de crianças da mesma faixa etária, nível sócio econômico e provenientes dos mesmos serviços, os resultados indicam mudanças significativas quanto à freqüência de isolamento de *Salmonella* e *Shigella* bem como quanto às espécies de *Shigella* isoladas. Tais alterações se devem provavelmente a outros fatores que precisam ser pesquisados e demonstram a necessidade de se realizarem, continuamente, estudos desta natureza.

DESCRIPÇÃO DE UMA NOVA AMOSTRA DE *Escherichia coli* INVASORA

D.M.M. Queiroz, E.N. Mendes, N.R.F. Toledo, L.R. Trabulsi

Laboratório de Pesquisa em Bacteriologia/F.M.-UFMG; Deptº de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia/EPM e Enteric Bacteriologic Section/CDC.

Em um estudo de diarreia aguda em crianças, uma amostra de *E. coli* invasora foi esolada como único enteropatógeno de uma criança de 3 anos. O paciente apresentava diarreia mucossanguinolenta, vômitos, desnutrição e desidratação de 2º grau. Uma porção de fezes colhida por sonda retal e mantida em solução glicerínada tamponada foi plaqueada em ágar MacConckey e em caldo tetracionato para pesquisa de *Shigella*, *Salmonella* e *Escherichia coli* enteropatogênica; em Rappaport modificado e SS desoxicolato para pesquisa de *Yersinia* e em meio de Butzler para pesquisa de *Campylobacter jejuni*. Outra porção de fezes foi empregada para pesquisa de Rotavírus. O único microrganismo encontrado foi uma *Escherichia coli* invasora. Como a amostra não apresentou reação positiva com nenhum anti-soro anti-*E. coli* foi enviada para o CDC (Enteric Bacteriologic Section) para ser classificada. Os testes bioquímicos de invasibilidade e sorológicos realizados no CDC confirmaram os resultados obtidos no Brasil e o antígeno O do microrganismo não foi classificado. Assim propomos a denominação provisória de *Escherichia coli* Belo Horizonte para a nova amostra invasora até que receba denominação definitiva.

SOROGRUPOS DE Escherichia coli ENTEROTOXIGÊNICA ISOLADA DE COPROCULTURAS, NO PERÍODO DE 1983 A 1987, NO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO.

A.M.G.DIAS, G.R.F.VALLE, M.A.M.F.KATO, L.K.NAKAHARA, E. KANO.

Instituto Adolfo Lutz

A detecção de E.coli enterotoxigênica, seus fatores de colonização, bem como a determinação dos sorogrupos a que pertencem constituíram o objetivo deste trabalho, uma vez que é um dos principais agentes causadores de diarreia no homem. Durante o quinquênio 1983-1987 foram isoladas, na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, 87 cepas de E.coli enterotoxigênica à partir de 5.629 coproculturas. A produção da enterotoxina termoestável metanol solúvel (STa) foi detectada através do teste de Dean. Para a detecção da enterotoxina termolábil (LT) foi utilizado o método de imunohemólise radial em gel de agarose, e os fatores de colonização CFA/I e CFA/II foram determinados através da aglutinação em lâmina utilizando soros específicos. A identificação sorológica das cepas estudadas foi realizada através da aglutinação em tubo com 33 soros somáticos. A média percentual de positividade de ETEC nestes 5 anos foi de 1,54%. Entre as cepas produtoras de toxina termoestável, 31 (35,63%) produziram também toxina termolábil. Com relação ao antígeno fator de colonização I e II, 43 (49,43%) cepas apresentaram um desses fatores. A utilização de 33 soros somáticos permitiu a identificação sorológica de 61 (70,11%) das 87 cepas estudadas. Os sorogrupos 06, 0153, 078, 027 e 0139 foram os mais frequentes. Verificamos também que aproximadamente 80% das cepas foram isoladas de crianças na faixa etária entre 0 a 5 anos.

PESQUISA DE ESCHERICHIA COLI ENTEROPATOGÊNICAS EM CRIANÇAS COM DIARRÉIA EM JUIZ DE FORA - MINAS GERAIS

M.G. Oliveira (1); G.V.A. Pessôa (2); E. Kano (3) e L.G. Milagres (4)

Universidade Federal de Juiz de Fora (1); ICB-USP (2); ICB-USP (2); Instituto Adolfo Lutz (3); FCF (4)

Universidade de São Paulo

São relatados os resultados de 187 coproculturas realizadas em crianças diarréicas, na faixa etária de 0 a 5 anos, em Juiz de Fora, M.G., visando, pela primeira vez, a pesquisa de bactérias enteropatogênicas clássicas, dentre elas Escherichia coli enteropatogênica.

Após metodologia de isolamento e identificação bioquímica convencionais, as amostras de EPEC foram identificadas sorologicamente. Para a caracterização de ETEC realizou-se a pesquisa da enterotoxina termoestável (STa) pela técnica de Dean e col., dos fatores de colonização (CFA) por hemaglutinação em presença e ausência de D-manose e soroglutinação, e classificação sorológica. Amostras bioquimicamente suspeitas de EIEC foram submetidas à aglutinação específica e ao teste de Serény.

EPEC foi isolada em 8,0% dos casos, com predomínio de sorogrupos 0119 e ausência de 0111. ETEC ocorreu em 6,9% das amostras. 46,2% delas aglutinou com os antissoros testados, sendo encontrados os sorogrupos 025, 078, 0128 e 0159. 69,2% possuía CFA/I, havendo correlação entre sorogrupos e fatores de colonização. Não foi isolada nenhuma amostra de EIEC. Observou-se elevada resistência múltipla aos antimicrobianos testados.

FREQUENCY OF AEROMONAS IN CHILDREN WITH DIARRHOEA AND CONTROLS IN SÃO PAULO, BRAZIL

K.S. Ghenghesh<sup>1</sup>, M.R.F. Toledo<sup>1</sup>, M.M. Santa Lúcia<sup>2</sup>, H.T. Ito<sup>2</sup>, V. Rassi<sup>1</sup> & L.R. Trabulsi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Disciplina de Microbiologia, Escola Paulista de Medicina, São Paulo and <sup>2</sup>Hospital Infantil "Candido Fontoura", São Paulo

Aeromonas species have been reported as a cause of acute diarrhoea in children, although their role as potential intestinal pathogens is still controversial. Stool samples from 100 children with diarrhoea and from 100 age-matched controls were investigated. To isolate Aeromonas, stool samples were directly streaked onto sheep blood agar plates containing 10µg/ml ampicillin (ASBA), and onto ASBA after enrichment of faeces in alkaline peptone water (APW). Direct plating resulted in the isolation of Aeromonas from 8 (8%) of children with diarrhoea, and from 4 (4%) of controls. After APW enrichment, Aeromonas strains were isolated from 19 (19%) of diarrhoeal children and from 13 (13%) of controls. These differences were not statistically significant. The results obtained showed that the frequency of Aeromonas species, in both children with and without diarrhoea, is significantly higher when APW enrichment was used. A total of 41 Aeromonas strains were detected, A. hydrophila (7 strains), A. sobria (9 strains) and A. caviae (25 strains). Regardless of the method of isolation used no species was isolated significantly more often from children with diarrhoea than from controls.

STAPHYLOCOCCUS AUREUS: DETERMINAÇÃO DA SENSIBILIDADE A 12 ANTIMICROBIANOS PELO MÉTODO DE KIRKY-BAUER.

M.C.M. SOUZA\* & I.Y. ITO\*

\* Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP

As 390 cepas de Staphylococcus aureus isoladas de lesões de queimaduras e das fossas nasais, da saliva e das mãos de pacientes e de funcionários, bem como, as do ambiente/fômites da Unidade de Queimados do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto-USP foram submetidas à ação de 12 antimicrobianos pelo método de Kirky-Bauer (BAUER et alii, 1966). A estreptomocina foi o menos eficaz com 81,3% de resistência seguida da penicilina e da ampicilina com 73,8%. Por outro lado, a netilmicina e o sulfametoxazol trimetoprina foram os mais ativos com 99,2% de sensibilidade, secundada por cefalotina com 98,2%. As cepas isoladas dos pacientes eram mais resistentes a maioria dos antibióticos, exceto à penicilina e à ampicilina em que as cepas isoladas dos funcionários e do ambiente/fômites foram mais resistentes com, respectivamente, 93,8% e 91,6%. Considerando os diversos nichos, as cepas isoladas das fossas nasais dos pacientes, seguidas pelas isoladas das mãos dos funcionários e do ambiente/fômites e das lesões de queimaduras foram as que apresentaram as maiores taxas de resistência. O modelo de antibiograma proposto por BARBER & BURSTON (1955) aplicado às 390 cepas de S.aureus, permitiu a classificação em 12 modelos. As 275 cepas isoladas dos pacientes foram distribuídas em 12 modelos, enquanto que as cepas dos funcionários e do ambiente/fômites, em apenas 6. O modelo RRSS foi o mais freqüente com 168 cepas (43,1%), seguido pelo SRSS com 76 cepas (19,5%). Houve a prevalência do modelo RRSS, sobretudo nas lesões (56,5%) e no ambiente/fômites (26,2%). É importante ressaltar que as cepas isoladas das lesões de queimaduras eram mais resistentes a maior número de antibióticos, concomitantemente, ou seja, dos modelos RRSR, RRRS, SRRR e RRRR. Estes dados nos alertam, no sentido da necessidade de se empregar adequadamente a antibioticoterapia, que sem dúvida, é de grande valor para o tratamento das infecções em queimados, mas não deve ser enfatizada como único caminho, relegando outras condutas a segundo plano.

ISOLAMENTO DE CEPAS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS  
MULTIRRESISTENTES NO HOSPITAL DAS CLINICAS  
DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

C.E.LEVY, A.ZANINELLI , A.L.COSTA & A.M.U.TANAKA  
LAB MICROBIOLOGIA DO HCFMRP-USP

Os relatórios de resistencia bacteriana elaborados pelo Lab. Microbiologia, a partir resultados microbiológicos processados pela PRODESP, permitiram detectar uma elevação significativa dos percentuais de resistencia das cepas hospitalares de S. aureus referentes ao ano de 1987. Este fato não tinha sido notado anteriormente pelo Lab. de Microbiologia, pela Comissão de Controle de Infecção Hospitalar e pelo Corpo Clinico do Hospital. Um a análise retrospectiva dos dados de resistencia aos antimicrobianos em 1988 revelou:

Percentuais de resistencia de cepas hospitalares de S. aureus no período de 1983 a 1988 - HCFMRP-USP

ANO (nº cepas)	1983 (243)	1984 (221)	1985 (306)	1986 (298)	1987 (376)	1988 (395)
<b>DROGAS</b>						
Vancomicina	0	0	0	0	0	0
Cefalotina	6	17	10	16	39	47
Oxacilina	41	34	31	33	59	55
Sulfazotrim	3	6	9	19	43	48
Ampicilina	96	94	96	93	99	94
Gentamicina	49	41	41	50	53	58
Amicacina	10	8	8	20	37	46

A análise dos padrões de resistencia mostraram a existencia de cepas sensíveis apenas à Vancomicina e resistentes a 15 outros antimicrobianos, detectadas desde 1984:

ANO	1984	1985	1986	1987	1988
Nº CEPAS "R"	2	2	18	84	118

A fagotipagem de uma amostra de 58 cepas de padrão "R" revelou que 74% das cepas, oriundas de diferentes materiais e clínicas, pertenciam ao Grupo III, consideradas de importancia em Infecção Hospitalar. Conclui-se pela existencia de um surto de cepas de S aureus multirresistente com predomínio do grupo III.

SENSIBILIDADE "in vitro" AOS AGENTES ANTIMICROBIANOS DE AMOSTRAS DE *S.aureus* ISOLADAS DAS MÃOS DE SERVIDORES HOSPITALARES.

J.Bedendo, T.M.Moriya & C.L.Cardoso.

Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da USP, Ribeirão Preto, SP; Departamentos de Enfermagem e de Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR.

Com o objetivo de verificar o comportamento frente aos agentes antimicrobianos de estirpes de *S.aureus* isoladas das mãos de profissionais da saúde realizamos o antibiograma de 42 cepas de *S.aureus* isoladas de 112 funcionários do serviço de enfermagem de um hospital geral da cidade de Maringá, PR.

A amostragem das mãos foi efetuada pela técnica do saco plástico, utilizando-se o ágar manitol salgado para isolamento primário. O critério adotado para a seleção das colônias a serem estudadas foi o de repicar uma a duas colônias suspeitas por placa examinada. O antibiograma foi realizado pela técnica de difusão em ágar pelo sistema de discos.

Verificou-se o carreamento de *S.aureus* nas mãos de 38% (42/112) dos indivíduos ensaiados. Entre as amostras estudadas 3 (7%) apresentaram-se poli-sensíveis, 21 (50%) foram resistentes apenas à penicilina, e 13 (31%) constituíram um grupo de cepas poli-resistentes a 9-12 drogas. As amostras exibiram, aproximadamente, os seguintes percentuais de resistência aos antimicrobianos testados: 90% (penicilina), 40% (eritromicina, canamicina), 35% (tetraciclina), 30% (oxacilina, cefalotina, cefoxitina, cloranfenicol, gentamicina) e 10% (lincomicina, sulfazotrim, amicacina). Todas as estirpes foram sensíveis à vancomicina.

Os resultados demonstram o risco da disseminação hospitalar de cepas de *S.aureus* poli-resistentes através das mãos contaminadas do pessoal da saúde e evidencia a importância da implementação de medidas de controle das infecções hospitalares, particularmente a lavagem das mãos e o controle do uso de antimicrobianos.

Auxílio: CNPq 404362/87-7.

*Streptococcus pyogenes* ISOLADOS DE INFECÇÃO E DE PORTADORES SÃO: SEMSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS E PRESENÇA DE LISOGENIA.

A.C.D. de Castro M.C. da Silva & L.C. Benchetrit.

Centro de Referência para Estreptococos. Instituto de Microbiologia da UFRJ.

Foram estudadas 30 amostras de estreptococos do grupo A. Destas, 14 foram isoladas de portadores são e 16 de pacientes com infecção clínica da orofaringe.

O teste de sensibilidade aos antimicrobianos foi realizado em placas contendo meio de Mueller-Hinton adicionado de 5% de sangue desfibrinado de carneiro. Os discos impregnados com as drogas foram colocados na superfície do meio após a inoculação do microrganismo. Os fagos foram pesquisados nos sobrenadantes das culturas após incubação por 18 h a 37°C em caldo, frente a amostra indicadora K56.

Todos os microrganismos testados foram sensíveis à ampicilina, carbenicilina, cefalotina, cefoxitina, clo-ranfenicol, gentamicina e penicilina. Noventa por cento das amostras foram sensíveis à eritromicina. Das 3 resistentes, apenas 1 era proveniente de pacientes com infecção. A sensibilidade à canamicina foi de 13% e distribuída de maneira homogênea entre as amostras. Todos os microrganismos sensíveis à neomicina (10% do total) foram isolados de indivíduos portadores. A sensibilidade à tetraciclina foi de 47% e encontrada com maior frequência em amostras isoladas de quadros clínicos sugestivos de infecção. Cinco amostras apresentaram bacteriófagos. Destas, apenas uma (isolada de paciente com infecção) liberou bacteriófagos espontaneamente.

Órgãos financiadores: CNPq, FINEP/PADCT, CAPES e CEPG da UFRJ.

SUSCEPTIBILIDADE DOS ESTREPTOCOCOS DE GRUPO B A ANTIMICROBIANOS: CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA E TESTE DE DIFUSÃO EM MEIO SÓLIDO.

T.G.F.M. Batista & L.C. Benchetrit.

Centro de Referência para Estreptococos. Instituto de Microbiologia da UFRJ.

Devido a importância clínica dos estreptococos do grupo B, o estudo da susceptibilidade a antimicrobianos de uso clínico tem sido ampliado e o objetivo deste trabalho é determinar a concentração mínima inibitória (CMI) de cepas humanas e animais em nosso meio.

Na metodologia para o teste de difusão em meio sólido utilizamos o meio de Mueller Hinton Agar acrescido de sangue desfibrinado de carneiro a 5%. Após incubação por 18h a 37°C, a leitura foi feita medindo - se os halos de inibição de crescimento. Para a determinação da CMI utilizamos o método de diluição em placa. O inóculo (aproximadamente  $10^5$  ufc) foi semeado com o auxílio do replicador de Steers e as placas incubadas por 18h a 37°C. Uma cepa controle de Staphylococcus aureus foi incluída.

Para cepas humanas e animais observamos até 100% de sensibilidade para penicilina (P), cefalotina (Cf), lincomicina (Ln), eritromicina (Ery), cloranfenicol (Cm), e norfloxacin (Nor). Para tetraciclina (Tc), sulfametoxazol trimetoprim (SXT), gentamicina (Gm) e ampicilina (Am), o percentual de amostras sensíveis e resistentes foi variado em relação às origens das cepas. A CMI ( $\mu$ /ml) para as cepas humanas e animais foi respectivamente: P (0,03; 0,06); Am (0,06; 0,06); Ct (4,0; 4,0); Ery (0,12; 0,12) e Cm (4,0; 4,0).

Órgãos financiadores: CNPq, FINEP/PADCT, CAPES e CEPG da UFRJ

## SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS ENTRE AMOSTRAS DE PNEUMOCOCOS ISOLADAS NO BRASIL (1987-1988)

L.M. Teixeira, J.F. Sessegolo, S.E.L. Fracalanza &amp; C.M. Oliveira

Departamento de Microbiologia Médica do IM-UFRJ

Streptococcus pneumoniae é um dos principais agentes de pneumonia, meningite e otite média em seres humanos. O surgimento e aumento progressivo de amostras de pneumococos resistentes ou relativamente resistentes à penicilina, assim como a outros antimicrobianos, tem sido apontado em diversas regiões, alertando para a importância da monitorização do comportamento desses microrganismos frente aos antimicrobianos. Neste estudo, foram analisadas 75 amostras de S. pneumoniae obtidas, em sua maioria, de pacientes com meningite e/ou pneumonia, no período de 1987 a 1988, nos estados de São Paulo e Rio de Janeiro. Dessas, 38 foram isoladas de sangue, 15 de líquido, 8 de escarro, 4 de secreção ocular e, as demais, de secreções e fluidos orgânicos diversos. Sua identificação foi baseada na morfologia colonial, coloração de Gram, susceptibilidade à optoquina e/ou bile-solubilidade e em testes sorológicos. A susceptibilidade a antimicrobianos foi testada pelo método de difusão em agar, empregando-se discos impregnados com as seguintes drogas: oxacilina, cloranfenicol, eritromicina, sulfametoxazol-trimetoprim e tetraciclina. Pelos testes de triagem, usando discos de oxacilina, a resistência à penicilina foi detectada em 12 (16%) amostras, geralmente acompanhada de resistência a outros antimicrobianos. Vinte e uma (28%) amostras se apresentaram resistentes a sulfametoxazol-trimetoprim, 22 (29%) a tetraciclina e 2 a eritromicina. A determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de penicilina foi executada pelo método de diluição em agar, utilizando um replicador de Steers. Os valores da CMI<sub>50</sub> e CMI<sub>90</sub> foram, respectivamente, 0,015 e 0,12 µg de penicilina/ml. Embora a maioria das amostras tenha sido inibida por níveis dentro da faixa de susceptibilidade à penicilina (CMI<sub>50</sub> ≤ 0,06 µg/ml), onze somente foram inibidas por concentrações na faixa considerada relativamente resistente (0,12 a 1 µg/ml). A comparação com dados obtidos para amostras isoladas em período anterior (1981-1982) permitiu evidenciar, entre nós, o aumento gradual dos níveis de resistência à penicilina, em amostras de pneumococos.

Trabalho realizado com auxílio do CNPq, FINEP e CEPG-UFRJ

## TESTE DE SENSIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS PELA ELUIÇÃO DE DISCO EM CALDO WILKINS-CHALGREN

L.D. JURGENSEN e C.A. JURGENSEN

Laboratório de Bactérias Anaeróbias do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFF. Niterói. RJ.

As principais variações aos métodos de Teste de Sensibilidade a Antimicrobianos (TSA) para aneróbios são: o meio de cultura, o inóculo, o tempo de incubação e a concentração crítica para determinar a resistência. Resolvemos avaliar uma nova proposta para o meio de cultura e a padronização do inóculo.

O meio de Wilkins-Chalgren (WC), proposto especificamente para TSA pela técnica da diluição em agar, vem sendo usado em todas as técnicas de TSA, exceção feita à eluição, e o crescimento e exigência de fatores de crescimento não é o mesmo para todos os anaeróbios significantes em patologia. Estudamos o comportamento do caldo WC com 0,07% de agar suplementado com soro a 5%, e 0,1% de Tween 80 para gram-positivos, não esporulados. O inóculo foi padronizado, usando-se 0,1ml do crescimento, quando a cultura-inóculo apresentava um MacFarland de  $\leq 3$ , e um inóculo de 0,1ml de uma diluição 1:10, quando o MacFarland fosse  $> 3$ . Foram usados os seguintes antimicrobianos: amoxicilina (8mcg/ml), carbenicilina (120mcg/ml), cefoxitina (18mcg/ml), tetraciclina (6mcg/ml) e cloranfenicol (18mcg/ml). Foram testados: *Bacteroides fragilis* (ATCC 25285), Grupo *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium spp*, *Propionibacterium acne*, *C. perfringens* e *C. sporogenes*. A leitura foi feita após 24h de incubação em "aerobiose", a 35°C. Para controle usou-se a técnica da eluição proposta pelo NCCLS. Nos 100 testes estudados houve um índice de correlação de 96% e o meio de WC ofereceu melhor índice de sensibilidade à concentração crítica (MIC-breakpoint) comparado com valores propostos por Finegold e Wexler.

"EFEITOS DA DILUIÇÃO DO LÍQUIDO AMNIÓTICO HUMANO SOBRE SUA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA CONTRA O Bacteroides fragilis"

G. DUARTE; A.M.P. CUNHA; S.P. CUNHA; A. YASSIN; M.H.L. CALIRI.

Núcleo para o Estudo de Bactérias Anaeróbias de Ribeirão Preto. Apoio: FAPESP, CNPq, FINEP.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da diluição do líquido amniótico sobre sua atividade antibacteriana contra o Bacteroides fragilis, procurando estabelecer qual o percentual máximo de diluição que não comprometa esta propriedade.

Neste trabalho foram utilizadas 35 amostras individuais de líquido amniótico obtidas de gestantes normais. A cepa bacteriana foi o Bacteroides fragilis, ATCC-23.745. O cultivo bacteriano em anaerobiose seguiu critérios de técnicas já padronizadas (Finegold, 1977; Sutter, 1980; Uzeda, 1982; Cunha, 1985 e 1987). A diluição do líquido amniótico foi feita com meio infuso-cérebro-coração.

Os resultados obtidos mostraram que a atividade antibacteriana do líquido amniótico decresce com sua diluição e que em diluições deste fluido a 70% ou menos, o comportamento do crescimento bacteriano se assemelha ao do meio de cultura. Verificou-se ainda que com diluições do líquido amniótico até 85% este ainda preserva a propriedade antimicrobiana em mais da metade das amostras avaliadas após 16 horas de inoculação, sendo esta diluição considerada como limite para este tipo de estudo.

"EFEITOS DO CONGELAMENTO E DO AQUECIMENTO DO LÍQUIDO AMNIÓTICO HUMANO SOBRE SUA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA CONTRA O Bacteroides fragilis"

G.DUARTE; A.M.P.CUNHA; S.P.CUNHA; A.YASSIN; M.H.L.CALIRI.

Núcleo Para o Estudo de Bactérias Anaeróbias de Ribeirão Preto-USP. Apoio: FAPESP, CNPq e FINEP.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes tempos de congelamento e do aquecimento sobre a atividade antibacteriana do líquido amniótico humano contra o Bacteroides fragilis.

Foram utilizadas técnicas padronizadas para cultivo de bactérias anaeróbias segundo Finegold (1977), Sutter (1980), Uzeda (1982) e Cunha (1985 e 1987) e seu crescimento foi avaliado por nefelometria. A cepa bacteriana utilizada foi Bacteroides fragilis, ATCC-23.745. Foram estudadas 39 amostras individuais de líquido amniótico avaliando-se o efeito do congelamento por 24, 72 horas e 30 dias, não se verificando nenhuma influência. Para avaliar o efeito do aquecimento a 100°C sobre a atividade antibacteriana deste fluido utilizou-se amostras sabidamente inibitórias antes do aquecimento, observando-se que este procedimento suprime esta propriedade amniótica.

Estes resultados permitem uma maior liberdade na estocagem das amostras amnióticas e realçam a característica termolábil de sua atividade antimicrobiana.

## BACTÉRIAS ANAERÓBIAS EM CORRIMENTOS VAGINAIS AGUDOS OU CRÔNICOS. SENSIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS.

A.M.P.CUNHA; C.SOLÉ-VERWIN; S.P.CUNHA; G.DUARTE;  
J.N.C.LOPES.

Núcleo para Estudo de Bactérias Anaeróbias em Ribeirão Preto - USP. Apoio recebido: FAPESP, CNPq, FINEP

A padronização de esquemas terapêuticos para o tratamento dos corrimentos vaginais devem ser reavaliados periodicamente, quanto a sua eficácia, uma vez que podem contribuir para o aparecimento de resistência bacteriana. O objetivo do trabalho foi realizar o teste de sensibilidade a antimicrobianos, utilizando cepas bacterianas isoladas das regiões vaginal e cervical do útero de pacientes com corrimento vaginal. Usamos os seguintes antimicrobianos: Tetraciclina, Penicilina G, Cloranfenicol, Cefalotina, Ampicilina, Carbenicilina, Clindamicina. O Método de discos no caldo estabelecido por Wilkins & Theil, 1973, foi empregado na metodologia da pesquisa. Concluímos que na região cervical do útero 60% das bactérias anaeróbias demonstraram resistência à tetraciclina e 53% à penicilina G. Enquanto que 20% e 26% respectivamente foram para clindamicina e carbenicilina. Na região vaginal, 58% e 54% foram respectivamente para penicilina G e tetraciclina, enquanto que 9% e 12% foram respectivamente para clindamicina e carbenicilina. Nas 21 cepas isoladas na região cervical, 6 eram sensíveis. Nas 37 cepas isoladas na região vaginal, 6 eram sensíveis. Entre as cepas bacterianas que demonstraram resistência 45% apresentaram resistência a 3, 4 ou 5 antimicrobianos ao mesmo tempo.

## ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS DE BACTEROIDES FRAGILIS EM BAI- XAS CONCENTRAÇÕES DE VÁRIOS ANTIMICROBIANOS

M.C. Ferreira, R.M.C.P. Domingues & M. Uzeda

Departamento de Microbiologia Médica do Instituto de  
Microbiologia da UFRJ

Várias evidências demonstram que níveis abaixo da concentração inibitória mínima (CIM) podem levar à alterações morfológicas nos microrganismos. Quatro cepas de *B. fragilis* foram cultivadas na ausência e na presença de 1/2, 1/4 e 1/8 da CIM de penicilina G, clindamicina, cloranfenicol e metronidazol. Após 24 h e 48 h de incubação à 37°C, em anaerobiose, alíquotas foram avaliadas quanto ao aspecto morfo-tintorial pelo método de Gram modificado e a nível de ultra-estrutura através de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e de Varredura (MEV).

A penicilina G, principalmente na metade da CIM, induziu o aparecimento de formas filamentosas, intensamente coradas e bizarras, observadas por Microscopia Ótica (MO). Por MET e MEV revelou-se alterações provenientes do aparecimento de camadas rugosas na superfície da célula, resultado talvez do acúmulo de estruturas da parede celular, que podem ser atribuídas à afinidade do antimicrobiano pelas proteínas de ligação à penicilina ("PBPs"). A clindamicina, também em 1/2 da CIM, provocou discretas alterações, alongando as células, quando observadas por MO e modificando a septação do microrganismo, se a observação é feita por MEV. Já o cloranfenicol não provocou alterações profundas, observáveis por MO, porém em MET se verificou vesículas circundando a superfície celular. Com o metronidazol o *B. fragilis* mostrou que as formas muito alongadas e vacuoladas, em MO, estão em processo de divisão anormal quando observadas por MEV. Como detectamos alterações na superfície bacteriana, e como essas estruturas superficiais estão muito relacionadas à virulência, é possível que o aspecto agressor da célula bacteriana também se modifique durante a antibioticoterapia de infecção anaerôbia.

Órgãos financiadores: FINEP, CNPq e CEPG da UFRJ

Clostridium perfringens tipo A - RELAÇÃO ENTRE A TERMO-RESISTÊNCIA, ENTEROTOXIGENICIDADE E A SENSIBILIDADE À CLINDAMICINA E À LINCOMICINA.

J.C.O. Tórtora  
S.S. de Oliveira \*  
A.S. Rosado \*  
K.R.A. da Silva \*

Instituto Gonzaga da Gama Filho - UGF - RJ

\* Bolsistas do CNPq

A termo-resistência dos esporos é uma característica comum às amostras de Clostridium perfringens causado - ras de toxinfecções alimentares. Existem raros e anti - gos relatos de casos provocados por amostras termo-sen - síveis.

Foi determinada a concentração mínima inibitória-MIC de clindamicina e lincomicina (cortezia de Upjohn Labo - ratórios Farmacêuticos Ltda, SP, Brasil) sobre 74 amo - tras de C.perfringens, sendo 37 ent+. As amostras fo - ram isoladas do solo, fezes, carne bovina ou vísceras de animais sadios, fazendo-se ou não uso de termo-sele - ção (100°C/60min ou 80°C/10min). As culturas foram ob - tidas em meio de carne picada com glicose-CMG a 37°C/ 20 h e, em seguida, em CMG a 45°C/2h. Após ajuste da turvação (metade do grau 1 de McFarland) com solução de tioglicolato de sódio, o volume de 2ul foi inocula - do na superfície do meio de Mueller-Hinton, com dife - rentes concentrações dos antibióticos. Incubou-se em a naerobiose (N<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>) a 37°C/24h. A MIC de clindamī - cina foi de 0,25ug para as amostras ent+ e de 8,0ug pa - ra as ent-. A MIC de lincomicina foi, respectivamente, 4,0 e 32,0ug/ml. Os resultados evidenciaram ser possí - vel a caracterização dos 2 grupos de amostras, com ba - se na sensibilidade aos antibióticos testados e que, pa - ra este propósito, a clindamicina deva ser preferida, pois permitiu uma separação mais nítida.

SENSIBILIDADE DE *Propionibacterium acnes* A ANTIBIÓTI-  
COS USADOS NA TERAPÊUTICA DE ACNE VULGAR.

N. ARAÚJO BARRETO e C.A. JÜRGENSEN

Laboratório de Bactérias Anaeróbias do Departamento de  
Microbiologia e Parasitologia da UFF. Niterói. RJ.

A sensibilidade de 72 amostras de *P. acnes*, isoladas  
de indivíduos com acne vulgar, foi determinada frente  
a três antibióticos dos mais usados no tratamento de  
acne.

Foi utilizado o método da eluição do disco em caldo,  
proposto pelo NCCLS, em meio de Wilkins & Chalgreen  
modificado para forma líquida com 0,07% de agar, suple-  
mentado com 5% de soro normal de cavalo e 0,1% de Tween  
80. Testou-se Tetraciclina (6 mcg/ml), Eritromicina  
(3 mcg/ml) e Clindamicina (3 mcg/ml). A incubação foi  
feita a 35°C por 24 h, em atmosfera convencional, uti-  
lizando-se como inóculo 0,1 ml da cultura em fase de  
crescimento ativo, 24 a 48 h, no mesmo meio. A ausên-  
cia de crescimento ou menos de 50% do crescimento com-  
parado ao tubo controle, caracterizava uma cepa sensí-  
vel ao antibiótico testado.

Das 72 amostras isoladas, 66 (91,7%) foram sensíveis  
aos três antibióticos testados e 6 (8,3%) apresentavam  
resistência a um dos três, sendo duas amostras resis-  
tentes a Tetraciclina (2,8%), três resistentes a Eri-  
tromicina (5,5%) e uma resistente a Clindamicina (1,4%)  
simultaneamente com Eritromicina.

Estes resultados, mostrando o aparecimento de cepas re-  
sistentes, sugerem que o freqüente uso de antibióticos  
nos últimos anos, parece estar sendo o fator responsá-  
vel pela seleção de *P. acnes* resistentes.

## RELAÇÃO DA PROCEDÊNCIA E DO MATERIAL CLÍNICO DE ORIGEM DAS AMOSTRAS COM A RESISTÊNCIA BACTERIANA A ANTIMICROBIANOS

Sadatsune, T.; Montelli, A.C. & Pinho, S.Z.

Instituto de Biociências e Faculdade de Medicina, UNESP, Botucatu, São Paulo

São evidentes as implicações clínicas e epidemiológicas da relação entre os índices de resistência antimicrobianos e os dados, da procedência das bactérias e do material clínico de sua origem. No sentido de verificar essa relação, estudou-se a atuação "in vitro" de 25 antimicrobianos frente a 2922 amostras isoladas de diferentes materiais clínicos de pacientes de ambulatório ou de enfermarias do HC da FMB, no período de 8 anos (1980 - 1987): E. coli - 900 cepas, Klebsiella sp - 437, Pseudomonas sp 388, Proteus mirabilis - 220, Enterobacter sp - 202, Serratia sp - 128, Proteus indol(+) - 113, Citrobacter sp - 66, Salmonella sp - 63, E. coli EP - 77, S. aureus - 196, S. faecalis - 66, outras bactérias - 66, por meio do antibiograma realizado segundo Kirby-Bauer. Pela computação eletrônica os dados obtidos foram correlacionados, permitindo constatar que: 1) Para o total de amostras observaram-se os maiores índices de sensibilidade para - amicacina - 84.5% (entre as drogas de largo espectro), vancomicina - 98.4% (entre as que atuam em Gram +) e norfloxacina - 93,7% (entre as drogas que atuam apenas na urina); 2) Entre as bactérias registraram-se, em geral, os maiores índices de resistência para Pseudomonas sp, Serratia sp, Salmonella sp, Klebsiella sp e S. faecalis, enquanto que E. coli e Proteus mirabilis comportaram-se como as mais sensíveis; 3) Amostras de ambulatório apresentaram-se, em geral, mais sensíveis que as de enfermaria, sobretudo, envolvendo E. coli e Proteus mirabilis em relação a amicacina, norfloxacina, netilmicina e cefoxitina; 4) Considerando-se os materiais clínicos e as enfermarias de origem, as amostras mais resistentes foram isoladas do trato urinário e do aparelho respiratório, e das enfermarias de UTI, Neurologia e Urologia, relacionando-se principalmente às seguintes drogas: ampicilina, cefalotina, sulfazotrim e cloranfenicol. Salienta-se a importância destes dados como subsídios para a antibioticoterapia racional.

SALMONELLAS ISOLADAS NO HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO - USP, NO PERÍODO DE 8 ANOS - SOROTIPOS E SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS.

C.E.LEVY, V.R.S.PERRONI, M.C.R.ARAÚJO, R.H.A.R.GIRONI (1) & K.IRINO (2)

(1)-HCFMRP-USP (2) I.A.Lutz-SP

No período de janeiro de 1981 a dezembro de 1988 foram isoladas 794 cepas de Salmonella em 24.836 coproculturas (3,2% de positividade p/ Salmonella). A rotina laboratorial baseou-se no isolamento a partir de agar Mac Conkey, agar SS e caldo selenito. A confirmação e sorotipagem foi realizada pelo I.A.Lutz-SP.

Os sorotipos mais isolados no período foram:

SOROTIPOS	ANOS								Tot.	%
	81	82	83	84	85	86	87	88		
<u>S.typhi</u>	01	01	01	02	02	07	01	21	21	2,6
<u>S.dublin</u>	02	01	03	07	02	03	07	02	27	3,4
<u>S.typhimurium</u>	18	10	07	04	07	03	10	11	70	8,8
<u>S.agona</u>	57	115	85	36	13	05	15	43	369	46,5
<u>S.I.4,5,12:i:</u>	13	07	13	08	02	05	27	21	96	12,1
<u>S.oranienburg</u>	00	00	00	00	00	00	05	12	17	2,1
outras salm.	19	37	21	20	18	15	31	33	194	24,4
<b>TOTAL.....</b>	<b>110</b>	<b>171</b>	<b>130</b>	<b>77</b>	<b>44</b>	<b>38</b>	<b>101</b>	<b>123</b>	<b>794</b>	<b>99,9</b>

O teste de sensibilidade aos antimicrobianos pelo método de Kirby-Bauer revelou:

Percentuais de sensibilidade a

sorotipo	Nº cepas ( )	Percentuais de sensibilidade a				
		AMPICI LINA	CLORAN FENICOL	SMX+ TMP	GENTA MICINA	CEFALO TINA
<u>S.typhi</u>	(21)	100	100	100	100	100
<u>S.dublin</u>	(27)	100	100	100	100	100
<u>S.typhimurium</u>	(70)	72	73	74	80	76
<u>S.agona</u>	(369)	19	98	21	30	29
<u>S.I,4,5,12:i:</u>	(96)	81	91	91	98	98
<u>S.oranienburg</u>	(17)	100	100	100	100	100
outras salm.	(194)	86	89	87	93	91

ISOLAMENTO DE SHIGELLAS NO HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO - USP, NO PERÍODO DE 10 ANOS. SOROTIPOS E SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS.

C.E.LEVY, R.H.A.R.GIRONI, V.R.S.PERRONE, M.C.R. ARAÚJO

Laboratorio de Microbiologia - HC-FMRP-USP

No período de janeiro de 1979 a dezembro de 1988 foram processadas 30.245 coproculturas utilizando como rotina: sementeira em agar Mac Conkey e agar SS, enriquecimento em caldo Selenito com posterior sementeira em agar SS. Colonias Lac(-), eram triadas em agar TSI e testadas com soros produzidos pelo I.A.Lutz(SP) ou Probac. Complementação bioquímica: lactose, sacarose, indol e manitol. Subtipos de S. flexnery testados com soros monovalentes da Difco. Antibiograma: Kirby-Bauer.

RESULTADOS: Foram isoladas 2.081 cepas de Shigella das 30.245 coproculturas (6,88% de positividade).

\*Distribuição por espécies: S. flexnery -66,4% ; S. sonnei- 28,7%; S. dysenteriae - 4,0% e S. boydii 0,9%. \* Distribuição dos sorotipos de S. flexnery no período: 1).predomínio do sorotipo 2, correspondendo em média a 60% do total dos sorotipos e em 1988 a 90% 2). sorotipo 6 correspondendo a 17% do total de sorotipos e apresentando picos em 1979, 1981 e 1987, representando 1/3 dos isolamentos nestes anos. 3). sorotipo 4 apresentou 1 pico em 1980 correspondendo a 42% dos isolamentos e vem mantendo nos ultimos 5 anos percentuais inferiores a 10%. 4). sorotipos 1 e 3 mantendo níveis em torno de 5% dos isolamentos. 5). sorotipo 5 detectado apenas 1 vez em 10 anos.

\* Sensibilidade aos antimicrobianos: 1). S. flexnery: Ampicilina: queda progressiva de 1979 a 1985 atingindo 30% de cepas sensíveis. A partir de 1985 aumento da sensibilidade chegando a 60% em 1988. Cloranfenicol: mantendo índices de 30% de sensibilidade. Cefalosporinas: cerca de 80% entre 1979 a 1985, 60% em 1986 e atingindo 96% de sensibilidade em 1988. Sulfazotrim: queda progressiva de 75% de sensíveis em 1979 p/ 7% em 1988. Gentamicina: mantendo 90% de sensibilidade no período. 2). S. sonnei: comportamento semelhante ao da S. flexnery exceto p/ Cloranfenicol: sensibilidade superior a 80%.

SOROTIPOS E PERFIL DE RESISTÊNCIA DE SHIGELLA IDENTIFICADOS NO PERÍODO DE 1984-1987.

L.K. NAKAHARA; A.M.G.DIAS; C.T.CALZADA; E.KANO; G.R.F. VALLE.

Instituto Adolfo Lutz

Visando determinar os sorogrupos e sorotipos de Shigella predominantes no nosso meio, foram estudadas 766 cepas identificadas na Seção de Bacteriologia deste Instituto, no período de 1984 a 1987. Foram também realizados testes de sensibilidade a antimicrobianos em uma amostragem a fim de conhecer o seu perfil de resistência. As cepas identificadas procediam de hospitais pediátricos, hospitais gerais e centros de saúde de várias localidades do Estado e da Capital, sendo as cepas, na sua grande maioria, isoladas de coprocultura. Para a identificação sorológica foi utilizada a metodologia descrita por Pessoa e col. (Rev.Inst.Adolfo Lutz, 38 (2):129-39, 1978). Os testes de sensibilidade aos antimicrobianos foram realizados segundo a técnica de Bauer e col (Am.J.Clin.Pathol., 45:493-6, 1966). Os resultados obtidos foram: Shigella flexneri, 58,35%; Shigella sonnei, 36,04%; Shigella dysenteriae, 3,14% e Shigella boydii, 0,26%. As taxas de resistência de 100,00% para sulfametrim, 86,36% para tetraciclina, 50,00% para ampicilina e 45,45% para cloranfenicol foram considerados significativos, visto que são drogas de uso frequente no tratamento de shigelose. Os resultados obtidos sugerem que, à semelhança do que ocorria nas décadas anteriores, a Shigella flexneri e Shigella sonnei são os sorogrupos mais frequentes e a multirresistência destes microrganismos vem aumentando no nosso meio, e 96% das cepas estudadas foram resistentes a 4 ou mais antimicrobianos.

AValiação DA RELAÇÃO DE RESISTÊNCIA ENTRE ANTIMICROBIA  
NOS E ANTI-SÉPTICOS EM PSEUDOMONAS AERUGINOSA.

F.M.Martins, M.G.Silva, P.P.Gontijo F<sup>o</sup>.

Instituto de Microbiologia - UFRJ

A relação de resistência entre antimicrobianos e anti-sépticos foi avaliada em 189 amostras de Pseudomonas aeruginosa provenientes do ambiente hospitalar (155) e não hospitalar (34). A atividade dos antimicrobianos e anti-sépticos foi testada pelo método de difusão e o de diluição em agar, respectivamente.

Observamos que as amostras de origem hospitalar foram mais resistentes aos antimicrobianos, com as maiores taxas para aqueles utilizados no país (34,8% a gentamicina, 30,5% a carbenicilina, 24,4% a tobramicina, 18,2% a amicacina, 18% a ceftriaxona e 13% a cefotaxima) do que entre aqueles de origem extra-hospitalar (2,9% para carbenicilina e cefotaxima, 3% a amicacina, 4,2% a ceftriaxona e 6% tobramicina). As resistências cruzadas entre gentamicina-tobramicina e gentamicina-amicacina foram respectivamente 20,8 e 12,2% entre as amostras provenientes de pacientes. Não foram encontradas diferenças entre os meios de Agar Tripticase Soja e Agar Mueller-Hinton na determinação da atividade "in vitro" dos germicidas. As menores concentrações inibitórias mínimas foram as apresentadas pelo timerosal (8 mg/l) e as maiores para o cloreto de cetilpiridínio (4.096 mg/l). O P.V.P.I foi mais influenciado pela presença de proteínas no meio de cultura quando da avaliação de sua atividade.

A susceptibilidade das amostras de P.aeruginosa de origens hospitalar e extra-hospitalar aos anti-sépticos não variou, ao contrário do observado para antimicrobianos. A susceptibilidade aos anti-sépticos não se mostrou diretamente dependente da resistência aos antimicrobianos. A relação de resistência entre estes agentes não foi observada.

## COLONIZAÇÃO FECAL POR ENTEROBACTÉRIAS RESISTENTES AO ÍON TELURITO E ANTIMICROBIANOS EM PACIENTES HOSPITALIZADOS.

S.A.C. MELO, E.A.R. CASTRO, J.A.A. PEREIRA, I.SUASSUNA.  
SERVIÇO DE MICROBIOLOGIA E IMUNOLOGIA-FCM-UERJ

Estudamos amostras fecais de 57 pacientes em 2 estágios ao de internação, antes e após 7 dias, (1º e 2º estágio) visando detectar enterobactérias resistentes ao íon telurito, utilizando meio MacConkey-telurito de potássio (25ug/ml) como meio seletivo. As cepas isoladas foram identificadas bioquimicamente e para elas foi determinado o perfil de resistência a um conjunto de antimicrobianos. Analisamos os conteúdos plasmidiais das cepas por eletroforese em géis de agarose (0,8%). Foram realizados ensaios de conjugação bacteriana para E.coli K12, com seleção dos transconjugantes em meio contendo rifampicina (100ug/ml) e telurito de potássio (25ug/ml).

Encontramos uma prevalência de cepas resistentes ao íon telurito significativamente maior entre pacientes de 2º estágio (p 0,01). Algumas espécies bacterianas (C.freundii, P.mirabilis, p.ex.), só foram isoladas em pacientes de 2º estágio. Encontramos 84% das cepas resistentes ao telurito no 1º estágio e 86% das cepas do 2º estágio com pelo menos um marcador de resistência a antimicrobianos. A maioria das cepas apresentou elevado nº de bandas plasmidiais, incluindo bandas de alto peso molecular. Para 6 cepas com resistência ao íon telurito sem resistência aos antimicrobianos testados, não conseguimos transferir a resistência por conjugação somente para uma cepa resistente ao íon telurito e a tetraciclina e trimetoprim-sulfametoxazol obtivemos a transferência. O aumento da prevalência de resistência ao íon telurito em conjunto com o maior número de espécies bacterianas isoladas no 2º estágio revelam aspectos da colonização intestinal no ambiente hospitalar. As espécies bacterianas isoladas no 2º estágio estão entre aquelas particularmente associadas a infecções hospitalares. A resistência ao íon telurito associada a resistência a antimicrobianos na maioria das cepas estudadas indica a utilidade daquele marcador na análise de fenômenos relativos à epidemiologia da resistência bacteriana hospitalar.

EXPERIÊNCIA "IN VITRO" COM NOVA QUINOLONA-LOMEFLOXACINA  
-FRENTE A AMOSTRAS BACTERIANAS HOSPITALARES

Montelli, A.C.; Decarlis, R.M.S.T.; Watanabe, D.S.A. & Sadatsune, T.

Instituto de Biociências e Faculdade de Medicina, UNESP, Botucatu, São Paulo

A Lomefloxacina é um novo composto quinolônico de largo espectro de ação e com propriedades farmacocinéticas que possibilitaram sua utilização sistêmica. Reconhece-se em todo o mundo que bactérias isoladas de pacientes hospitalizados apresentam, em geral, elevados índices de resistência aos antimicrobianos, com tendência a elevação progressiva no correr do tempo. Nesta investigação efetuou-se a comparação da atividade "in vitro" de Lomefloxacina, Cefotaxima, Norfloxacina e Gentamicina frente a 720 amostras das seguintes bactérias: E. coli (120), Klebsiella pneumoniae (120), Pseudomonas aeruginosa (120), S. aureus (120), Enterobacter sp (60), Serratia sp (60), Proteus mirabilis (60), Proteus indol + (60), isoladas de materiais clínicos diversos de pacientes internados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, de janeiro a junho de 1988. Concentração inibitória mínima (CIM) de cada amostra foi determinada pelo método da diluição de droga em meio de cultura sólido (Muller-Hinton Agar), utilizando-se concentrações antimicrobianas de 0,25-0,5-1,0-2,0-4,0-8,0-16-32-64-128 e 256mcg/ml. A comparação de atividade realizada pelos parâmetros CI50%, CI90% e faixa de variação das CIM para cada droga e grupo bacteriano, permitiu verificar que a atividade da Lomefloxacina foi similar ou superior ao da Norfloxacina, Cefotaxima e Gentamicina para E. coli, Klebsiella, Enterobacter, Proteus mirabilis, Proteus indol + e S. aureus (CI90%  $\leq$  1mcg/ml); sua atuação em relação a Serratia sp (CI90% = 2,0mcg/ml) e, principalmente, P. aeruginosa (CI90% = 128mcg/ml), foi menor do que a da Norfloxacina e da Cefotaxima. Conclui-se ser a Lomefloxacina droga de grande atividade antimicrobiana, mesmo frente a germes de origem hospitalar e resistentes a outros antimicrobianos de reconhecido valor.

ATIVIDADE "IN VITRO" DE DUAS QUINOLONAS (PEFLOXACIN E LOMEFLOXACIN) COMPARADA À AMIKACINA E CEFTRIAXONE CONTRA PATÓGENOS HOSPITALARES.

A.G. Peres; M.G. Silva; D. Silva; M.T.S. David; P.P. Gontijo Filho & L. S. Fonseca

Departamento de Microbiologia Médica do Instituto de Microbiologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

A atividade das quinolonas frente a amostras de estafilo e enterococos (260), enterobactérias (405) e de P.aeruginosa (158) de origem hospitalar foi comparada com a de Amikacina e Ceftriaxone.

As concentrações mínimas inibitórias para os 4 antimicrobianos (Amikacina, Ceftriaxone, Pefloxacin e Lomefloxacin) foram determinadas pela técnica de diluição em ágar, utilizando-se o replicador de Steers. Os MICs<sub>50</sub> de Lomefloxacin e Pefloxacin, exceto para S.faecalis, foi igual ou inferior a 1µg/ml. Os valores obtidos para a Amikacina e Ceftriaxone, antimicrobianos já em uso nos hospitais brasileiros, foram usualmente muito mais elevados.

Órgão financiador: CNPq

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ESTERILIZANTE DE PASTILHAS DE  
PARAFORMALDEIDO

K.U. Graziano; T.I. Cianciaurillo & P.P. Gotnijo Filho

Escola de Enfermagem da USP e Instituto de Microbiologia da UFRJ

A atividade esterilizante de pastilhas de paraformaldeído foi avaliada pela técnica da "Association of Official Analytical Chemists" que utiliza cilindros de penicilina contaminados com esporos de Bacillus subtilis e Clostridium sporogenes, e é exigida para o registro de produtos que reivindiquem este nível de ação germicida, junto à "Environmental Protection Agency" (EUA) e Divisão de Saneantes Domissanitários do Ministério da Saúde (Brasil). Após a análise de várias concentrações de paraformaldeído e tempos de contato optou-se pelo tempo de exposição de 4 horas, concentração de 3g / cm<sup>3</sup> e temperatura de 50°C, condições nas quais ficou evidenciada a ação esporocida do paraformaldeído.

Órgão financiador: CNPq

COMPARAÇÃO DOS FAGÓTIPOS DE ESTIRPES DE *S.aureus* ISOLADAS DOS VESTÍBULOS NASAIS E DAS MÃOS DE SERVIDORES HOSPITALARES.

J.Bedendo; A.M.Uthida-Tanaka; T.M.Moriya; L.B.Garcia & C.L.Cardoso.

Escola de Enfermagem e Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP, Ribeirão Preto, SP; Departamentos de Enfermagem e de Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR.

Com esta finalidade, investigamos no presente trabalho, o isolamento de amostras de *S.aureus* a partir dos vestibulos nasais e das mãos de 112 funcionários do serviço de enfermagem de um hospital geral, de 150 leitos, da cidade de Maringá, PR.

A coleta do material dos vestibulos nasais foi efetuada através do emprego de "swabs" esterilizados e das mãos pela técnica do saco plástico. Utilizou-se o ágar manitol salgado para isolamento primário. As placas examinadas diariamente, foram incubadas na estufa a 35°C por 24-48h e mantidas a temperatura ambiente por mais 2 a 3 dias; selecionando-se 1 a 2 colônias para estudo. As colônias foram identificadas como *S.aureus* pelas características morfotintoriais, utilização do manitol, e produção de coagulase. As amostras de *S.aureus* foram testadas frente aos fagos do conjunto básico internacional, incluindo-se também fagos dos grupos: experimental e extra. A tipagem foi feita a 1 e a 100 "RTD".

82,69% (43/52) das estirpes de *S.aureus* estudadas foram lisadas pelos fagos utilizados, observando-se a ocorrência de 27 diferentes fagótipos. Aproximadamente 25% (26/112) dos voluntários ensaiados apresentaram *S.aureus* concomitantemente nos dois sítios amostrados, verificando-se o isolamento de cepas idênticas, isto é, de mesmo fagótipo, em 10 (38%) destes indivíduos.

Os resultados evidenciam o potencial de risco representado pelos portadores nasais de *S.aureus* na disseminação deste patógeno hospitalar, particularmente através das mãos contaminadas.

Auxílio: CNPq 404362/87-7.

STAPHYLOCOCCUS AUREUS EM PORTADORES SÃOS DE DIFERENTES CATEGORIAS DE ENFERMAGEM DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS - FMRP/USP: FAGÓTIPOS E RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS.

B.M. OLIVEIRA SANTOS\* & A. M. UTHIDA TANAKA\*\*

\* Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto-USP

\*\* Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP

O objetivo deste trabalho é estabelecer o reconhecimento da identidade de 499 amostras de Staph-aureus isoladas de 799 portadores são de diferentes categorias de enfermagem do HC - FMRP frente à ação de diferentes antibióticos e da fagotipagem. Dessas, 80,8% foram tipáveis pelos fagos do Conjunto Básico, 6,8% pelos fagos experimentais e 12,4% foram não tipáveis (N.T.). Da coleção de amostras fagotipáveis, 54 (13,4%) foram lisadas pelos complexos epidêmico hospitalares - "52,52 A, 80,81" e "83A, 84, 85", 78 (19,3%) o foram por um e/ou mais fagos do complexo "94,96" associado(s) ou não a fagos de outros grupos e 91 (22,6%) amostras foram lisadas pelos fagos do complexo "3A, 3C, 55, 71". Dessas, 26 (28,6%) foram isoladas de elementos de enfermagem atuantes em unidades de Pediatria, Obstetrícia, Ginecologia e Berçários (Normal e Prematuro e Patológico). 56,0% dos elementos de enfermagem com amostras simultâneas na cavidade nasal, mão direita e/ou esquerda, tiveram fagótipos idênticos, demonstrando a colonização por um único fagótipo, num mesmo indivíduo. A maioria das amostras caracterizou-se por modelos de antibiograma com resistência a, no máximo, dois antibióticos. Os modelos de reação a três ou mais antibióticos demonstram uma possível tendência na mão esquerda, concentrando-se entre os elementos de enfermagem dos grupos A e B. A conjugação dos resultados do antibiograma e da fagotipagem revelou correspondência entre fagótipo e resistência aos antibióticos e a detecção de alguns portadores com amostras "epidêmicas hospitalares".

ESTUDO DA PREVALÊNCIA DE PORTADORES DE S. AUREUS, ENTRE ALUNOS DE UMA ESCOLA DE ENFERMAGEM (RIBEIRÃO PRETO).

M.A.Araújo; A.M.Tanaka e O.C.Castro

Laboratório de Referência Nacional - Fagotipagem de S. aureus  
Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP.

Programou-se um estudo longitudinal da prevalência de portadores de S. aureus, para um grupo de 20 alunos de Enfermagem, com amostragens em 3 regiões N.G.M., realizadas durante os 4 anos de curso, utilizando-se mesma metodologia.

Resultados e Conclusões.

No 1º ano de curso encontrou-se 9 portadores dos quais, 5 albergavam cêpas com características epidêmicas hospitalares (fagotipagem e antibiograma simplificado).

No 2º ano o número de portadores elevou-se para 14(70%) - 13 indivíduos portavam amostras epidêmicas hospitalares.

No ano seguinte, 15 dos 18 portadores encontrados, exibiam tais cêpas e no último ano a totalidade do grupo caracterizou-se como portadora.

O antibiograma das amostras revelou predominância do modelo R.SSS para as cêpas extra hospitalares e resistência a 2 ou mais antibióticos para aquelas com fagotípos epidêmicos hospitalares.

No grupo estudado observamos:

1º a narina como a fonte mais importante de cêpas epidêmicas hospitalares, o número de alunos portadores nesta região, aumentou de 4 vezes no último ano em relação ao 1º de estudo.

2º aumento da prevalência, sensível e progressivamente, com o contacto dos alunos com o ambiente hospitalar que começa ocorrer a partir do 2º ano de curso.

3º ocorrência de portadores persistentes e de portadores intermitentes.

4º em portadores persistentes (70%) a tendência foi manter-se colonizado por cêpas epidêmicas hospitalares.

STAPHYLOCOCCUS AUREUS: FAGOTIPAGEM DE 390 CEPAS ISOLADAS DE UNIDADE DE QUEIMADOS.

M.C.M. SOUZA\*; I.Y. ITO\*; L.M.S. ITO\*

\* Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP

A tipagem foi realizada no laboratório de fagotipagem de Staphylococcus aureus do Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, sob a orientação da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Maria Uthida Tanaka, com o emprego de 30 fagos, sendo 23 do Conjunto Básico Internacional e 7 experimentais. A fagotipagem é o método internacionalmente aceito para se realizar estudos epidemiológicos sobre Staphylococcus aureus. Com o objetivo de se averiguar a identidade das cepas de S.aureus presentes nas lesões de queimaduras, foram submetidas à fagotipagem 390 cepas de S.aureus das quais, 234 isoladas das lesões de queimaduras, 41 das fossas nasais, saliva e mãos dos pacientes; 32 das fossas nasais, saliva e mãos dos funcionários e 83 isoladas do ambiente/fômites da Unidade de Queimados do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto - USP. Destas cepas, 93,3% foram tipáveis, sendo que 71,2% a 1 x RTD e 28,8% a 100 x RTD distribuídas em 114 padrões bacteriofágicos. O grupo II foi o prevalente em ambiente/fômites (65,8%), funcionários (33,3%) e pacientes (24,4%). Os padrões bacteriofágicos 3A e 3A/3C foram os mais frequentemente isolados de todas as três procedências. Estes dados parecem comprovar a existência de um círculo vicioso de contaminação hospitalar entre profissionais-portadores, pacientes e ambiente/fômites, demonstrando a necessidade de observação e manutenção da cadeia aséptica para rompimento do elo de transmissão.

STAPHYLOCOCCUS AUREUS: ESTUDO DE SUA OCORRÊNCIA HOSPITALAR EM PACIENTES, EM FUNCIONÁRIOS E EM FÔMITES DE UNIDADE DE QUEIMADOS.

M.C.M. SOUZA\*; I.Y. ITO\*; D.O. AZEVEDO\*\*; N.C.A. OLIVEIRA\*

\* Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP

\*\* Escola de Enfermagem "Ana Neri"-UFRJ

De 1.003 materiais analisados, provenientes de pacientes queimados, de funcionários (médicos, enfermeiros e atendentes) e do ambiente/fômites da Unidade de Queimados do Hospital das Clínicas, Ribeirão Preto, USP, no período de 1985 a 1986, 373 (37,2%) foram positivos para S.aureus. Dos materiais de pacientes, 51,2% resultaram em cultura positiva, seguidos dos de funcionários com 33,3% e do ambiente/fômites com 20,0%. Considerando diferentes nichos em pacientes e funcionários, encontrou-se, respectivamente: para as fossas nasais, 58,8% e 53,3%; para as mãos, 50,0% e 27,6%; para a saliva 47,1% e 19,4% de amostras positivas. Esses dados sugerem a necessidade de observância da cadeia asséptica, objetivando o bloqueio da cadeia epidemiológica da infecção hospitalar.

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS E FAGOTIPAGEM DE AMOSTRAS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLADAS DE PACIENTES HOSPITALIZADOS EM JOÃO PESSOA.

SANTOS Fº, Lauro; FREITAS, Francisca Inês de Souza  
Laboratório de Bacteriologia do Núcleo de Medicina Tropical/ Universidade Federal da Paraíba.

Foram utilizadas em um estudo preliminar 57 amostras clínicas de lesões cutâneas e subcutâneas de pacientes do Hospital Universitário da UFPb., tendo sido isolados 78 tipos bacterianos com uma predominância de 44,8% de Staphylococcus aureus.

Dessas amostras 34,2% foram resistentes à Oxacilina com uma média de 57,1% de resistência a todo o grupo de antimicrobianos testados, e 11,4% apresentaram resistência cruzada à Oxacilina e Gentamicina com um nível de resistência de 89,2% à bateria de drogas utilizada. A fagotipagem dessas amostras demonstrou uma predominância dos grupos II, III e V do conjunto básico internacional, que estão na maioria dos casos relacionados com lesões cutâneas e infecções cruzadas.

Pretendemos comparar estes marcadores tradicionais / com a análise de plasmídeos de DNA por eletroforese em gel de agarose, em conjunto com o Laboratório de Genética de Microrganismos (CCEN/UFPb), e já dispomos dos primeiros resultados.

Trabalho financiado pelo CNPq. Proc.nº 409.026/88.

AVALIAÇÃO PRELIMINAR DO ISOLAMENTO DE CEPAS DE S.aureus RESISTENTES A OXACILINA EM SERVIDORES HOSPITALARES.

C.L.Cardoso, M.C.Bronharo, T.U.Nakamura & L.B.Garcia.

Laboratório de Microbiologia, Depto.Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR.

Diversos pesquisadores, em diferentes países, tem destacado a importância do ressurgimento de cepas de S.aureus resistentes à oxacilina como agentes de infecções hospitalares. No entanto, poucos trabalhos referem o papel de portadores assintomáticos na epidemiologia destas infecções. Com o objetivo de investigar este assunto em nosso meio, estudamos a prevalência destes microrganismos nos vestíbulos nasais de 60 funcionários do serviço de enfermagem de um hospital geral, de 150 leitos, da cidade de Maringá, PR.

A coleta do material foi realizada através do emprego de "swabs" esterilizados, utilizando-se ágar manitol salgado com e sem oxacilina (4 µg/ml) para isolamento primário. As placas, examinadas diariamente, foram incubadas na estufa a 35°C por 24-48 horas e mantidas a temperatura ambiente por mais 2 a 3 dias, selecionando-se para estudo 1 a 2 colônias suspeitas por placa. As colônias foram identificadas como pertencentes a S.aureus pelas características morfotintoriais, utilização do manitol, e produção da coagulase. A resistência a oxacilina foi verificada pelas técnicas de difusão em ágar pelo sistema de discos e de diluição em ágar (CIM, 0,06 a 64 µg/ml).

Dos 60 voluntários ensaiados 45 (75%) apresentaram S.aureus nos vestíbulos nasais. A prevalência de portadores de estirpes resistentes a oxacilina foi de 27% (12/45). O meio com antibiótico mostrou melhor resultado.

Os achados demonstram que os servidores hospitalares colonizados com cepas de S.aureus resistentes a oxacilina, podem constituir fonte para a aquisição nasal destes microrganismos por pacientes não colonizados, a exemplo do que ocorre com as cepas de estafilococos sensíveis a oxacilina. Auxílio: CNPq 404362/87-7.

DISTRIBUIÇÃO DA CAPACIDADE HEMOLÍTICA ENTRE AMOSTRAS DE *Escherichia coli* UROPATOGÊNICAS ISOLADAS DE PACIENTES INTERNADOS E ATENDIDOS EM AMBULATÓRIO

R.S.P.NOGUEIRA & J.C.A.R.DIAS

Laboratório de Genética Bacteriana-Deptº Bacteriologia-  
Instituto Oswaldo Cruz-FIOCRUZ

*Escherichia coli* é um dos agentes etiológicos predominante em infecções do trato urinário. Visando o rastreamento de marcadores neste patógeno, investigou-se a capacidade hemolítica em 300 culturas de *E.coli* originárias de urinoculturas positivas ( $10^5$  UFC/ml) de pacientes internados (30) e atendidos em ambulatório (30) do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle, Rio de Janeiro, RJ.

As amostras, previamente caracterizadas, foram submetidas ao crescimento em caldo nutriente (DIFCO) a 37°C por 24h, seguindo-se a semeadura em placas contendo agar nutriente (DIFCO) acrescido de 5% (v/v) de sangue desfibrinado de carneiro. Decorrida a incubação a 37°C por 24h procedeu-se à leitura do teste pela detecção ou não de halo de hemólise ao redor das colônias.

Foi possível o reconhecimento de 31,0% de amostras hemolíticas, não se verificando diferenças expressivas entre os percentuais obtidos para as culturas provenientes de ambulatório (28,6) e de pacientes hospitalizados (33,3).

A correlação entre a capacidade hemolítica e outros marcadores, como a resistência a antimicrobianos, produção de colicina e tipos de hemaglutinação, vem sendo investigada.

AVALIAÇÃO DE SONDAS GENÉTICAS PARA DETECÇÃO DE ENTEROPATÓGENOS BACTERIANOS EM FEZES, APÓS ENRIQUECIMENTO EM MEIO SELETIVO

M.A.M. Vieira, T.A.T. Gomes, B.E.C. Guth & L.R. Trabulsi

Escola Paulista de Medicina, SP

Sondas genéticas que identificam genes associados com a produção de fatores de virulência em amostras de Escherichia coli enteropatogênica e Shigella foram avaliadas quanto a capacidade de detectar os respectivos enteropatógenos diretamente em massa fecal. As sondas utilizadas detectam a produção das enterotoxinas termo-lábil (LT) e termo-estável (ST-I - STh e STp); o fator de adesão localizada (EAF) e a capacidade invasora.

Foram testadas 213 amostras de fezes de crianças diarreicas e não diarreicas. Os resultados obtidos foram comparados com os dos testes de hibridização das colônias de E. coli e Shigella, isoladas a partir das respectivas amostras de fezes.

Com exceção da sonda de invasibilidade que apresentou uma baixa sensibilidade na massa fecal (41,7%), as demais sondas apresentaram uma sensibilidade que variou entre 76 e 91%. Todas as sondas apresentaram uma especificidade maior que 95% na massa fecal.

Apesar de menos sensível que o teste de hibridização de colônias, a hibridização da massa fecal com as sondas LT-I, ST-I e EAF é um método de diagnóstico alternativo que dispensa a infraestrutura de isolamento e identificação de Escherichia coli enteropatogênica.

PERFIL PLASMIDIAL E CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DE ESCHERICHIA COLI ENTEROINVASORA

S. Cai<sup>1</sup> & M.R.F. Toledo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Ciências Biomédicas, USP e <sup>2</sup>Disciplina de Microbiologia, Escola Paulista de Medicina, SP

Foram estudados o perfil plasmidial e as características bioquímicas de 215 amostras de E. coli, de diferentes sorotipos, pertencentes aos seguintes sorogrupos de E. coli enteroinvasora (EIEC): 028ac, 0124 e 0136. As amostras foram isoladas em diferentes países, tendo sido caracterizadas através de 24 testes bioquímicos. A invasibilidade das amostras foi pesquisada pelo teste de Serény e o perfil plasmidial, estudado através de eletroforese em gel de agarose. Foi observado que todas as amostras dos sorotipos 028ac:H<sup>-</sup>, 0124:H<sup>-</sup>, 0124:H30 e 0136:H<sup>-</sup>, independentemente do país de origem, foram positivas no teste de Serény, quando recém-isoladas, sendo que cada um destes sorotipos apresentou um comportamento bioquímico característico, o que permitiu caracterizá-los em biosorotipos de EIEC. Todas as amostras destes biosorotipos foram incapazes de descarboxilar a lisina, sendo que 99% delas possuíam o plasmídeo de invasão (pINV), de aproximadamente 140Mdal, embora 50,5% destas amostras estivessem negativas no teste de Serény. Nenhuma das amostras dos outros sorotipos era portadora de pINV, com exceção de uma, do sorotipo 0124:H7, que foi positiva no teste de Serény. As amostras dos biosorotipos de EIEC apresentaram diferentes padrões de perfil plasmidial, sendo que 2 tipos de perfil predominaram, ocorrendo em 51,8% das amostras. Nas amostras dos outros sorotipos, diferentes perfis também foram observados, sendo que em 50% delas não se verificou plasmídeo com peso molecular superior a 15Mdal. Independentemente do país de origem, foi observada uma estreita correlação entre biosorotipos, habilidade de invasão, presença de pINV e perfil plasmidial das amostras.

## AVALIAÇÃO DO PERFIL PLASMIDIAL DE ESCHERICHIA COLI ENTEROPATOGÊNICA CLÁSSICA COMO MARCADOR EPIDEMIOLÓGICO

R.M. Fernandes<sup>1</sup>, T.A.T. Gomes<sup>2</sup> & L.R. Trabulsi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fundação Universidade do Rio Grande, RS; <sup>2</sup>Escola Paulista de Medicina, SP

O perfil plasmidial de 123 amostras de Escherichia coli enteropatogênica clássica (EPEC) dos sorotipos 0111:H<sup>-</sup>, 0111:H2 e 0119:H6 foi analisado com o objetivo de se avaliar sua eficácia como marcador epidemiológico. As amostras foram isoladas de crianças diarreicas e não diarreicas entre maio de 1985 e junho de 1986; seu conteúdo plasmidial foi extraído e visualizado após eletroforese em gel de agarose.

No sorotipo 0111:H<sup>-</sup> foram encontrados 18 perfis plasmidiais distintos, dos quais 6 englobavam 68% das amostras. Entre as amostras do sorotipo 0111:H2 foram encontrados 26 perfis distintos, dos quais 9 englobavam 70% das mesmas. No sorotipo 0119:H6 foram encontrados 18 perfis distintos, 3 dos quais englobavam 48% das amostras.

Analisando-se a distribuição temporal dos perfis plasmidiais dos sorotipos 0111:H<sup>-</sup> e 0111:H2, verificou-se uma distribuição endêmica constituída de microepidemias determinadas pelos principais perfis. Verificou-se uma estreita associação entre alguns perfis plasmidiais e internação prévia das crianças portadoras, em hospitais de São Paulo.

O perfil plasmidial de amostras de EPEC é um marcador epidemiológico útil pois permite discriminar amostras dentro de um mesmo sorotipo. Essa discriminação não foi obtida quando se utilizou biotipagem e determinação do padrão de resistência a drogas.

UTILIZAÇÃO DA SOROTIPAGEM DE K.pneumoniae EM INFECÇÕES HOSPITALARES

Watanabe, D.S.A.; Decarlis, R.M.S.T.; Michelin, L.A.  
Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu, São Paulo

Microorganismos do gênero Klebsiella têm-se caracterizado como importante agente de infecções hospitalares. Contudo, a identificação usual das amostras em Laboratório de Rotina é insuficiente para o rastreamento epidemiológico de surtos por esse agente. Objetivando-se pesquisar os vários tipos de K.pneumoniae, realizamos a sorotipagem, por meio da Reação de "Quellung" de amostras isoladas de materiais clínicos de pacientes do HC da FMB, em período de 3 anos. Foram preparados 37 soros anticapsulares a partir de amostras padrão cedidas pelo Statens Seruminstitut. Copenhague, Dinamarca. A seguir procedeu-se a sorotipagem segundo Casewell (J. Clin. Pathol., 28: 33-36, 1975). Foram estudadas 577 amostras das quais 342 foram isoladas de urina, 137 do aparelho respiratório, 20 do sangue e 78 de outros materiais. Os resultados da sorotipagem demonstraram que das 577 amostras, 278 (48,2%) foram tipadas, 266 (46,1%) não tipadas e 33 (5,7%) com reações cruzadas. Os sorotipos mais frequentes foram: K2 (46) 16,6%, K54 (36) 12,9% e o K30 (25) 9,0%. Dos materiais clínicos analisados prevaleceram os sorotipos: urina K54, K2 e K30, ap. resp. K2, K54 e K16, sangue e outros materiais K54 e K25. De acordo com a procedência das amostras, das 412 cepas oriundas das enfermarias as mais comuns foram os sorotipos K2, K54, K30 e K16 e de 165 cepas do ambulatório os tipos K2, K54 e K25. O estudo das frequências dos sorotipos nas diversas enfermarias, mostrou diferenças significantes na comparação das Enf. de Pediatria e Berçário com as Enf. de Adultos, respectivamente: K2 (24,1%) x K2 (11,1%), K54 (21,7%) x K54 (9,4%), K16 (2,4%) x K16 (11,1%). Quanto à sensibilidade às drogas, as Klebsiella mostraram-se, de modo geral, resistentes a sulfametoxazol-trimetoprim, cloranfenicol, cefalotina, gentamicina e netilmicina, baixa resistência para cefoxitina e total sensibilidade para amicacina. As amostras de enfermarias correspondentes aos sorotipos K2 e K54 revelaram maior resistência que as de ambulatório. Ressaltamos as implicações dos dados observados com a epidemiologia das infecções por K.pneumoniae.

## KLEBOTIPAGEM COMO MÉTODO DE IDENTIFICAÇÃO DE AMOSTRAS HOSPITALARES

Watanabe, D.S.A.; Sadatsune, T.; Michelin, L.A.; Montelli, A.C.

Instituto de Biociências e Faculdade de Medicina, UNESP, Botucatu, São Paulo

Nos últimos anos a Klebsiella sp tem assumido papel de destaque no problema das infecções hospitalares, devido ao aumento de sua frequência e a emergência de amostras multirresistentes às drogas. A identificação usual das Klebsiella é insuficiente para o rastreamento epidemiológico de surtos, havendo necessidade de definição mais precisa das amostras. Com intuito de tiparmos as amostras de K.pneumoniae frequentes no HC e detectarmos suas fontes de infecção, desenvolvemos um método de tipagem, determinando-se a sensibilidade das amostras a 14 tipos de Klebocinas. As amostras produtoras e indicadoras de klebocinas foram cedidas pelo Central Public Health, Colindale. Foram isoladas de vários materiais clínicos amostras de K.pneumoniae de pacientes hospitalizados no HC da FMB em período de 3 anos. A seguir procedeu-se a tipagem, segundo EDMONDSON, A.S. & COOKE, I.M. (J.Hyg Camb 82: 207-223, 1979). Das 568 cepas estudadas, 334 procederam da urina e 234 de secreções ou de outros materiais clínicos. A tipabilidade observada foi de 80% para ambos os grupos de amostras, sendo os Klebotipos mais frequentes: na urina - 1288D(17%); 1258D(7%) e 8862D(4,0%); nos demais materiais clínicos houve grande dispersão de klebotipos, destacando-se apenas o 1288D(9.5%). Importante aplicação prática da klebotipagem foi registrada na elucidação de surto de Septicemia por Klebsiella em 6 crianças do berçário do HC da FMB(em 1986): foram isoladas 9 amostras de K.pneumoniae de hemoculturas destas crianças; 2 amostras dos alimentos parenterais que ainda se transfundiam a 2 dos recém-nascidos implicados; 2 amostras dos frascos de solução de lipídio e de aminoácidos, componentes básicos do alimento preparado. Todas estas cepas não foram sorotipadas com os sorostados ("Quellung"), mas apresentaram-se como Klebotipo 1288D. Concluiu-se que o alimento parenteral foi o veículo comum gerador do surto de infecção hospitalar. Apreende-se, assim, o valor da Klebotipagem como instrumento útil no estudo dos surtos hospitalares por K.pneumoniae.

Resistotipagem de Proteus mirabilis isolados de infecções urinárias.

L. ALVES SILVA; G. VITAL ALVARES PESSÔA & R. MITIO YANAGUITA

Departamento de Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

200 cêpas de Proteus mirabilis isoladas de infecções urinárias foram identificadas pela técnica de Resistotipagem onde foram testados os seguintes compostos químicos à diferentes concentrações: Selenito de sódio, Cefrimida, verde malaquita, acriflavina, orcinol, periodato de sódio, acetato de Clorhexidina, irgasan e telurito de potássio.

Nossos resultados demonstraram que o volume de 1,2 ml das soluções estoques a diferentes concentrações, mostrou maior número de resistotipos, sendo B (C) (D) E (G), o resistotipo mais frequentemente isolado.

Proticinetipia de Proteus mirabilis isolados de infecções urinárias.

L. ALVES SILVA; G.VITAL ALVARES PESSOA & R. MITIO YANAGUITA

Departamento de Microbiologia - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

200 cêpas de Proteus mirabilis isoladas de infecções urinárias foram identificadas pela produção de proticina através da técnica de proticinetipia, onde 55,5% mostraram-se proticínogênicas espontaneamente, sendo os proticinetipos 1, 5 e 9 os mais frequentemente isolados.

As 44,5% das cêpas não produtoras espontaneamente foram induzidas pela mitomicina C (1 µg/ml) onde os proticinetipos 1, 2 e 3 foram os mais frequentemente isolados.

Dentre as cêpas induzidas pela mitomicina C, 6,7% mostraram-se não produtoras de proticinas.

PROTICINOTIPIA DE Proteus mirabilis E CARACTERIZAÇÃO DE PROTICINAS.

A.T.Tavechio.; T.M.I.Vaz.; S.A.Fernandes.; S.S.O.Busch  
nelli.; H.Tanaka. e K.Irino.

Instituto Adolfo Lutz

O Proteus mirabilis constitui em nosso meio o segundo agente mais frequente de infecções urinárias. A caracterização destes microrganismos através da proticinetipia constituiu o objetivo principal deste trabalho. Foi estudada a produção, espontânea e após a indução por Mitomicina C, de proticinas de 200 cepas de P.mirabilis. A produção espontânea foi verificada pela técnica de estria descrita por Cradock-Watson, enquanto que a produção após a indução foi testada pela técnica de "spot" de Al-Jumaili. A presença de proticinas foi revelada através de 24 cepas padrões indicadoras de sensibilidade às proticinas. A caracterização da proticina mais frequente foi realizada pela microscopia eletrônica. Das 200 cepas estudadas, 183 (91,5%) cepas foram proticinogênicas, sendo 154 (84,15%) tipáveis. Os proticinetipos mais frequentes foram tipo 1 com 30,05% e tipo 11 com 21,86%. A microscopia eletrônica revelou estruturas semelhantes à cauda de bacteriófagos, isoladas ou adsorvidas à parede bacteriana de uma cepa sensível. A possibilidade de classificar a grande maioria das cepas em diferentes tipos proticinogênicos demonstrou a utilidade deste método em investigações epidemiológicas de infecções por P.mirabilis, bem como uma possível aplicação na caracterização de outras espécies como P.vulgaris, P.myxofaciens, ou gêneros relacionados como Providencia e Morganella.

INIBIÇÃO CRUZADA ENTRE ESPÉCIES DO GRUPO *Bacteroides fragilis* ISOLADOS DE OTITE MÉDIA CRÔNICA SUPURADA.

E.R. Rocha & M. de Uzeda

Departamento de Microbiologia Médica. Instituto de Microbiologia da UFRJ.

*Bacteroides fragilis* é a bactéria anaerôbia mais frequentemente isolada de infecções humanas, incluindo otite média crônica supurada (OCMS). No entanto, poucos relatos referem-se a classificação destes microrganismos através da produção de bacteriocinas. Quatorze cepas do grupo *B. fragilis* (*B. fragilis* 12, *B. ovatus* 1 e *B. thetaiotaomicron* 1) isolados de OMCS e *B. fragilis* ATCC 23745 foram utilizados para a verificação da atividade inibitória "bacteriocin-like". Placas com infuso de cérebro e coração contendo 1% de ágar foram inoculados com as cepas de *Bacteroides* pela técnica de "pour-plate", orifícios foram preenchidos com cada cepa a ser testada, e incubadas em jarras de anaerobiose a 37°C durante 48 a 96h. Os resultados mostraram que dez cepas foram bacteriocinogênicas, nove foram sensíveis a pelo menos uma bacteriocina e nenhuma delas mostrou atividade inibitória contra cepas homólogas. Diferentes susceptibilidades foram verificadas entre cepas isoladas do mesmo paciente. A utilização da produção e susceptibilidade a substâncias "bacteriocin-like" para a classificação do grupo *B. fragilis* isolados de OMCS pode ser um método alternativo como marcador epidemiológico destes microrganismos.

Órgãos financiadores: CEPG da UFRJ e CNPq

SOROTIPOS DE Serratia marcescens DE INFECÇÕES HUMANAS

K.IRINO, T.M.I.VAZ, I.M.LANDGRAF, M.C.C.BRANDILEONE e V.S.D.VIEIRA.

Instituto Adolfo Lutz

A S.marcescens vem sendo relatada desde a década de 60 como uma causa frequente de infecções de origem hospitalar. Dada a frequência de isolamentos destes microrganismos no nosso meio, o objetivo deste trabalho foi determinar os sorotipos de cepas que vem sendo isoladas principalmente a partir de culturas de sangue e líquido cefalorraquidiano (LCR). Para a identificação sorológica foram utilizados 23 soros somáticos (O) e 26 soros flagelares (H) preparados segundo os métodos descritos por Le Minor e Pigache. 290 cepas de S.marcescens, sendo 145 de LCR, 102 de sangue, 38 de fezes e 5 de urina e secreções, foram submetidas à testes de aglutinação em lâmina e de imobilização em tubo para a determinação dos antígenos O e H, respectivamente. Entre as cepas isoladas de LCR, os sorotipos 06,14:H12 e 06,14:H4 foram os mais frequentes, correspondendo a mais de 70% dos 25 sorotipos identificados. As 102 cepas isoladas de sangue foram classificadas em 30 sorotipos, sendo 06,14:H12 06,14:H4 e 01:H7 responsáveis por 65% dos sorotipos. A maioria das cepas isoladas de sangue, LCR e fezes, era proveniente de crianças entre 0-5 anos. Os dois sorotipos mais frequentes em infecções sistêmicas, 06,14:H12 e 06,14:H4, também foram os predominantes entre os 12 sorotipos identificados entre as cepas isoladas de fezes, sugerindo uma possível fonte de infecção, principalmente em berçários.

SOROTIPOS E PIOCINOTIPOS DE Pseudomonas aeruginosa

T.M.IBELLI VAZ, K.IRINO, I.M.LANDGRAF, M.C.C.BRANDILEONE, V.S.D.VIEIRA.

Instituto Adolfo Lutz

A sorotipagem e a piocinotipia tem sido os métodos mais frequentemente utilizados na caracterização da Pseudomonas aeruginosa, um dos agentes mais comuns de infecções nosocomiais atingindo especialmente os imunodeprimidos, queimados e recém-nascidos. Relatos sobre a ocorrência de infecções sistêmicas por P.aeruginosa tem sido frequentes em nosso meio, sendo o nosso objetivo caracterizar as cepas identificadas no Instituto Adolfo Lutz no período de 1974 à 1987. Foram estudadas 195 cepas de P.aeruginosa sendo a maioria de sangue (84) e líquido cefalorraquidiano (88). As cepas foram caracterizadas através da sorotipagem utilizando o método de aglutinação em lâmina. Para a piocinotipia foi utilizada a técnica do "spot" descrita por Fyfe e cols. Os sorotipos mais frequentes foram 0:6 e 0:11 com 25,64 % e 20,54% respectivamente. Os piocinotipos predominante - mente encontrados foram 1,3 e 10 correspondendo a cerca de 90% das cepas tipadas. Associações entre determinados sorotipos e piocinotipos foram encontradas. Verificou-se que a associação entre sorotipo 0:11 e piocinotipo 10 é de 100%, o mesmo ocorrendo entre sorotipo 0:5 piocinotipo 1 e sorotipo 0:10 e piocinotipo 1. 87,5% das cepas 0:4 são piocinotipo 10, 80% das cepas 0:7,8 são piocinotipo 1, 60% das cepas 0:6 são piocinotipo 3 e 60% de 0:3 são piocinotipo 5. A caracterização dos sorotipos em diferentes piocinotipos mostra a importância do uso combinado dos métodos de sorotipagem e piocinotipia.

## INCIDÊNCIA DE BACTÉRIAS ANAERÓBIAS ESTRITAS EM PACIENTES PORTADORES DE INFECÇÃO HOSPITALAR

W.A. El Faresi & I. Mimica

Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa, São Paulo

Foram estudadas amostras provenientes de 200 pacientes portadores de infecção hospitalar. Os processos infecciosos mais frequentes tinham localização intra-abdominal e respiratória.

Foram comparadas as porcentagens de isolamento obtido com semeadura direta do material, ou com incubação prévia por 24 ou mais horas em meio de tioglicolato. Também foram estudados em forma comparativa os isolamentos obtidos em meios enriquecidos e em meios enriquecidos seletivos contendo antimicrobianos inibidores das bactérias anaeróbias facultativas. A incubação dos materiais semeados foi feita em jarra de anaerobiose utilizando como geradores anaeróbicos o sistema Anaerobac (Probac do Brasil) e Anaerocult (Merck Diagnóstico).

Foram isoladas bactérias anaeróbias em 98 (48%) das amostras semeadas; em 98% destas amostras foram encontradas bactérias anaeróbias estritas junto com facultativas e só 2% das amostras deram origem a culturas puras de anaeróbios estritos. Os anaeróbios isolados foram bacilos Gram-negativos (43,7%), bacilos Gram-positivos esporulados (32,6%), cocos Gram-positivos (12,6%) e bacilos Gram-positivos não esporulados (11,1%).

Os autores concluem que as bactérias anaeróbias são isoladas com frequência de casos de infecção hospitalar, e que são tão disponíveis em nosso meio sistemas adequados de baixo custo, que fazem possível o isolamento destes agentes em forma rotineira.

BACTÉRIAS ANAERÓBIAS NO PACIENTE QUEIMADO GRAVE HOSPITALIZADO.  
S. L. SILVA; O. M. GONTIJO; C. A. V. DAMASCENO; M. A. R. CARVALHO & E. O. C. SALPINO  
DEPTº DE MICROBIOLOGIA DO INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS/UFMG

Este trabalho descreve o isolamento, a identificação e a determinação do perfil de susceptibilidade de anaeróbios de espécimes de pacientes queimados graves, incluindo-se uma avaliação quantitativa de microflora, em anaerobiose.

Espécimes clínicos de 21 pacientes da unidade especializada do Hospital João XXIII, de Belo Horizonte, MG, foram coletados em dois momentos distintos: quando aparecia a secreção purulenta, por volta do 4º dia, e quando se observava a formação de escara e região sub-escara, após o 14º dia, seguindo-se a técnica preconizada por Williams et alii (1984), com adaptação para anaeróbios. Para isolamento, foram utilizados os meios Bacteroides-Bile-Esculina e Ágar-sangue suplementado, procedendo-se a identificação presuntiva pelas provas de Gram, catalase, teste respiratório e produção de pigmentos, seguindo-se a identificação bioquímica de acordo com os grupos bacterianos, e determinando-se, os perfis de susceptibilidade a antimicrobianos, pelo método da diluição em caldo, segundo Wilkins e Thiel (1973), com modificações. Utilizou-se cepa de referência como controle.

As bactérias aneróbias são usualmente desconsideradas, quando se fazem avaliações bacteriológicas das lesões infectadas dos queimados. Dos 21 pacientes estudados, isolaram-se anaeróbios de 5: Peptostreptococcus sp e P. acnes (1); Bacteroides produtores de pigmento negro (2); Peptococcus sp (1); P. freudenreichii (1); Clostridium chauvoei (1). Embora o "momento" dos anaeróbios na infecção do paciente queimado não esteja definido na literatura, os resultados mostram ainda que há um maior número de bactérias por cm<sup>2</sup> de pele para cultivos em anaerobiose, quando já se observa a formação da escara e região sub-escara, momento em que as condições das lesões são mais propícias para estes microrganismos. Saliente-se que, o Clostridium chauvoei e P. aeruginosa foram recuperados em altas concentrações antes e após o desbridamento. Os perfis de susceptibilidade das cepas isoladas, mostram sensibilidade à maioria dos 17 antimicrobianos testados.

APOIO: CAPES, FINEP, CNPq e CPq/UFMG

AVALIAÇÃO BACTERIOLÓGICA DAS FERIDAS DE QUEIMADOS GRAVES.

S.L.SILVA;O.M.GONTIJO;C.A.V.DAMASCENO;M.A.R.CARVALHO&E.O.CISALPINO  
DEPTº DE MICROBIOLOGIA DO INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS/UFMG.

Procedeu-se uma avaliação qualitativa e quantitativa de bactérias aeróbias e facultativas, de lesões de pacientes queimados graves, incluindo-se os perfis de susceptibilidade a antimicrobianos, ao lado de uma avaliação dessas bactérias no ambiente.

De maio a dezembro de 1988, estudaram-se bacteriologicamente espécimes de 21 pacientes queimados da Unidade Especializada, do Hospital João XXIII, de Belo Horizonte, MG., bem como espécimes ambientais de 6 fontes diferentes da própria Unidade. O número de CFU/cm<sup>2</sup> de pele foi avaliado segundo Williams et alii (1984). Para enterobactérias e bastonetes não fermentadores, o isolamento e a caracterização foram baseados nas características pelo Gram, motilidade, tipo respiratório, produção de pigmentos, reações bioquímicas em meio IAL (Pessoa e Silva, 1972; Pessoa e Silva, 1974), oxidase e demais provas bioquímicas. Os cocos Gram positivos isolados em ágar-sangue, foram identificados de acordo com o preconizado para cada grupo microbiano. Determinaram-se os perfis de susceptibilidade, segundo o método da difusão em ágar de Bauer et alii (1966), utilizando-se antimicrobianos selecionados adequadamente (Lennette et alii, 1985), incluindo-se aquelas de uso no hospital. Utilizaram-se cepas de referência como controle.

Segundo a literatura, o número de 10<sup>5</sup> bactérias por cm<sup>2</sup> de pele nos pacientes queimados é indicativo de infecção para aeróbios e facultativos, exceto para P.aeruginosa, para a qual o número de 10<sup>2</sup> já significa infecção. Dos 21 pacientes, isolaram-se: P.aeruginosa (16) e Pseudomonas sp(01); Acinetobacter calcoaceticus(01), S.aureus(05); S.epidermidis(04); S.faecalis(02), E.coli(02); Klebsiella sp(02); Proteus sp(02); Citrobacter sp(01). De 3 dos 6 espécimes ambientais isolaram-se: P.pseudomallei (03); Acinetobacter calcoaceticus (01); Enterobacter sp(01). Em praticamente todos os espécimes de pacientes de onde se isolou P.aeruginosa (15), o nº de CFU/cm<sup>2</sup> de pele estava acima de 10<sup>2</sup>, e em 9 delas chegou a 10<sup>5</sup>. Os perfis de susceptibilidade aos antimicrobianos mostram resistência a quase todas drogas testadas, particularmente, considerando-se as espécies de Pseudomonas.

APOIO: CAPES, FINEP, CNPq e CPq/UFMG

COLONIZAÇÃO E INFECÇÃO POR PSEUDOMONAS AERUGINOSA, STAPHYLOCOCCUS AUREUS E ESTAFILOCOCS COAGULARE-NEGATIVOS RESISTENTES A OXACILINA EM PACIENTES DA UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA UFRJ

A. Schubert\*, C.M.N. David\*\*, J.R. Rocco\*\* & P.P. Gontijo Filho\*

\*Departamento de Microbiologia Médica do Instituto de Microbiologia da UFRJ e \*\*Unidade de Terapia Intensiva do Hospital Universitário da UFRJ.

As infecções hospitalares representam atualmente causas importantes de morbidade e mortalidade. A colonização de pacientes graves por determinados microrganismos constitui um fator de risco de infecções. Nesta investigação, 51 pacientes internados na UTI do HU-UFRJ foram monitorados quanto à colonização por P. aeruginosa, S. aureus e estafilococos coagulase negativos resistentes a oxacilina (ECNRO). Os dois primeiros foram isolados respectivamente de 68,6% e 52,9% dos pacientes, sendo o trato respiratório e o reto os sítios de colonização mais frequentes. Os ECNRO) foram cultivados a partir de lesões cutâneas e/ou do períneo em 39,2% dos doentes. A evolução para infecção variou com o microrganismo considerado; desenvolveu-se infecção em 8 dos 35 pacientes colonizados com P. aeruginosa, 2 dos 27 colonizados com S. aureus e 1 dos 20 colonizados com ECNRO. Entretanto, diferenças não foram observadas em relação ao grupo controle não colonizado, no qual uma proporção similar de infecções pelos 3 microrganismos também se fez presente.

Orgão Financiador: CNPq

AValiação DA IMPORTância DE VEGETAIS COMO FONTE DE INFECCÃO POR Pseudomonas aeruginosa EM PACIENTES HOSPITALIZADOS

C. M. C. Correa; A. Tibana & P. P. Gontijo Filho

Departamento de Microbiologia Médica, Instituto de Microbiologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Amostras de vegetais crús foram coletadas das cozinhas do Hospital Universitário (HU) - UFRJ e do Hospital de Oncologia (HO) - INAMPS para avaliação qualitativa e quantitativa de Pseudomonas aeruginosa. As cepas de P.aeruginosa isoladas dos vegetais e de pacientes internados nesses hospitais, durante o mesmo período da coleta dos vegetais, foram caracterizadas fenotipicamente através de sorotipagem e piocinotipagem, e submetidas ao teste de sensibilidade aos antimicrobianos. P.aeruginosa estava presente em 27% dos vegetais analisados do HU-UFRJ e em 11% dos vegetais do HO - INAMPS. Em cerca de 10% - 20% das amostras positivas a presença do microrganismo foi superior a 1000 UFC/g. As cepas provenientes de pacientes foram mais resistentes ao grupo dos aminoglicosídeos do que as obtidas de verduras, e as isoladas de verduras e de pacientes do HU-UFRJ mostraram taxas menores de sensibilidade aos antimicrobianos. Os sorotipos 0 detectados predominantemente no HU-UFRJ foram 03, 04, 011 e 016 em materiais clínicos e 04 e 06 nos vegetais, enquanto no HO-INAMPS, os sorotipos predominantes foram 04 e 011 em materiais clínicos e 01, 02a, 04 e 011 nos vegetais. No HU-UFRJ, os piocinotipos 1 e 10 foram os mais frequentes em materiais clínicos e os piocinotipos 1 e 3 nos vegetais. No HO-INAMPS, os piocinotipos 1, 3 e 10 foram os mais frequentes em materiais clínicos e os piocinotipos 10 e 22 nos vegetais.

Órgãos Financiadores: CNPq, FINEP e CEPEG-UFRJ

INCIDÊNCIA E ETIOLOGIA DE INFECÇÕES PÓS\_CIRURGICAS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA UFPb.

SANTOS Fº, Lauro; SANTOS, Iolanda B. da Costa; LIMA, M<sup>a</sup> Marta V. de Melo; ABRANTES, Maiza Rocha.

Laboratório de Bacteriologia do Núcleo de Medicina Tropical / Universidade Federal da Paraíba.

Em um estudo prévio foram processadas 49 amostras // clínicas colhidas a partir de secreção de ferida cirurgica de pacientes internos no Hospital Universitário da UFPb. As amostras foram colhidas com auxílio de "swab" e transportadas ao laboratório em meio de Stuart (Merck) sendo processadas através de metodologia padrão para o isolamento e identificação bacteriana, assim como para a determinação de alguns marcadores epidemiológicos.

A partir desta amostragem foi obtido o isolamento de 78 tipos bacterianos com uma predominância do S. aureus (23,4%), seguido de Klebsiella sp., S. epidermidis e // Escherichia coli (12,8%), isolados na mesma proporção, sendo outras bactérias isoladas em percentagens menores. Além disso foram realizados testes de sensibilidade às drogas, obtendo-se o padrão de resistência aos antimicrobianos.

Numa segunda etapa estamos iniciando algumas técnicas complementares como: determinação da CIM, Fagotipagem de S. aureus e análise de plasmídios, no sentido de complementar o estudo epidemiológico.

Trabalho financiado pelo CNPq. Proc.nº 409.275/88-3.

ESTUDO COMPARATIVO ENTRE A TÉCNICA DO ELISA E DOT-ELISA NA SOROLOGIA DA HANSENÍASE

M.H. Saad, M.A. Medeiros, P.P. Gontijo Filho & L. de S. Fonseca.

Laboratório de Hanseníase, FIOCRUZ & Departamento de Microbiologia Médica do Instituto de Microbiologia, UFRJ

Dentre as micobacterioses, a hanseníase destaca-se por ser uma enfermidade com alta prevalência em países sub e em desenvolvimento e de difícil controle. Nesta comunicação são apresentados resultados de uma avaliação comparativa entre o método imunoenzimático em microplaca (ELISA) e aquele sobre papel de filtro de nitrocelulose (DOT - ELISA) de uma população selecionada que inclui 228 soros de 92 hansenianos, 68 contatos, 50 indivíduos sádios e 18 tuberculosos. Os resultados foram analisados estatisticamente e sugerem que o método de DOT-ELISA utilizando o PGL-1 como antígeno é útil por se tratar de uma técnica rápida, de fácil leitura e sensível para a busca de indivíduos multi-bacilares (formas LL e BL) em comunidades de alto risco.

Órgãos Financiadores: CNPq e FAPERJ

AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE ANTICORPOS PARA AS TOXINAS A E B DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE EM SOROS DE PACIENTES SUBMETIDOS À QUIMIOTERAPIA.

A.M. Milhomem & M.F.B.F. Dias

Departamento de Microbiologia Médica do Instituto de Microbiologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

A presença de anticorpos para as toxinas A e B de C. difficile foi analisada através de teste imunoenzimático (ELISA) e de neutralização do efeito citopático em cultura de células. Foram considerados como positivos no teste de ELISA, soros com títulos iguais ou superiores a diluição de 1:100. Em 140 amostras de soros do grupo controle (doadores de sangue) a prevalência destes anticorpos (IgG) foi de 15% para toxina A e de 57% para toxina B e os títulos variaram entre 1:100 a 1:3200. Em pacientes com tuberculose residual, antes do tratamento, uma prevalência similar foi observada tanto para toxina A (19%) como para a toxina B (58%). Em pacientes com tuberculose e em tratamento houve um aumento de positividade somente para a toxina A (36%). Não houve correlação entre a presença e o título destes anticorpos com a atividade neutralizante dos soros. Em pacientes com doença de Crohn houve um aumento significativo na percentagem de positividade para as duas toxinas (71%).

Órgão Financiador: CNPq e FINEP

PRODUÇÃO DE ANTICORPOS MONOCLONAIS PARA TOXINA A DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE.

A.M., Milhomem & M.F.B.F., Dias

Departamento de Microbiologia Médica do Instituto de Microbiologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Foram produzidos 11 anticorpos monoclonais para a toxina A de Clostridium difficile. Estes anticorpos não foram reativos em precipitação em gel de agarose, ao contrário do clone descrito por Lyerly et al (1986) indicando que o epítoto para o qual foram produzidos não estão repetidos na molécula. Estes monoclonais também não apresentaram atividade neutralizante em cultura de células concordando com os dados relatados pelos mesmos autores citados. A especificidade destes anticorpos foi determinada através de testes de ELISA e dot-blot. Consideramos que o emprego destes anticorpos monoclonais como reagentes analíticos na pesquisa de toxina A de Clostridium difficile a partir de espécimens clínicos pode ser de grande utilidade no diagnóstico rápido e específico da colite pseudomembranosa.

Órgão Financiador: FINEP

## NEUTRALIZAÇÃO DA TOXINA DIFTÉRICA "IN VIVO" POR ANTI-CORPOS MONOCLONAIS

M.G.M.Danelli; J.M.Peralta; L.M.Teixeira & L.C.D.Formiga.  
Instituto de Microbiologia da UFRJ e Bio-Manguinhos, FIOCRUZ.

A toxina diftérica (TD), secretada pelo *C. diphtheriae*, é composta por duas regiões funcionalmente distintas: fragmento A (FA), o qual contém o sítio enzimaticamente ativo, responsável pelo efeito tóxico, e fragmento B (FB), responsável, pelo menos em parte, pela ligação a receptores específicos localizados na membrana de células sensíveis. Anticorpos monoclonais (AcsMns), direcionados para diferentes regiões da molécula de TD, têm sido utilizados para identificação de domínios que podem estar envolvidos no processo de entrada da TD na célula alvo, na sua atividade enzimática e na indução de imunidade protetora. Nesse estudo, a relação entre a capacidade de neutralização da atividade tóxica da TD e a região da molécula responsável por esse efeito foi analisada, através de teste de proteção em cobaias, utilizando três AcsMns, os quais apresentaram diferentes padrões de reatividade com a TD, FA e FB, quando analisados por Western Blot (IIB6-direcionado contra o FB; IIG6-direcionado contra o FA; IID8-direcionado para epítomos presentes em ambos os fragmentos). A administração, em cobaias, de 400ug dos AcsMns ou de 1000 UA da SAD, 24 horas antes do desafio com 250ng de TD, protegeu esses animais do efeito da toxina, não havendo alterações fisiológicas ou do comportamento dos animais durante o período de observação (6 dias). Entretanto, aqueles não protegidos apresentaram alterações fisiológicas e do comportamento, características de intoxicação, morrendo no terceiro dia após o desafio. Com base nas características dos AcsMns estudados e em dados da literatura, acreditamos que os AcsMns IIG6 e IID8 devam reconhecer epítomos contidos na região IIB do FA. Essa região, juntamente com a região IIIa do FB, provavelmente estão justapostas ao domínio primário de ligação ao receptor ou formando um domínio de ligação secundário. Da mesma forma, é possível que o AcsMn IIB6 esteja direcionado contra epítomos contidos nas regiões III ou IV do FB da TD, sendo a região IV responsável pela ligação direta da TD ao receptor de membrana de células sensíveis. Assim, os resultados obtidos nos levam a admitir que os três AcsMns analisados possam vir a ser de grande utilidade no estudo molecular da TD e em investigações sobre o mecanismo de ligação e entrada da toxina em células íntegras.

Auxílio financeiro do CNPq, CAPES, OPAS e CEPG/UFRJ.

DESENVOLVIMENTO DE UMA VACINA PERTUSSIS DE REFERÊNCIA  
PARA AFERIÇÃO DE ENSAIOS BIOLÓGICOS.

A.P. Ferreira, J.F. Martins, E.P. Reis e A.E.C. Cardoso  
de Almeida.

Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle  
de Qualidade em Saúde, Laboratório de Vacina Tríplice.

OBJETIVOS: A elaboração de Imunobiológicos por Labora-  
tórios Produtores requer a utilização de Materiais Bio-  
lógicos de Referência. Frente a este quadro, o laborató-  
rio de de Controle de Qualidade de Vacina Tríplice (IN-  
CQS/FIOCRUZ), desenvolveu a Vacina Pertussis para uso  
na aferição da Atividade Imunogênica do componente Per-  
tussis da Vacina Tríplice - DPT (Difteria-Tétano-Coque-  
luhe).

MATERIAL E MÉTODOS: Cepas de Bordetella pertussis  
(137 e 143), foram crescidas em meio de Cohen-Wheeler e  
após um período de 72 horas, foi preparada uma suspen-  
são com Salina Tamponada com mertiolate (1/5000), ajus-  
tada a 20 Unidades Opacimétricas/ml e distribuída em  
frascos-ampola para liofilização.

RESULTADOS E CONCLUSÕES: Testes em paralelo com Vací-  
nas Padrões Internacionais (OMS - Organização Mundial de  
Saúde e NIH - National Institute of Health), demonstra-  
ram uniformidade dos resultados na avaliação estatísti-  
ca (linearidade, paralelismo, Dose afetiva 50%) e con-  
firmação de sua eficácia.

EVOLUÇÃO DO GRANULOMA PÓS-VACINAL NOS LINFONODOS INDUZIDO PELA VACINA B.C.G.-BRASIL (CEPA-MOREAU) ILUSTRADO HISTOLOGICAMENTE.

E.N.Alves, R.C.Farias, F.H.A.Lima e Silva, G.R.G.Armôa, M.P.Velloso & E.Pereira.

Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Setor de Microbiologia e Imunologia, Laboratórios de Controle de Vacina B.C.G. e de Patologia.

OBJETIVOS. No começo do século Calmette a partir da atenuação do agente da tuberculose bovina, Mycobacterium bovis, desenvolveu a vacina B.C.G. A cepa primária de Calmette e Guerin através de várias passagens foi sofrendo mutações, as quais, deram origem a outras sub-cepas que possuem diferenças genéticas entre si. Uma destas sub-cepas é a Moreau que foi introduzida no Brasil em 1925 por Arlindo de Assis. Sabendo-se a capacidade da cepa Moreau em induzir imunidade e hipersensibilidade celular e como os elementos presentes nestes dois fenômenos são os responsáveis pela formação do granuloma, achamos oportuno fazer um estudo sobre a evolução do granuloma pós-vacinal da vacina B.C.G.-Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS: Foram utilizados 30 cobaias com pesos na faixa de 250 a 300g e foram inoculados com 50 doses humanas da vacina B.C.G. intradérmica (dosagem utilizada no teste de Ausência de Micobacteria virulenta preconizado pela OMS), por via subcutânea na face interna da coxa direita. Os animais foram sacrificados em grupos de cinco na 1ª, 2ª, 3ª, 6ª, 9ª e 18ª semana. Os mesmos foram necropsiados e os nódulos linfáticos e baço pesados e posteriormente submetidos a exame histológico.

RESULTADOS E CONCLUSÕES: Os resultados obtidos durante a microscopia nos levaram às seguintes conclusões: 1- o pico da reação granulomatosa ocorre na 3ª semana; 2- a partir da 6ª semana observamos a regressão do granuloma, a qual é total na 18ª semana.

AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL (DIAGNÓSTICO) DA TUBERCULOSE EM CRIANÇAS RESIDENTES NA BAIXADA FLUMINENSE (RJ).

J.V. Ferreira; L. de S. Fonseca e P.P. Gontijo Filho

Instituto de Pediatria e Puericultura Martagão Gesteira e Departamento de Microbiologia Médica do Instituto de Microbiologia da UFRJ.

Foi investigada a etiologia tuberculosa em 17 crianças (4m. a 3 anos) com manifestações pulmonares, residentes na Baixada Fluminense, internadas no Hospital Infantil de Nilópolis (PRONIL), através de métodos clínicos-epidemiológicos, radiológicos e laboratoriais. Como controle, foram estudadas 7 crianças com pneumonia inespecífica. Obteve-se 52,8% (9/17) de positividade no diagnóstico etiológico através de cultura de lavado gástrico. No grupo cultura positiva, o contágio foi referido em 4 pacientes (44,4%) e o PPD foi positivo (maior que 10mm) igualmente em 4 crianças.

Entre os não reatores, a maioria (3/5) apresentou quadro de terapêutica específica. No grupo sem confirmação bacteriológica (8/17), o contágio foi referido em 7 (87,5%) e o PPD foi positivo em 5 pacientes (62,5%), dos quais em apenas 1 foi verificado a existência de cicatriz vacinal de BCG. Em relação ao diagnóstico sorológico através pesquisa de anticorpos IgG anti-PPD, 4 crianças forneceram resultados positivos, em 2 dessas o diagnóstico etiológico não foi confirmado. Não foi observada relação entre o PPD e a produção de anticorpos anti-PPD. O grupo controle não apresentou sorologia positiva. Os autores discutem a dificuldade de utilizar os critérios diagnósticos elaborados para as crianças de países desenvolvidos em relação à realidade sócio-econômica da região estudada.

Órgão Financiador: CNPq

AVALIAÇÃO DE UM MÉTODO RÁPIDO (AGLUTINAÇÃO COM PARTÍCULA DE LÁTEX) NO DIAGNÓSTICO DA TUBERCULOSE PULMONAR COM E SEM DERRAME PLEURAL.

P.P. Gontijo Filho; N. D. dos Santos; L. Palhano Junior

Departamento de Microbiologia Médica, Instituto de Microbiologia, UFRJ, Universidade Federal do Espírito Santos.

Um teste simples de aglutinação de partículas de látex para a detecção de antígeno de Mycobacterium tuberculosis H37Rv, desenvolvido por Krambóvits foi avaliado em 26 pacientes com suspeita clínica de tuberculose e 5 controles com outras patologias respiratórias. O reagente foi preparado pela sensibilização passiva de partículas de látex com imunoglobulina purificada de coelho obtida pela inoculação de extrato de membrana citoplasmática de M. tuberculosis nesses animais. Os resultados com aqueles obtidos pelos métodos convencionais, bem com observações clínicas, histológicas e terapêuticas. O antígeno foi encontrado no escarro, lavado e aspirado brônquico de 15 pacientes, dos quais 4 foram negativos na baciloscopia e cultura, mas em apenas um foi possível afastar uma etiologia tuberculosa. Em relação aos 10 casos em que houve derrame pleural apenas um líquido pleural foi positivo no teste do látex, enquanto outro, embora positivo na cultura não mostrou evidência do antígeno micobacteriano. Os controles também forneceram resultados negativos. Apesar do número pequeno de doentes analisados, em função da especificidade e sensibilidade encontrados, concluímos que se trata de uma técnica que pode ser útil na investigação da tuberculose, particularmente em quadros extra-útil na investigação da tuberculose, particularmente em quadros extra-pulmonares onde o diagnóstico etiológico é muito difícil.

Orgão Financiador: CNPq

O Mycobacterium tuberculosis EM MATERIAIS DE ORIGEM  
EXTRAPULMONAR.

S.Y.M.Ueki, M.Palaci, M.C.Martins, D.N.Sato, T.Ichi-  
kawa.

Instituto Adolfo Lutz - Lab. Central - S.P.

Com a finalidade de isolar e identificar micobac-  
térias, foram analisadas no setor de Micobactérias  
do Instituto Adolfo Lutz - S.P., no período de ja-  
neiro a dezembro de 1988, 416 amostras de pacientes  
internados em vários hospitais de São Paulo, com  
suspeita de tuberculose. Destas, 157 eram amostras  
de pacientes do grupo de risco de AIDS/SIDA.

Os materiais foram submetidos à pesquisa direta de  
BAAR e à cultura em meio de Lowenstein-Jensen, onde  
observou-se crescimento de micobactérias em 47  
(11,29%) amostras. Entre estas, 20(12,73%) eram dos  
pacientes do grupo de risco de AIDS. Todas as cepas  
isoladas foram identificadas como M.tuberculosis,  
quando submetidas às seguintes provas bioquímicas:-  
produção de niacina, redução de nitrato e produção  
de catalase à temperatura ambiente e inativação à  
68°C. O M.tuberculosis foi isolado nas seguintes a  
mostras:- 25(53,19%) material de origem ganglionar  
(secreção e fragmento); 15(31,91%) material de ori-  
gem pleural (derrame e fragmento); 03(6,38%) frag-  
mento hepático; 02(4,26%) fragmento de pericárdio  
vascular; 01(2,13%) secreção de orofaringe e 01  
(2,13%) líquido ascítico.

Através desta positividade, evidencia-se a importân-  
cia da utilização do exame bacteriológico no diag-  
nóstico da tuberculose extrapulmonar.

## GASTROENTERITE EM SALVADOR

H. M. N. Guerreiro e M.G.S. Carvalho  
Faculdade de Farmácia - Universidade Federal da Ba.

OBJETIVO : Investigar a ocorrência de Escherichia coli enteropatogênica (EPEC) e invasora (EIEC), Salmonella sp, Shigella sp, Campylobacter sp e Yersinia enterocolitica como agentes de gastroenterite.

MATERIAL E MÉTODOS : No período de novembro de 1987 a novembro de 1988 foram colhidas 125 amostras de fezes diarreicas recém-emitidas ou conservadas em Meio de Cary-Blair, sendo semeadas em : EMB Agar, SS Agar, Caldo Selenito, Caldo tamponado para enriquecimento a frio e Agar Campylobacter ( Blaser).

RESULTADOS : dos 125 pacientes 88,8% eram crianças, das quais 71% menores de um ano de idade. A ocorrência de patógenos bacterianos deu-se na seguinte ordem: EPEC 56 (44,8%), Shigella (flexneri 6 e sonnei 2 ) 8 (6,4%), S. enteritidis 4 (3,2%), EIEC 3 (2,4%) e Campylobacter coli 1 (0,8%). Não houve isolamento de Y. enterocolitica.

CONCLUSÕES : E. coli enteropatogênica continua sendo o mais importante agente de diarreia infantil na faixa etária de menores de um ano.

Ressaltamos o isolamento de Campylobacter coli que segundo nosso conhecimento, de acordo com levantamento bibliográfico realizado, é aparentemente o primeiro relato de isolamento desta bactéria como agente de gastroenterite no país.

PRIMEIRO ISOLAMENTO DE Campylobacter coli EM SALVADOR, BAHIA.

H. M. N. Guerreiro e M. G. S. Carvalho  
Faculdade de Farmácia - Universidade Federal da Bahia

OBJETIVO : Relatar o isolamento de uma amostra de C. coli, aeróbio estrito.

MATERIAL E MÉTODOS : Fezes recém emitidas ou conservadas em Cary-Blair, foram semeadas em Campylobacter Agar (Blaser) e incubadas a 42 °C por 72 horas, em ambiente de CO<sup>2</sup> ( técnica da lata com vela). Das placas observadas diariamente era feita coloração de Gram, sempre que indicado. Como testes de identificação usou-se motilidade em campo escuro, sensibilidade à ácido nalidíxico e cefalotina, oxidase, catalase, crescimento a 25, 35 e 42°C, produção de H<sup>2</sup>S pelo papel de acetato de chumbo e hidrólise do hipurato.

RESULTADO : De uma criança do sexo masculino de onze meses de idade, com diarréia há 23 dias foi isolada uma bactéria Gram negativa em forma de bastonetes encurvados, com colonias inicialmente puntiformes, não hemolíticas, mas que ficaram úmidas e espalhadas em repiques subsequentes. Apresentou motilidade em seta, típica de Campylobacter. Os resultados foram positivos para os testes de catalase, oxidase, redução de nitrato a nitrito e produção de H<sup>2</sup>S. Não alterou o meio de TSI, cresceu a 25, 35 e 42 °C, foi resistente a ácido nalidíxico e sensível a cefalotina, a hidrólise do hipurato foi negativa.

CONCLUSÕES : Os testes utilizados não foram suficientes para identificar a espécie de Campylobacter, dadas as características pouco usuais da bactéria. A amostra foi enviada para o CDC por intermédio do Dr. V.R. Dowell Jr. sendo identificada como Campylobacter coli.

## PIEDRA BRANCA GENITAL\*

M.C.A. Meireles, O. Fischman, Z.P. de Camargo, M.H.H. Forjaz,  
R.C. Candido.

Escola Paulista de Medicina, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Disciplina de Micologia, São Paulo, Brasil

Durante o período de 12 meses foi estudada a prevalência de pedra branca genital em indivíduos do sexo masculino, escolhidos ao acaso, na cidade de São Paulo. Os pacientes foram agrupados, segundo suas faixas etárias, em 4 grupos: I - 103 crianças entre 0 e 10 anos; II - 42 adolescentes entre 11 e 17 anos; III - 267 adultos jovens entre 18 e 25 anos; IV - 130 adultos, maiores de 25 anos. O material foi colhido pela técnica do quadrado do tapete de MARIAT & TAPIA (1966), semeado por impressão, em placas de Petri contendo ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol ( 0,04 mg/ml ), incubadas a 28°C durante 15 dias, com observações diárias a partir do 4º dia. O resultado dos cultivos mostrou 23,9% ( 130 isolados ) de positividade para *Trichosporon cutaneum*. Foram coletados pelos escrotais de 110 desses pacientes dos quais 79,1% ( 187 ) revelaram nódulos piêdricos. Piedra branca não foi identificada em pacientes menores de 11 anos. Adultos jovens foram os mais atingidos, representando 33,7% ( 90 ) dos 267 pacientes, do grupo examinado. A técnica de coleta de material pelo quadrado de tapete deve ser empregada para o diagnóstico da pedra branca.

\* Parte da Tese de M.C.A. Meireles "Piedra Branca Genital: estudo bioquímico e microbiológico de *Trichosporon beigelii*" para obtenção do grau de Mestre - EPM 1981. Trabalho realizado com o auxílio financeiro do CNPq e CAPES.

ISOLAMENTO DE Rhodotorula rubra EM PELOS HUMANOS, SIMULANDO PIEDRA BRANCA

M.F.C. PIRES; C.M. ASSIS; M. W. SZESZS; S.R.B.S.PUKINS  
KAS; A. PURCHIO; C.R.P. GANDRA; M.C. GIUDICE  
Instituto Adolfo Lutz (Seção de Micologia)  
Depto. Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (Seção de Micologia)

Rhodotorula rubra é considerada levedura oportunista estando associada a uma variedade de processos patológicos no homem. O presente trabalho relata, pela primeira vez em nosso meio, o isolamento desse microorganismo, como agente etiológico de infecção de pelos humanos que ao exame clínico simula Piedra Branca.

É importante ressaltar que esta levedura é observada em exame direto, em microcopia eletrônica de varredura e é isolada repetidas vezes de pelos infectados.

## DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE MICOSES SUPERFICIAIS NO TRIÊNIO 1985 a 1987.

R.A. Castellucci\*; C.E. Levy\*; C.M.L.Maffei\*\*

\* HC da FMRP - USP, \*\* Depto. de Microbiologia da FMRP-USP.

As micoses superficiais correspondem a uma das causas mais frequentes de procura ao dermatologista que se baseia para firmar o diagnóstico no aspecto clínico das lesões e nos métodos laboratoriais. Estes são feitos pela pesquisa direta do agente etiológico no material clínico submetido à clarificação com KOH à 20% e no isolamento do fungo, obtido em meio de cultura como o Agar - Sabouraud-dextrose acrescido de cloranfenicol, à 25°C. O presente trabalho visa avaliar a distribuição das Micoses Superficiais diagnosticadas laboratorialmente no período de 3 anos (1985-1987). Foram examinados 1659 materiais (escamas, cabelos e raspado de unha), sendo que destes 57,4% resultaram em exames negativos, 34,9% em dermatofitoses, 6,5% em Candidose, 1,1% em Pitiríase versicolor. A incidência baixa deste último, possivelmente se deve ao diagnóstico clínico firmado nos ambulatórios. Entre as Dermatofitoses o diagnóstico foi obtido em 46,3% através do exame micológico direto e isolamento do fungo, 43,3% apenas pelo exame micológico direto e 10,3% apenas pelo isolamento do fungo. O dermatófito mais isolado foi Trichophyton rubrum (67,6%), seguido pelo Microsporum canis (14,3%) e Trichophyton mentagophytes (11,2%). Discute-se a distribuição destes segundo localização das lesões. Obtivemos o isolamento em um caso de Tinea pedis de Microsporum nanum. As espécies de Candida mais frequentemente isoladas foram C.albicans, C.parapsilosis e C.tropicalis .

Apoio técnico: funcionárias do laboratório Micologia do Hospital das Clínicas e estagiária: Jaqueline Otero Silva.

PROTEINASE COMO FATOR DE VIRULÊNCIA DE CANDIDA ALBICANS

M.T.SHIMIZU

Faculdade de Odontologia-Campus de São José dos Campos/UNESP

Pesquisou-se a produção de proteinase, em 17 amostras de Candida albicans, com o objetivo de se relacionar a presença dessa enzima com a virulência para camundongos inoculados por via intravenosa. O método utilizado para detecção de proteinase foi o descrito por RUCHEL e col. (1982) e o tamanho do halo (em Pz) foi medido pela técnica descrita por PRICE, M.F. e col. (1982). De acordo com o tamanho do halo produzido, dividiu-se as amostras em 3 grupos: 1. amostras com Pz entre 0,70 e 0,90 ; 2. amostras com Pz entre 0,25 e 0,29 e 3. amostras com Pz=1 (sem halo). Todas as amostras foram inoculadas em camundongos por via intravenosa, numa dose de cerca de  $1,4 \cdot 10^6$  células/animal e observados por até 60 dias. Amostras de Candida do primeiro grupo, que produzem pouca enzima, matam os animais em até 40 dias após a inoculação; amostras do segundo grupo, que produzem bastante proteinase, matam os animais mais rapidamente e as amostras com Pz=1, não matam apenas parte dos animais inoculados. Não se pode concluir que a proteinase seja o único fator de virulência, pois encontramos amostras com pouca produção de proteinase que matam rapidamente os animais enquanto que amostras com bastante produção da enzima não matam. Financ. p/ FAPESP 88/3591-6; FUNDUNESP 334/88.

FOSFOLIPASE EM ESPÉCIES DE CANDIDA

M.T.SHIMIZU

Faculdade de Odontologia de São José dos Campos/UNESP

O objetivo deste trabalho foi o de verificar a produção de fosfolipase, "in vitro", em leveduras do gênero Candida. O método utilizado foi o de PRICE e col. (1982). Utilizou-se 35 amostras de Candida albicans, 12 de C.tropicalis, 10 de C.guilliermondii, 8 de C.stellatoidea, 9 de C.parapsilosis e 6 C.krusei. As amostras foram isoladas de indivíduos normais e de pacientes com candidose. Os resultados obtidos foram os seguintes: 100% das amostras de C.albicans e C.parapsilosis produziram fosfolipase; 90% das amostras de C.tropicalis e C.guilliermondii; 67% das amostras de C.krusei e 45,6% das de C.stellatoidea também produziram fosfolipase. Conclusões: 1. Apesar de todas as amostras de C.albicans e C.parapsilosis e 90% das de C.tropicalis, tenham produzido fosfolipase não se pode afirmar ser essa enzima a responsável pela virulência, pois a porcentagem de amostras positivas das demais espécies também foi elevada. 2. Não se observou qualquer relação entre amostras isoladas de indivíduos normais e de pacientes com candidose e produção dessa enzima. 3. Não se observou também, até o momento, relação entre a presença dessa enzima e patogenicidade para camundongos inoculados por via intravenosa.

Trabalho financiado pela FAPESP proc.88/3591-6 e FUNDUNESP proc. 334/88.

INFLUÊNCIA DE MEIOS DE CULTIVO, SALINAS E SORO HUMANO NO DIMORFISMO DE CANDIDA ALBICANS.

Sandra de Souza Schiller, Gisele Maria de Andrade e Ionice Felipe.

Departamento de Patologia Geral, Universidade Estadual de Londrina.

Tem sido sugerido que a habilidade da Candida albicans produzir germe tubo no interior de células fagocíticas possa estar relacionado com os mecanismos de escape aos agentes microbicidas. Com o objetivo de estudarmos os mecanismos de escape da Candida albicans, achamos necessário encontrar um meio para o ensaio fagocítico que por si só não provocasse dimorfismo no referido fungo. Candida albicans, crescidas em meio Sabouraud glicose por 24 horas a 25°C, na concentração de  $10^6$  leveduras/ml, forem colocados em diferentes meios, a saber: RPMI nos pHs 5.0, 6.0, 7.0 e 8.0; PBS com 1 mM de  $\text{CaCl}_2$ , PBS com  $\text{CaCl}_2$  e glicose nas concentrações de 3,8 mM, 5.0 mM, e 25 mM; Hank's e soro humano. Após incubação a 37°C por 30 minutos, 2 e 4 horas observou-se mudança de forma, que variou de acordo com o meio. A maior porcentagem de germinação foi obtida com o soro humano 90,3% e RPMI pH 7.0, 89,1%, seguidos de Hank's 64% PBS com  $\text{CaCl}_2$  e 3,8 mM de glicose 55,1% após 4 horas de incubação. O meio de menor índice de germinação foi o PBS com  $\text{CaCl}_2$  que apresentou somente 1% de germe tubo após 4 horas de incubação.

Apoio Financeiro: CNPq.

Prevalência de sorotipos de C. albicans em diferentes materiais clínicos

BONIFÁCIO-SOUZA, E.M.; PAULA, C.R.; GAMBALE, W.; CORRÊA, B.; PURCHIO, A.

C. albicans pode ser dividida em dois sorotipos, A e B, tendo como base as propriedades aglutinantes de anti-soros preparados com várias amostras. A sorotipagem de C. albicans é uma técnica prática e de fácil execução, podendo servir como mais um dado no rastreamento epidemiológico destas infecções fúngicas. Além disso, a literatura cita o sorotipo B como o mais refratário a certos antifúngicos, propiciando um maior índice de infecções recidivantes. Quarenta e cinco amostras de C. albicans, isoladas de casos de candidose, foram analisadas para se determinar os sorotipos. Dezesesseis amostras foram isoladas de escarro, 16 de mucosa oral, 9 de fezes e quatro de unha. Na obtenção de soros hiperimunes foi utilizada suspensão celular de C. albicans sorotipo A, para a inoculação em coelhos, segundo esquema de Hasendever & Mitchell (1961) e protocolo elaborado pela Fundação de Ensino e Tecnologia de Alfenas. O anti-soro obtido foi absorvido com células de C. albicans sorotipo B e foi utilizado nas provas de aglutinação em lâmina. Do total das amostras analisadas 33 (73,3%) pertenciam ao sorotipo A e estavam assim distribuídas: no escarro, obteve-se 10 amostras A (62,5%) e 6 amostras B (37,5%); das secreções de mucosa oral, obteve-se 13 amostras A (81,2%) e 3 amostras B (18,7%); em fezes obteve-se 7 amostras A (77,7%) e 2 amostras B (22,2%) e nos raspados de unha, 3 amostras pertenciam ao sorogrupo A (75%) e 1 amostra ao sorotipo B (25%). A prevalência do sorotipo A é concordante com os dados da literatura mundial e com os escassos trabalhos nacionais realizados.

Sensibilidade de Sorotipos A e B de Candida albicans a antifúngicos.

CURY, A.E.; BONIFÁCIO-SOUZA, E.M.; PAULA, C.R.; CORRÊA, B.; GAMBA -  
LE, W.

Departamento de Microbiologia - Instituto de Ciências Biomédicas  
da Universidade de São Paulo.

Diferentes sorotipos de Candida albicans podem causar in  
fecções em humanos. Estas têm sido tratadas, notadamente com deri-  
vado poliênicos e imidazólicos, sem a execução prévia de antibio-  
gramas, embora existam numerosos relatos sobre a ocorrência de  
cêpas resistentes a estas drogas. Com base nestes conhecimentos,  
este trabalho foi objetivado a avaliar "in vitro" a sensibilidade  
de sorotipos A e b de C.albicans frente a anfotericina B, ao ceto  
conazol e ao miconazol.

Foram estudadas 31 amostras dessa espécie, incluindo 16  
sorotipos A e 15 B, as quais foram submetidas a testes para deter-  
minação da CIM e da CFM das drogas em estudo, mediante a execução  
de técnicas descritas em trabalhos anteriores. A cêpa foi conside-  
rada resistente ao agente poliênico quando os resultados foram  
 $\geq 4,0$  ug/ml e ao agente imidazólico quando foram  $\geq 16,0$  ug/ml.

Todas as cêpas foram sensíveis à ação inibitória da an-  
fotericina B, mas 68,7% das sorotipo A e 73% das B foram resisten-  
tes à ação fungicida deste antibiótico. Todas foram resistentes à  
atividade antifúngica dos derivados imidazólicos.

Nas condições estudadas, a sensibilidade de C.albicans  
aos agentes avaliados foi independente do sorotipo desta levedu-  
ra.

CANDIDA ALBICANS ISOLADAS DE PACIENTES AIDÉTICOS. SOROTIPAGEM, BIOTIPAGEM E SUSCETIBILIDADE A ANTIBIÓTICOS E QUIMIOTERÁPICOS.

RICCI, T.A.; MORAES, R.; DE LEMOS, E.A.; MORO, M.; MELHEM, M.S.C. and MENDES-GIANNINI, M.J.S.

Departamento de Análises Clínicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP, Araraquara.

Foram estudadas amostras de C.albicans isoladas de pacientes aidéticos na vigência de candidíase diagnosticada clinicamente. Foram aplicados testes bioquímicos, de sorotipagem, biotipagem e sensibilidade "in vitro" a anfotericina B, nistatina e cetoconazol. Todos os experimentos foram feitos em duplicata. Quanto aos sorotipos verificou-se que 68,75% pertenciam ao sorotipo A e 31,25% ao sorotipo B. Das amostras analisadas, 100% foram tolerantes ao pH 1.4; NaCl; assimilaram citrato e foram resistentes à safranina 53% produziram proteinase, 34,7% foram resistentes à 5 FC, 43,7% ao ácido bórico, 62,5% ao periodato de sódio; 50% assimilaram uréia, 37,5% sorbose, 90,6% glicina e 100% foram inibidas pelo TTC e meio MacConkey. Foram encontradas mais frequentemente 9 biotipos, predominando os tipos 167, 357, 345 e 347. Entre estes predominou o sorotipo A e entre as cepas resistentes a 5 FC, 72,7% eram sorotipo B. Verificou-se que 100% das leveduras foram inibidas na concentração de 6,25 ug/ml de Nistatina. Em relação ao Cetoconazol 15,6% foram inibidos na concentração de 50 ug/ml e 84,3% cresceram na concentração de 100 ug/ml, sendo que 70,3% pertenciam ao sorotipo A e 29,7% ao sorotipo B.

Histoplasma capsulatum EM PACIENTES AIDÉTICOS: ESTU  
DO LABORATORIAL.

M.F.C. PIRES; S.R.B.S. PUKINSKAS; M.S.C. MELHEM; M.  
W. SZESZS; M. C. GIUDICE

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (Seção de Micologia).

Histoplasma capsulatum foi isolado de três dife-  
rentes amostras de material biológico proveniente  
de pacientes aidéticos atendidos no Centro de Refe-  
rência e Treinamento da AIDS.

As amostras, secreção de pústula, líquido ascíti-  
co e biópsia de gânglio axilar, foram semeados em  
dois diferentes meios de cultura :Ágar e caldo  
Saboudaud dextrose com 200 mg/l de cloranfenicol e  
Ágar e Caldo B.H.I. com 200 mg/l de cloranfenicol ,  
mantidos a 25 e 37°C, respectivamente, em estufa  
por 30 dias. Foram realizados exames direto "à fres-  
co" e submetidos a coloração de GRAM e GIEMSA.

Das três amostras examinadas, em apenas uma (bióp-  
sia de gânglio axilar) foram encontradas formas le-  
veduriformes, enquanto as outras duas (líquido as-  
cítico e material de pústula) nada foi observado.

As culturas positivaram com até 30 dias após a se-  
meadura, onde observou-se uma colônia de aspecto co-  
tonoso, de cor creme que ao exame direto apresenta-  
va estalagmósporos. Foi realizada, com êxito, rever-  
são das culturas para a fase leveduriforme.

Cryptococcus neoformans ISOLADO DE DIFERENTES MATERIAIS BIOLÓGICOS DE PACIENTES HIV - POSITIVO : ESTUDO LABORATORIAL

M.F.C. PIRES; S.R.B.S. PUKINSKAS; M. W.SZESZS; M.S. C. MELHEM; M. L. SIMIONI

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (seção de Micologia)

Cryptococcus neoformans pode ser pesquisado em vários materiais biológicos, sendo o liquor o de maior frequência, devido sua predileção pelo S.N.C. A criptococose pode ser adquirida pela inalação do fungo, provocando infecção pulmonar localizada ou disseminação a outros órgãos. No presente trabalho, C. neoformans foi isolado de escarro, sangue e conteúdo de gânglio cervical provenientes de pacientes aidéticos.

Após preparação foram realizados exames diretos "à fresco" e corados pelos métodos de GRAM e GIEMSA dos materiais biológicos citados. No escarro verificou-se a presença de leveduras e no conteúdo de gânglio cervical nada foi observado.

O escarro foi semeado em Ágar Sabouraud-dextrose, Ágar B.H.I. a crescido de 200 mg/l de cloranfenicol e Ágar Niger, incubados a 37°C. A hemocultura foi realizada no meio de Negróni, incubada a 37°C e o conteúdo de gânglio cervical foi semeado em meio sólido e líquido de Sabouraud-dextrose e BHI, ambos adicionados de 200 mg/l de cloranfenicol, incubados a 25 a 37°C, respectivamente.

Após o isolamento, as colônias foram identificadas, segundo Kriger van Rij, 1984.

Determinação das variedades de C. neoformans através de tipificação bioquímica. Estudo de amostras isoladas em nosso meio\*

CELINA, H. ITO; CLAUDETE, R. PAULA; BENEDITO CORRÉA; WALDEREZ GAMBALE & ADHEMAR PURCHIO - Depto. de Microbiologia/Instituto de Ciências Biomédicas/USP.

Criptococose é causada por um basidiomiceto, **C. neoformans**, **F. neoformans**, que apresenta duas variedades: **C. neoformans** var. **neoformans** (sorogrupo A/D) e **C. neoformans** var. **gattii** (sorogrupo B/C). A literatura cita diferenças morfológicas, sorológicas, epidemiológicas, patológicas e metabólicas entre essas variedades. Com o intuito de se conhecer a prevalência destas variedades, sorogrupos, em nosso meio, tipificou-se bioquimicamente quarenta e cinco amostras isoladas de casos de criptococose, e de pacientes não aidéticos, através de seu comportamento nos meios seletivos G.C.P. (glicina, cicloheximida e vermelho de fenol); A.G.B. (arginina, glicina e azul de bromotimol) e C.G.B. (canavanina, glicina e azul de bromotimol) e através da utilização da D-prolina, como fonte de nitrogênio. Pela análise geral dos resultados obtidos concluiu-se que 26 amostras (57,77%) pertenciam ao sorogrupo A/D (**C. neoformans** var. **neoformans**); 17 amostras (37,77%) ao sorogrupo B/C (**C. neoformans** var. **gattii**) e 2 amostras (4,44%) não foram sorogrupadas pelos testes empregados. Os dados obtidos são concordantes com os da literatura mundial que assinala frequência significativa de **C. neoformans** var. **gattii** em regiões tropicais e subtropicais e em pacientes não aidéticos.

\* Auxílio FAPESP

## INFECÇÕES FÚNGICAS SIMULTÂNEAS EM PACIENTE TRANSPLANTADO RENAL.

C.M.L.Maffei\*; T.S.Mazzocato\*; E.Simão-Trad\*\*; A.M.Uthida-Tanaka\*\*,  
L.M.Pagnano\*\*; A.M.F.Roselino-Ribeiro\*\*.

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP \* Microbiologia ;  
\*\* Dermatologia.

A exemplo dos pacientes aidéticos, os transplantados renais em uso permanente e necessário de drogas imunossupressoras são frequentemente acometidos por infecções oportunistas, na maioria das vezes de evolução rápida e mal prognóstico. A imunodeficiência celular aumenta a susceptibilidade a infecções fúngicas, estas de etiologia diversificada e quadro clínicos atípicos. O presente trabalho relata um caso de paciente de 36 anos, masculino, branco com alotransplante renal há 6 anos e meio que apresentou simultaneamente lesões hipocrômicas com descamação fina em tronco, lesão ulcerada atingindo plano muscular em braço direito próximo a axila e lesão vegetante na perna direita, sem comprometimento sistêmico. Foi realizada pesquisa de fungos em tais lesões pelo exame micológico direto, histopatológico e cultura em Ágar-Sabouraud - Dextrose a 25°C. Da lesão hipocrômica de tronco foi realizado apenas o exame micológico direto que revelou Malassezia furfur. Da lesão ulcerada de braço D foi observado no exame direto, levedura capsulada; no histopatológico, leveduras coradas pelo método de Mucicarmin e pela cultura e inoculação intracerebral em camundongo, identificado Cryptococcus neoformans. Da lesão vegetante em perna D, foi observado no exame micológico direto e histopatológico, presença de hifas septadas dematiáceas e na cultura, isolado e identificado Aureobasidium pullulans. Discute-se a frequência da forma clínica de Criptococose, a associação de infecções fúngicas e a resposta ao tratamento terapêutico que não evidenciou boa atuação sobre o fungo dematiáceo.

Método fluorescente para o estudo da viabilidade de Cryptococcus neoformans em amostras de líquido

B. CORRÉA; A. PURCHIO; C.R. PAULA; W. GAMBALE & N.O. CHACON-RECHE  
Depto. de Microbiologia do ICB/USP

Padronizou-se o método de fluorescência (solução de diacetato de fluoresceína e brometo de etídio) para análise de viabilidade de células fúngicas, em 40 amostras de líquido, provenientes de casos comprovados de neurocriptococose. A utilização de solução aquosa de saponina eliminou fluorescências interferentes emitidas por leucócitos e hemácias. Após o processamento adequado das amostras de líquido, foram retiradas alíquotas de 0,1 ml das suspensões obtidas e misturadas a volumes iguais da solução DF-BE preparada pouco antes do uso. O tempo de contacto ideal entre as células e os corantes foi de 30 minutos, resultando perfeita diferenciação entre microrganismos viáveis (fluorescência verde) e não viáveis (fluorescência vermelha).

Morfogênese de Sporothrix schenckii "in vivo" e "in vitro" através do método de viabilidade pela fluorescência

B. CORRÊA; W. GAMBALE; C.R. PAULA; S. PALAZZO

Depto. de Microbiologia do ICB/USP

A utilização do método de fluorescência (solução de diacetato de fluoresceína-DF e brometo de etídio-BE) para o estudo da viabilidade de alguns fungos em meios de cultivo e em materiais clínicos já foi estabelecida apresentando-se a seguir os resultados obtidos no estudo da variação da fase miceliana à leveduriforme "in vivo" e "in vitro". Observou-se injetando suspensão do fungo (fase filamentosa) em testículos de ratos, a presença de conídios nos tecidos dos animais após 48 horas de inoculação e, a partir desse período, houve conversão dos conídios em estruturas arredondadas e ovaladas com brotamento único as quais deram origem às formas alongadas (naveta). Entretanto, estudos efetuados "in vitro", utilizando meio de Mueller-Hinton modificado mostraram, inicialmente, conídios ovalados que se convertiram, a partir de 24 horas, em leveduras arredondadas e ovaladas que por brotamento único ou por multibrotamento originaram a forma em naveta. Por outro lado, obteve-se a formação de leveduras por brotamento direto da hifa na sua parte terminal e através de estruturas semelhantes a clamidoconídeos precursores das formas alongadas (naveta).

"DETERMINAÇÃO DE INTERLEUCINA-1 E FATOR DE NECROSE TUMORAL EM CULTURA DE MACRÓFAGOS PERITONEAIS DE CAMUNDONGOS INFECTADOS COM SPOROTHRIX SCHENCKII".

CARLOS, I.Z.; \*CARDOSO, D.B.S.; \*ANGLUSTER, J.; \*ALVIANO, C.S. &  
\*\*SILVA, C.L.

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara-UNESP, \*Instituto de Microbiologia-UFRJ, \*\*Faculdade de Medicina Ribeirão Preto-USP.

Os mecanismos imunes envolvidos na prevenção e controle da esporotricose não são completamente compreendidas, mas aparentemente incluem ambas respostas humorale celular. As citocinas são mediadores liberados por macrófagos ou monócitos, essenciais na comunicação inter-celular em processos fisiológicos e patofisiológicos; destacando-se entre elas a interleucina-1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral ou caquexina (TNF). A esporotricose foi induzida em camundongos Swiss, inoculando-se  $10^6$  células leveduriformes de S.schenckii por via intravenosa. Foram realizadas culturas de macrófagos peritoneais dos animais infectados durante um período de 10 semanas e de animais normais. As culturas foram estimuladas ou não com lipopolissacarídeo. A presença de IL-1 e TNF foi pesquisada nos sobrenadantes das culturas. A IL-1 foi avaliada, medindo-se a capacidade de induzir a proliferação em culturas de tímócitos de camundongos isogênicos C3H/H e J, através da incorporação de timidina tritiada, e o TNF pela propriedade que apresenta de lisar células tumorais de camundongos da linhagem L929. Os resultados mostraram uma diminuição na produção destas 2 citocinas entre a 4ª e 6ª semana de infecção, podendo refletir uma depressão na resposta imune celular e conseqüente agravante da doença, pois também foi neste período que observou-se maior taxa de mortalidade nos animais infectados com S.schenckii.

Financiado pela FAPESP e CNPq

CROMOMICOSE E PARACOCCIDIOIDOMICOSE: - DESCRIÇÃO DO PRIMEIRO CASO DE INFECÇÃO CONCOMITANTE DIAGNOSTICADO EM RIBEIRÃO PRETO - SP.

C.M.L.Maffei\*; T.S.Mazzocato\*; A.M.F.Roselino-Ribeiro, L. O. Yoshikai\*\*; E.Simão-Trad\*\*; P.M.Pagnano\*\*.

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP \* Microbiologia ,  
\*\* Dermatologia.

A dermatite verrucosa cromoparasitária (cromomicose) é uma infecção crônica de subcutâneo causada por fungos dematiáceos, sendo que no Brasil o predomínio é de Fonsecaea pedrosoi, acometendo trabalhadores rurais de áreas tropicais. Monteiro-Gei (comunicação verbal, 1989) tem relatado associação de tal processo com outros tipos de infecção fúngicas em Costa Rica, mas a bibliografia nacional é escassa a esse respeito. O presente trabalho visa por tanto apresentar o 1º caso observado em Ribeirão Preto de Cromomicose e Paracoccidioidomicose (forma cutânea - pulmonar). Paciente, sexo masculino, branco, procedente de Serrana (SP), com história de lesões verrucosa-vegetante em perna direita há 9 anos. O diagnóstico etiológico foi firmado laboratorialmente por exame micológico direto e cultura em Agar-Sabouraud-Dextrose a 25°C que evidenciou Fonsecaea pedrosoi. Iniciou tratamento com iodeto de potássio e hidrazida com melhora. Há 6 meses apresentou lesão ulcerada em face e posteriormente tosse, dispnéia e dor torácica. Raio X torax revelou área de condensação pulmonar e a biópsia da lesão em face revelou Paracoccidioides brasiliensis pela coloração com HE. Foram feitas culturas em Agar Sabouraud-Dextrose e meio de Fava Neto a 25°C e 37°C, com isolamento de fungo dimórfico com características macro e microscópica típica de P. brasiliensis. CIE para paracoccidioidomicose: título 1/512. Foi iniciado tratamento com ketoconazol com melhora clínica de ambas infecções fúngica, no entanto o exame micológico das lesões de Cromomicose permanecem até o momento positivo .

UTILIZAÇÃO DO EUCALIPTO (Eucalyptus sp) COMO MÉTODO SELETIVO PARA O ISOLAMENTO DE Fonsecaea pedrosoi.

T.I.E.SVIDZINSKI; R.FRESSATTI; F.HERRERO & T.C.R.M. de OLIVEIRA.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ.  
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS.

A cromomicose é uma infecção fúngica tendo como agente mais comum Fonsecaea pedrosoi. Acomete tecidos subcutâneos e cutâneos, apresenta evolução crônica e progressiva, incidindo principalmente em trabalhadores da área rural. Localiza-se mais frequentemente nas extremidades (membros inferiores e superiores) incapacitando estes indivíduos para o trabalho. No diagnóstico laboratorial, além da pesquisa direta do agente, é indicada a cultura e posterior identificação do fungo. Esta porém é dificultada pelo fato das lesões apresentarem-se frequentemente multi-infectadas com microrganismo de associação, estes normalmente crescem rapidamente inviabilizando o desenvolvimento do referido agente que em meios convencionais é de crescimento lento. O presente trabalho propõe o estudo do comportamento de alguns destes contaminantes (Candida sp Staphylococcus aureus e Aspergillus sp) associados a cepas de F. pedrosoi quando cultivados em casca de eucalipto e incubada a 25°C. S. aureus e Candida sp não apresentaram crescimento, Aspergillus sp cresceu discretamente sem formar colônias delimitadas enquanto que F. pedrosoi desenvolveu de forma característica. Em função da dificuldade de desenvolvimento dos contaminantes, perfeito desenvolvimento de F. pedrosoi em casca de eucalipto, conclui-se que materiais com suspeita de cromomicose devem ser pesquisados através da metodologia convencional e paralelamente em cultivo na casca de eucalipto para maior segurança de diagnóstico.

ESTUDO DA ESPECIFICIDADE DOS EXO-ANTÍGENOS PRODUZIDOS  
A PARTIR DE ALGUNS FUNGOS.

T.I.E.SVIDZINSKI, R.FRESSATTI, T.G.V.SILVEIRA, S.M.A.  
ARISTIDES & F.HERRERO.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ.  
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS.

O objetivo deste trabalho foi verificar a especificidade dos exo-antígenos obtidos de Paracoccidioides brasiliensis, Histoplasma capsulatum, Sporothrix schenckii, Fonsecaea pedrosoi e Aspergillus sp. A partir de cada solução antigênica imunizou-se coelhos obtendo desta forma respectivos antisoros, com os quais realizou-se reação de Imunodifusão Radial de Mancini. Cada soro foi incorporado a gelose em placas individuais, após solidificação foram feitos orifícios que receberam cada um dos cinco antígenos puros e diluídos 1:2, 1:4 e 1:8. Depois de serem incubados a 35°C por 48 horas, mostraram nítidos halos de precipitação apenas os orifícios onde coincidia o respectivo antígeno, em todos os demais orifícios nenhuma reação pode ser observada. Os resultados acima comprovam a especificidade dos exo-antígenos.

OBTENÇÃO E DETERMINAÇÃO QUÍMICA PARCIAL DE ANTÍGENOS DE CELULAS LEVEDURIFORMES DE PARACOCIDIOIDES BRASILIENSIS

M.A. RESENDE, M.L. SCROFERNEKER, T.F. BARROS, J.S. HAMDAN, J.R.P. MARTINS, R.S. SOARES, A. STEIGLISH-SOTO, M. AMPERSSAM & C. FAVA NETTO

Deptº de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG e Deptº de Microbiologia do Instituto de Biociências da UFRGS

Foram obtidos antígenos lisados e metabólicos de células leveduriformes de 5 amostras de Paracoccidioi- des brasiliensis. Os antígenos lisados foram preparados segundo técnica de Lacaz et alii (1962) enquanto que os metabólicos foram obtidos após cultivo do fungo em meio líquido a 30°C, durante 4 semanas. Adicionou-se mertiolate a 1:5000 e a cultura foi filtrada em papel Whatman. O filtrado obtido foi dializado contra água destilada e concentrado cerca de 100 vezes por pervaporação ventilatória. Após a liofilização dos antígenos os lípides foram extraídos com clorofórmio-metanol e purificados com KCl. Foram então determinados os valores de lípides totais, fosfolípides (técnica de Chen, Toribara & Werner, 1956), esteróis totais (More & Bauman, 1952), proteínas (Lowry et alii, 1951) e carboidratos pelo método de antrona (Morris, 1948). Os antígenos lisados apresentaram sempre teores mais elevados de todas as substâncias dosadas. Nos antígenos metabólicos a concentração de lípides totais variou de 466 a 266 mg/mL enquanto que o teor de proteínas ficou entre 235 a 170 mg/mL. Os carboidratos são compostos basicamente de hexoses em todos os antígenos e as concentrações dessas substâncias oscilaram entre 320 a 245 mg/mL nos antígenos metabólicos.

ANÁLISE IMUNOQUÍMICA DE ANTÍGENO POLISSACARÍDEO DE PARACOCCIDIÓIDES BRASILIENSIS.

MENDES-GIANNINI, M.J.S.; TOSCANO, E.; DEL NEGRO, G.B.; GARCIA, N. M., LIRIO, V.A. & ASSIS, C.M.

Faculdade de Ciências Farmacêuticas-UNESP, 14800 - Araraquara; LIM-53-HC; Faculdade de Medicina-USP; Instituto Med.Trop. São Paulo; Instituto Adolfo Lutz.

Antígeno polissacarídico tem sido utilizado em intradermo-reações e no teste de fixação do complemento. Neste trabalho, este antígeno foi avaliado por SDS-PAGE e imunoblot. Nove diferentes cepas de P.brasiliensis foram individualmente cultivadas a 35° C por 20 dias em meio de proteose-peptona e o antígeno preparado de acordo com a técnica de Fava Netto. Após o fracionamento dos antígenos foi observado um total de 15 bandas variando de 90 a 16 KD nos extratos das cepas 265,339, SN e 113. Antígenos de 48 e 32 K estavam presentes em todas as cepas, exceto no extrato Adel e 192. Banda de 110 e 86 KD foi observado em alguns extratos quando os géis foram corados por PAS. O padrão geral de imunoblot do extrato SN mostrou 1 a 5 bandas reativas com peso molecular variando de 16 a 86 KD. Anticorpos para os componentes de 30 e 86 KD estavam presentes na maioria dos soros de pacientes. Assim parece ser relevante a fração de 86 KD por aparecer em todos os extratos e ser uma glicoproteína reconhecida pela maioria dos soros.

ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DA GLICOPROTEÍNA DE 43 K NO SORO DE  
PACIENTES COM PARACOCCTIDIOIDOMICOSE

MENDES-GIANNINI, M.J.S.; SHIKANAI-YASUDA, M.A.; FERREIRA, A.W. &  
MASUDA, A.

Faculdade de Ciências Farmacêuticas-UNESP, Araraquara; Hospital  
das Clínicas da FMSP; Instituto Med. Tropical São Paulo.

A glicoproteína de 43 K, presente em filtrados de cultura de P.brasiliensis é reconhecida por todos os soros de pacientes tanto da fase aguda (juvenil) ou crônica (adulta) e a queda no título deste anticorpo correlaciona-se com melhora clínica. Foi estudada a presença deste antígeno no soro de pacientes para verificar se é liberada do fungo em doença ativa. O antígeno foi isolado do soro de pacientes por cromatografia de afinidade empregando soro de coelho anti fração 43 K. Os eluatos foram avaliados por SDS-PAGE e imunoblot. Com gel corado pela prata, verificou-se a presença de 5 bandas incluindo o antígeno de 43 K. O imunoblot desta preparação mostrou que esta fração foi reconhecida especificamente quando se utilizou soro de coelho anti fração 43 K ou soro de pacientes. Este antígeno estava presente no soro de pacientes clinicamente ativos tanto com a forma aguda (juvenil) ou crônica (adulta). Depois de 10 meses de tratamento, o antígeno foi ainda detectado, sendo negativo em soros de pacientes com 2 anos de tratamento, ou em pacientes considerados curados e em soros normais. A presença da proteína de 43 K nestes pacientes pode ser um importante fator na modulação da resposta imune de pacientes.

STUDY OF THE ACTIVITY OF HUMAN EFFECTOR CELLS ON THE  
IN VITRO GROWTH OF P. BRASILIENSIS

Sugizaki, M.F.; Peraçoli, M.T.S.; Mendes, R.P.; Marques, S.A.; Iwasso, M.T.R.

Instituto de Biociências e Faculdade de Medicina, Botucatu, UNESP, São Paulo

The ability of blood non-adherent mononuclear cell (effector cells) in limiting the in vitro growth of Paracoccidioides brasiliensis was investigated in 8 patients with paracoccidioidomycosis and 30 healthy volunteers selected according to their positive or negative skin reaction to paracoccidioidin. After incubation with or without effector cells for 18 h at 37°C, the viability of P. brasiliensis was determined by production of germ tubes in a slide culture after incubation at 25°C, for 48 h. This technique has the advantage of being easy to perform and is accomplished in less time than that required for the colony-forming unit method. Healthy positive paracoccidioidin reactors presented the same levels of P. brasiliensis growth inhibition as those of negative skin testing individuals suggesting that the effect is not dependent on previous sensitization. On the other hand the growth-inhibiting ability of effector cells from paracoccidioidomycosis patients was significantly lower than that of controls. Based on these findings, one may speculate that effector cells may play a role in limiting the growth of P. brasiliensis in vivo, and that their reduced activity may facilitate the development of the disease.

## EPIDEMIOLOGIA DA PARACOCCIDIOIDOMICOSE \*

M.H.H. Forjaz, O. Fischman, M.C.A. Meireles, R.C. Candido, T.M.J. Silva, M.T.F. Carvalho.

Escola Paulista de Medicina, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Disciplina de Micologia, São Paulo, Brasil

O traçado do perfil migratório residencial - profissional de 130 pacientes com Paracoccidioidomicose, diagnosticados em São Paulo (Brasil), de 1984 a 1988, permitiu a demarcação de 14 "reservareas" brasileiras nas regiões Norte -2; Nordeste -3; Sudeste -9, com clima predominantemente tropical.

A maior parte dos pacientes (80,8%) tinha exercido atividades rurais, enquanto somente 18,5% deles trabalhavam em lavoura na época de manifestação dos sintomas. Tabagismo e etilismo foram fatores importantes no desencadeamento ou na recidiva da micose.

O diagnóstico foi realizado por exame microscópico de escarro, após digestão e enriquecimento com KOH + tinta Parker, permanente 2:1. Materiais de lesão tegumentar e biópsia foram examinados. A IDD quantitativa revelou ser excelente técnica para acompanhamento clínico.

\* Parte da Tese de M.H.H. Forjaz "Estudo da Epidemiologia da Paracoccidioidomicose. Rastreamento de áreas endêmicas e de "reservareas" no Brasil, através do traçado do perfil migratório-residencial-profissional, de pacientes diagnosticados em São Paulo" para obtenção do grau de Doutor em Microbiologia e Imunologia 1989. Trabalho realizado, em parte, com o auxílio financeiro do CNPq e FINEP.

TESTES INTRADÉRMICOS COM HEMILEIA VASTATRIX EM ASMÁTICOS.

Gambale, W.\*; PASQUALI JR., E.\*\*; CROCE, J.\*\*\*; PAULA, C.R.\*;

Correa, B.\* & SOUZA, E.M.\* - \*ICBUSP- \*\*Médico alergista, RP, SP.

\*\*\*FMUSP.

Hemileia vastatrix, fungo da subdivisão Basidiomycotina, ordem Uredinales (ferrugens) é parasita ecológicamente obrigatório inexistindo sem seu hospedeiro. No Brasil, parasita extensivamente folhas de Coffea arabica (café) sendo importante do ponto de vista econômico. Por essa razão, estudos têm sido conduzidos visando seu controle e conhecimento específico. A nível mundial, vários trabalhos têm tentado relacionar representantes de Basidiomycotina com alergias respiratórias, mas nada se sabe a respeito de Hemileia vastatrix. Baseado nessa premissa, preparou-se alérgeno desse fungo, por extração a 5% com líquido de COCA e submeteu-se, em estudo preliminar, 36 indivíduos com asma brônquica, oriundos de zona cafeeira (Ribeirão Preto, SP) a testes intradérmicos. Desses indivíduos, 13 (36%) tiveram reação positiva, sendo que 10 mostraram intensidade de reação 1+ ou 2+, e 3 fortemente positivos, 3+ ou 4+. Esses resultados preliminares indicam que Hemileia vastatrix pode estar relacionado com casos de asma brônquica em zonas cafeeiras e que pesquisas devem ser realizadas nesse sentido.

**Microbiota fúngica em alimentos envolvidos com quadro de leucoencefalomalácia equina (LEME), ocorridas no ano de 1988**

M.C.A. MEIRELES<sup>1</sup>; B. CORRÊA<sup>1</sup>; A. PURCHIO<sup>1</sup>; O. FISCHMAN<sup>2</sup>; W. GAMBARELE<sup>1</sup> & C.R. PAULA<sup>1</sup>

1- Depto. de Microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas-USP;

2- Escola Paulista de Medicina

Foi analisada a microbiota fúngica de alimentos (milho integro, milho moído, milho moído com palha e sabugo, milho misturado com sorgo e aveia), consumidos por equídeos mortos em consequência de cinco (5) surtos de Leucoencefalomalácia equina (LEME) no ano de 1988, nos estados do Rio Grande do Sul e Minas Gerais. Os animais vitimados por essa micotoxicose apresentavam manifestações à nível de SNC com degenerações na substância branca de um ou ambos os hemisférios cerebrais consequência de necrose liquefativa. Os resultados das análises microbiológicas mostraram uma população fúngica constituída, principalmente, por *Fusarium moniliforme*, presente em 100% das amostras analisadas, seguido dos gêneros *Rhizopus* sp (66,0%), *Aspergillus* sp (55,5%) e *Penicillium* sp (44,4%). Os mesmos resultados, quando considerados em termos de UFC, demonstraram que o *F. moniliforme* foi o fungo mais prevalente ( $6,32 \times 10^4$  UFC), seguido de *Penicillium* sp ( $4,7 \times 10^4$  UFC) e *Aspergillus* sp ( $7,5 \times 10^3$  UFC).

Estudos micotoxicológicos das amostras de alimentos envolvidas com o surto e produção "in vitro" de micotoxinas por *F. moniliforme*, encontram-se em andamento.

\* Auxílio FAPESP

\* Auxílio CAPES

*Candida Albicans* Sorotipos A e B) em linhagens celulares estabelecidas de rim de coelho. Alterações celulares e morfologia fúngica.

CLAUDETE R. PAULA; MARIA JOSÉ O. ANGELO; EDSON M. BONIFACIO-SOUZA; VIVIANE F. BOTOSSO; BENEDITO CORRÊA; WALDEREZ GAMBALE - Deptº de Microbiologia - Instituto de Ciências Biomédicas/USP.

Culturas celulares tem se mostrado adequadas ao estudo dos mecanismos de virulência de fungos e das alterações morfológicas celulares produzidas pelos mesmos. Suspensões padrões de *C. albicans* A e B e células de rim de coelho foram cultivadas em meio de Eagle com soro fetal bovino, examinadas após períodos variáveis de incubação e coloração com H.E. As culturas incubadas com o sorotipo A apresentaram grande número de sincícios, revelando o fungo, após 72 hs, pouca afinidade pelo corante, pseudomicélios bem desenvolvidos e, às vezes, halo claro, lembrando cápsula. Com relação ao sorotipo B observou-se maior número de sincícios e morfologia semelhante ao sorotipo A. Discute-se a possível penetração dos sorotipos A e B nas células após 48 hs e 72-96 hs, respectivamente.

Etiologia e frequência da mastite caprina no Estado do Rio de Janeiro.

M.V. Castro, C.H. Langenegger e J. Langenegger

EMBRAPA, Unidade de Pesquisa em Saúde Animal, Rio de Janeiro.

23.851 SEROPÉDICA, RJ. Tel.: 782-1109.

A medida que se intensifica a caprinocultura de leite na região Sudeste do Brasil, surgem também os problemas decorrentes da mastite, tanto pelo lado econômico reduzindo a produção e depreciando a qualidade do leite, quando pelo aspecto de saúde pública pois germes patogênicos e substâncias antimicrobianas nocivas podem ser veiculadas pelo leite mastítico.

Em 7 capris localizados nos arredores da cidade do Rio de Janeiro e na região serrana, no município de Petrópolis, foram examinadas 231 cabras em lactação, observando os seguintes procedimentos: a) inspeção e palpação das glândulas mamárias; b) teste do CMT (California Mastitis Test) ao pé da cabra e teste do AMP (Aulendorf Mastitis Probe) em laboratório; c) colheita o mais assepticamente possível de amostra de leite de cada metade do úbere; d) plaqueamento, após enriquecimento no próprio leite, em agar sangue; e) isolamento e identificação dos agentes etiológico. Foram reconhecidas 46 (9,9%) mastites clínicas e 221 (47,9%) metades de úbere com mastites subclínicas diagnosticadas pelo CMT. O exame bacteriológico permitiu o isolamento, em 225 (48,4%) metades de úbere, dos seguintes agentes etiológicos e nos percentuais: Staphylococcus aureus 12,0%; Staphylococcus epidermidis 30,6%; outros Staphylococcus sp. coagulase negativa 39,4%; Streptococcus sp. 3,8%; Pseudomonas sp. 9,8%; Actinomyces pyogenes 2,2%; Corynebacterium bovis 1,6%; Pasteurella multocida 0,5%.

Tanto o CMT no campo quanto o AMP realizado a nível de laboratório revelaram-se úteis como indicadores da situação da mastite nos capris. A alta prevalência de infecções por Staphylococcus sp coagulase negativa deverá merecer atenção especial no prosseguimento da presente pesquisa.

*Staphylococcus aureus*. ESTUDOS PRELIMINARES SOBRE PORTADORES  
HUMANO E ANIMAL

M.L.C. de ARAÚJO; G. GENARO & J.L. ANDRIOLI

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal-UNESP

Foram utilizados no presente trabalho, 24 animais bovinos, fêmeas aparentemente sadias em fase de lactação e dois indivíduos responsáveis pelo manejo destes animais. As amostras de origem animal foram obtidas de dois nichos diferentes (Fossas nasais e úbere) bem como as isoladas dos manipuladores (mãos e unhas). O isolamento foi realizado em ágar Ni (ágar hipercloretado gema de ovo) procedendo-se a seguir as provas de patogenicidade (plasmacoagulase e DNase) comportamento frente a antibióticos de uso corrente e fagotipagem com os conjuntos Básicos Internacionais para amostras de origens humana e bovina. Os indivíduos analisados apresentaram 100% de colonização por *S. aureus* nas mãos e unhas. Para os animais, cerca de 58% apresentavam-se colonizados no úbere. Resultados, frente ao antibiograma mostrou elevada resistência à Penicilina e Estreptomina. O fagotipo mais frequente para amostras humanas e bovinas foi o 42E/102/107, pertencente aos conjuntos humano e bovino.

TÍTULO: FAGOTIPAGEM DE Staphylococcus aureus, ISOLADO DO LEITE DE VACAS COM MASTITE.

AUTORES: M.A. QUETROZ DE FREITAS & H.MAGALHÃES

INSTITUIÇÃO: PESAGRO-RIO - LABORATÓRIO DE BIOLOGIA ANIMAL

O Staphylococcus aureus é um dos mais frequentes causadores de mastite em vacas leiteiras com uma incidência muito elevada em nosso meio, devido ao uso indiscriminado de antibacterianos no tratamento. A colonização do estafilococo no úbere bovino deveria supostamente ser de origem bovina, entretanto fagos de origem humana são suscetíveis às cepas bovinas. O objetivo foi verificar os principais fagotipos de S.aureus isolados do leite de vacas com mastite subclínica, permitindo identificar a fonte de infecção, fator importante no equacionamento de medidas profiláticas. A tipagem fágica foi efetuada em 112 cepas de S.aureus isoladas do leite de vacas oriundo de 50 rebanhos leiteiros. Na fagotipagem foram utilizadas os conjuntos básicos internacionais de origem humana e bovina. Das cepas testadas, 7 não reagiram aos fagos desses conjuntos. Do conjunto humano, 20,7% foram lisados pelo fago 81 e 10,7% pelo fago 54. Do conjunto bovino, 18,75% foram lisados pelos fagos 102/107 e 25,89% pelos fagos 102/107/117. O fago 42E, comum aos dois conjuntos lisou 39,28% das cepas. As cepas de S.aureus apresentaram uma alta variabilidade quanto aos fagotipos encontrados, sensíveis a um elevado número de fagos com relação aos conjuntos humanos e bovino.

TÍTULO: PESQUISA DE ENTEROTOXINA EM CEPAS DE Staphylococcus aureus ISOLADAS DE VACAS COM MASTITE.

AUTORES: M.A. QUEIROZ DE FREITAS & H. MAGALHÃES

INSTITUIÇÃO: PESAGRO-RIO - LABORATÓRIO DE BIOLOGIA ANIMAL

A prevalência da mastite subclínica foi de 48%, através da reação leucocitária pela prova do "California Mastitis Test" em 2317 vacas em lactação de 86 produtores estratificados entre as linhas de leite que abastecem duas cooperativas agropecuárias de uma bacia leiteira no Estado do Rio de Janeiro. Do total de 2725 lactoculturas, provenientes de 692 vacas, 1026 (37,65%) apresentaram exame bacteriológico positivo. O Staphylococcus aureus foi o agente mais encontrado, sendo isolado de 229 (41,94%) amostras de leite em todos os rebanhos trabalhados. A possibilidade de contaminação de produtos de origem láctea, por estafilococos e sua enterotoxina induziu a pesquisa da mesma em algumas amostras desse agente. Em 93 cepas de S.aureus analisadas apenas uma produziu enterotoxina biotipo A, considerada a de maior ocorrência nas intoxicações alimentares, sendo encontrada em 75% dos surtos. Mesmo tendo sido baixo o número de cepas enterotoxigênicas, acredita-se que sejam necessários cuidados com o rebanho leiteiro, evitando-se misturar o leite de fêmeas infectadas aos de animais sadios. Tal procedimento constitui uma ameaça à saúde humana, uma vez que o S.aureus é evidenciado em índice elevado na maioria dos rebanhos.

TÍTULO: MENINGOENCEFALITES BACTERIANAS EM BEZERROS

AUTORES: J. ANDRADE DOS SANTOS; M.A. QUEIROZ DE FREITAS; H. MAGALHÃES; M.I. MUNIZ MEDEIROS; C.H. CAMPELLO COSTA & E. WALLY VOLLJ.

INSTITUIÇÃO: PESAGRO-RIO - LABORATÓRIO DE BIOLOGIA ANIMAL

A mortalidade de bezerros por salmonelose e colibacilose em duas bacias leiteiras do Estado do Rio de Janeiro num período de dez anos (643 animais necropsiados) foi de 15,55% (159 casos) e 8,24% (53 casos), respectivamente. Os surtos de salmonelose e colibacilose manifestaram-se por distúrbios pneumoentéricos e septicêmicos, atingindo principalmente bezerros nos primeiros 30 dias de vida. Desses animais foram observados processos inflamatórios do sistema nervoso central, causados por Salmonella sp. (2,51%) e E.coli (1,88%). Os animais apresentavam sintomatologia nervosa antes da morte. Fragmentos de diferentes órgãos e cérebro foram processados por exames bacteriológicos e histopatológicos. A S.dublin foi isolada de 3 animais com meningoencefalite e a S.typhimurium de outro animal com meningite. A meningite também foi evidenciada em um animal do qual se isolou E.coli, so rotino O119. Os autores, com base em estudos bacterioscópicos, culturais, bioquímicos, sorológicos e histopatológicos, diagnosticaram, em bovinos, leptomeningite e meningoencefalite, acreditando ser um dos primeiros trabalhos registrados na literatura a comprovar as lesões nervosas e o isolamento das bactérias.

ESTUDO DE ELEMENTOS GENÉTICOS EXTRACROMOSSÔMICOS DE ESCHERICHIA  
COLI AMOSTRA A14 ISOLADA DE BEZERRO ZEBU COM DIARRÉIA

F.A.Ávila<sup>1</sup>; R.P.Schocken-Iturrino<sup>1</sup>; R.Laller<sup>2</sup>; J.L.Quintana<sup>1</sup>; P.E.  
G.Albertini<sup>1</sup>

1-Deptº de Microbiologia da FCAVJ-UNESP "Campus" de Jaboticabal ,  
Brasil; 2-GREMIP-Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de  
Montréal, Québec, J257C6, Canadá

Uma amostra de Escherichia coli, denominada A14, isolada de be-  
zerro zebu com diarréia mostrou habilidade para aglutinar hemácias  
de carneiro, cavalo e suíno, quando submetida ao Teste de hemaglu-  
tinação manose resistente HAMR. A amostra mostrou resultados nega-  
tivos quando testada pela aglutinação e imunofluorescência com an-  
tisoro F5, F41 e F165. A produção do antígeno fimbrial A14, medida  
pelo teste HAMR foi mais alta no meio CYE, a 37°C, que no meio de  
Minca. Não ocorreu hemaglutinação quando a amostra foi cultivada a  
16°C. O teste para a presença de plasmídeo pela eletroforese em  
gel de agarose deu resultado negativo. A expressão da hemaglutini-  
na pela E.coli amostra A14 pareceu ser controlada por um mecanismo  
diferente do observado com os antígenos F5 e F165. Estudos  
estão agora sendo realizados para determinar se a fimbria A14 é um  
importante fator de virulência de E.coli isolada de zebu com diar-  
réia.

CURA PLASMIDIAL DE *Escherichia coli* AVIÁRIAU.D.S.Covissi<sup>1</sup>; G.S.C.T.C.Lima<sup>1</sup>& M.C.Vidotto<sup>2</sup>

E. coli normalmente é encontrada fazendo parte da flora normal intestinal, contudo essas bactérias podem mostrar-se virulentas causando um grande número de casos de gastroenterite, bacteremia, infecção do trato urinário e meningite neonatal em humanos, septicemia e morte em aves. A virulência destas bactérias frequentemente está relacionada com a presença de fatores mediados por plasmídios.

Em amostras de E.coli patogênicas responsáveis por colibacilose aviária da região de Londrina-PR verificou-se a presença de plasmídios de alto peso molecular, sendo que essas cepas apresentam resistência a clorafenicol, tetraciclina, estreptomicina, ampicilina e sulfadiazina, produção de colicina V e aerobactina (VIDOTTO, 1988 - Tese de Doutorado). Com o objetivo de eliminar estes plasmídios para verificar se a virulência é plasmidial, as amostras foram submetidas ao tratamento de cura com alaranjado de acridina, dodecil sulfato de sódio (SDS) e brometo de etídio. Em seguida as amostras foram testadas para resistência a antibióticos, produção de colicina e aerobactina, patogenicidade em pintos de 1 dia e caracterização plasmidial através de eletroforese em gel de agarose para relacionar a ausência de suas características com a perda plasmidial. Dos 3 reagentes utilizados, obteve-se a "cura" apenas com o SDS, sendo que 1 amostra teve cura parcial, mas sem perder a virulência e outra perdeu os 2 plasmídios e todas as características com exceção da produção de aerobactina, faltando ainda checar sua virulência.

1- Estagiário do Depto.de Pat.Geral

2- Docente de Microbiologia - Depto Pat.Geral/UEL-PR.

FAGOCITOSE DE ESCHERICHIA COLI AVIÁRIAS INVASIVAS.

Cristina Pacheco, Marilda Carlos Vidotto e Ionice Felipe

Departamento de Patologia Geral, Universidade Estadual de Londrina.

Em trabalho anterior demonstramos crescimento de E. coli UEL 14 e 17 no interior de macrófagos estimulados por tioglicolato. No presente trabalho, procuramos investigar quais os mecanismos de escape aos agentes microbicidas estariam sendo utilizados por estas cepas. Os macrófagos foram obtidos da cavidade peritoneal de camundongos suíços estimulados por tioglicolato e colocados para aderirem em lamínulas de vidro por 1 hora a 37°. As cepas UEL 14 e UEL 17 portadores de plasmídios e produtores de colicina V e aerobactina, ambos resistentes ao complemento e a tetraciclina, foram cultivadas em LB e ressuspensas em RPMI tamponado com HEPES pH 7.0 na concentração de  $10^7$ /ml. Como controle foi utilizado cepa 711<sup>-</sup>F e UEL 14 fixada em glutaraldeído. O ensaio fagocítico foi de 30 minutos e todas as lamínulas foram muito bem lavadas para remoção das não interiorizadas e algumas amostras foram reinoculadas por 2 e 6 horas em RPMI. Tanto as amostras coradas em Giensa como as coradas em alaranjado de acridina mostraram intensa proliferação de E. coli UEL 14 e 17 no interior de macrófagos após 6 horas de incubação. Nas amostras controles o n° de E. coli permaneceu constante. Comparando-se as curvas de crescimento de UEL 14 e 17 em LB pH 4.0 e 7.0 nota-se que são semelhantes, o que não ocorre com a cepa 711<sup>-</sup>F que não cresce no pH 4.0. Sugerimos que pelo fato destas cepas resistirem ao pH ácido, elas possam sobreviver no interior de fago-lisossoma. Após 8 horas de incubação em LB pH 4.0 ocorre variação de pH para 6.0. Como as enzimas lisossomais atuam num pH ótimo de 3.5 a 4.0, no pH 6.0 estariam inativas, sendo este um possível mecanismo de escape.

Apoio Financeiro: CNPq.

INVESTIGAÇÕES SOBRE A Escherichia coli ENTEROTOXIGÊNICA (ETEC) EM CALITRIQUÍDEOS (PRIMATES, CALITRICHIDAE).

Alexandro C. T. Carvalho\*, Eduardo O. Cisalpino\*, Antônio F. Pestana de Castro\*\*, Marlene B. Serafim\*\*, Leôgenes H. Pereira\*\*\*.

Departamentos de Microbiologia\* e Parasitologia\*\*\*, Instituto de Ciências Biológicas/UFMG. Departamento de Microbiologia e Imunologia, Inst. Biologia/UNICAMP.

Durante um período de cinco anos pesquisamos sistematicamente os possíveis patógenos intestinais que poderiam acometer os sagüis das espécies Callithrix penicillata e C. geoffroyi, criados em cativeiro, com ou sem diarreia. Nestes animais isolamos amostras de E. coli associados ou não a alguns enteropatógenos, tais como Campylobacter jejuni, Salmonella sp e rotavírus. Foram isoladas um total de 115 amostras de E. coli de 28 sagüis. Nestas foi pesquisada a capacidade de produzir enterotoxinas LT (teste da imuno hemólise passiva) e STA (teste do camundongo recém-nascido). As amostras 40T, 0149 e K12 foram adotadas como controle de qualidade positivos e negativos, respectivamente. Em nenhuma das amostras de E. coli foi possível detectar as toxinas LT ou Sta. Em crianças com diarreia aguda é sabido a associação de ETEC com outros enteropatógenos intestinais. Em primatas do Velho Mundo com diarreia, foi relatado o isolamento de E. coli (EPEC) dos sorogrupos 055 e 0111. Como os primatas calitriquídeos (sagüis) são utilizados frequentemente na investigação biomédica, e estando sujeitos às infecções intestinais, é importante esclarecer sua eventual susceptibilidade a ETEC. Não tendo sido até o momento descrita a infecção por ETEC em sagüis no Brasil, faz-se necessário a continuação dos experimentos em curso e tentar-se a infecção com cepas sabidamente enterotoxigênicas de origem humana e animal.

Apoio Financeiro FINEP, CNPq, CPq-UFMG e FAPESP.

## ULTRAESTRUTURA DE UM MICRORGANISMO ESPIRALADO DA MUCOSA GÁSTRICA DE SUÍNOS.

S.B. Moura, E.N. Mendes, D.M.M. Queiroz, G.A. Rocha, V.H.R. Leite, M.E.F. Fonseca.

Laboratório de Pesquisa em Bacteriologia/F.M.-UFMG, Centro de Microscopia Eletrônica/F.M.-UFMG e Setor de Microscopia Eletrônica I.M.-UFRJ.

Microrganismos espiralados têm sido encontrados na mucosa gástrica de diversos animais. Em alguns deles (gato, cachorro, macaco), essas bactérias parecem produzir alterações patológicas. Entretanto, há fortes evidências de que o espiralado isolado de estômagos de humanos, o *Campylobacter pylori*, seja o agente etiológico da gastrite do antro e um fator essencial do desencadeamento de úlcera péptica. Neste trabalho são relatados detalhes ultraestruturais de um microrganismo espiralado encontrado na mucosa gástrica de suínos que apresentavam gastrite antral. Um conhecimento mais detalhado do microrganismo pode fornecer subsídios para uma melhor compreensão da gastrite humana causada pelo *C. pylori*. Além disto, como outros microrganismos espiralados, distintos do *C. pylori*, podem ser observados na mucosa gástrica de humanos com gastrite (DENT et al. *Lancet*, 1987, 2:96) e como estes são morfológicamente semelhantes aos de suínos, é razoável deduzir que suínos possam ser fontes de infecção para humanos. À microscopia eletrônica, o microrganismo apresenta 3 a 8 espirais por célula e parede de gram negativo composta de duas camadas eletronicamente densas separadas por outra camada menos densa. O citoplasma contém grânulos pequenos e irregulares, numerosos ribossomos e grânulos maiores formados por um corpúsculo excêntrico e eletronicamente denso e um halo claro. Próximo à região polar, nos locais de inserção dos flagelos, o citoplasma apresenta uma área menos densa, relativamente livre de ribossomos. Foi ainda observado, nas extremidades da bactéria a presença de 3 a 4 flagelos embainhados.

Surto de brucelose causado por Brucella canis

J. Langenegger, C.H. Langenegger e L.C. Porfírio

EMBRAPA, Unidade de Pesquisa em Saúde Animal, Rio de Janeiro - 23,851 SEROPÉDICA, RJ.  
Tel.: 782.1109.

Resumo: A brucelose foi diagnosticada em 7 de 14 cães de canil do Rio de Janeiro. Clinicamente a doença manifestou-se por abortos, sinais de falsa gestação, esterilidade e histologicamente por placentite necrótica purulenta com inúmeras colônias bacterianas no epitélio coriônico.

Brucella canis foi isolada de um feto abortado no terço final da gestação e do sangue de duas cadelas. Do feto foram semeados, em agar de soja tríptica-sangue, o conteúdo estomacal e o triturado do fígado e dos pulmões. Dos cães foi colhido sangue com anticoagulante ETDA e feitas sementeiras diretas em agar de soja tríptica-sangue e após enriquecimento em caldo de soja tríptica. Após 4 dias de incubação a 37° C em estufa bacteriológica convencional, cresceram colônias formadas por coco-bastonetes cujas características morfológicas, tintoriais e bioquímicas se identificaram com as de Brucella canis.

Na falta de culturas de referência de Brucella canis foram preparados antígenos com as culturas isoladas para a soroaglutinação e imunodifusão dupla segundo as técnicas de Widal e Ouchterlony. O antígeno para a soroaglutinação constou de suspensão bacteriana aquecida e ajustada à concentração do tubo 2 da escala de McFarland. Para a prova de imunodifusão foi utilizada o sobrenadante da suspensão bacteriana em água destilada 1:5 e aquecida por 20 a 120° C.

A soroaglutinação dos 14 cães revelou reações positivas nas diluições de 1:320 a 1:2560 em 6 animais e na imunodifusão reagiram 7. Em 6 animais os resultados coincidiram.

INFECÇÃO EXPERIMENTAL EM FRANGOS, COM LARVAS DE MOSCAS  
DESENVOLVIDAS EM CARCAÇA DE AVES COM BOTULISMO

R.P.Schocken-Iturrino; F.A.Ávila; A.Nader F<sup>o</sup>; A.Berchieri J.<sup>r</sup>; A.C. Paulillo; S.C.P. Berchielli

Departamento de Microbiologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Campus de Jaboticabal - UNESP

Objetivou-se pesquisar se larvas de moscas que se desenvolvem nas carcaças de aves com botulismo são capazes, quando ingeridas por frangos de corte, de provocar o botulismo. Quatro grupos com 12 frangos cada, foram submetidos aos seguintes tratamentos: Grupo I: ingestão de larvas de moscas desenvolvidas em carcaças de frangos sadios e sacrificados; Grupo II: ingestão de larvas desenvolvidas em carcaças de frangos mortos pelo botulismo; Grupo III: inoculação de 3 ml de toxina botulínica, do tipo C, via oral; Grupo IV: aves controle recebendo alimentação normal a mesma água e ração fornecida às outras aves. Após os tratamentos ao aparecimento de sintomas característicos de botulismo, retirava-se sangue para detecção de toxina botulínica. Após a morte eram realizadas necrópsias e retirados fígado, os conteúdos de ingluvío, moela e do intestino para detecção de toxina botulínica e do C.botulinum, segundo a metodologia de Smith (1977). Os resultados demonstraram que frangos que ingerem larvas de moscas contaminadas com toxina botulínica contraem a doença. As larvas não são afetadas pela toxina botulínica.

Projeto financiado pelo CNPq.

EFEITO PRÓ-INFLAMATÓRIO DO VÍRUS DA FEBRE AFTOSA (VFA) E MODULAÇÃO  
IMUNE DO PROCESSO NO MODELO DE PLEURISIA EM COBAIAS

H.J.Montassier; G.H.Bechara; M.F.S.Montassier; A.A.Pinto.

Departamento de Microbiologia da Faculdade de Ciências Agrárias e  
Veterinárias Campus de Jaboticabal - UNESP

No presente trabalho, 3 grupos de cobaias, um deles virgem de imunidade e os outros 2 imunizados com vacina oleosa e hidróxi-saponinada contra o subtipo  $O_1$  do VFA foram submetidos ao ensaio de pleurisia, usando-se como agentes indutores o VFA  $O_1$  obtido de carcaça de camundongos lactentes infectados e, como controle, o mesmo material oriundo de camundongos normais. O exsudato pleural foi colhido com 24 e 48 horas após a indução, tendo-se avaliado o número total e diferencial de leucócitos, bem como foram estimados, dos grupos vacinados, o título de anticorpos soroneutralizantes. O processo inflamatório desenvolvido com 24 horas não revelou diferenças significantes entre os grupos ensaiados, exceto um aumento dos mononucleares nos animais virgens de imunidade e nos imunizados com vacina oleosa estimulados pelo VFA; no 1º caso em relação aos demais grupos e, no 2º caso, somente em relação ao seu controle. No intervalo de 48 horas todos os parâmetros analisados continuaram mais elevados nos animais sem imunidade, que receberam VFA, enquanto que nos grupos vacinados houve redução da reação inflamatória induzida pelo vírus. Ademais, a vacina oleosa estimulou um título maior de anticorpos, embora essa variável parece não ter interferido na resposta inflamatória induzida pelo VFA.

SENSIBILIDADE "IN VITRO" DE AMOSTRAS DE **Mycoplasma** E **Acholeplasma**  
DE ORIGEM BOVINA TESTADAS FRENTE A 30 DROGAS ANTIBACTERIANAS.

M.H.T. LIBERAL

E. BOUGHTON

Laboratório de Biologia Animal (LBA) - PESAGRO-RIO - Alameda São  
Boaventura, 770 - 24.123 - Niterói-RJ - Brasil

Central Veterinary Laboratory (CVL) - Ministry of Agriculture,  
Fisheries and Food - New Haw Weybridge - KT15 3NB Surrey - England

Testes de sensibilidade a antibióticos foram realizados "in vi-  
tro" em 10 amostras de **Mycoplasma** e em 8 amostras de **Acholeplasma**,  
isolados de material bovino, utilizando-se discos impregnados com  
prados no comércio. Gentamicina, eritromicina e cloranfenicol se  
mostraram efetivos contra os dois gêneros de **Mycoplasmatales**. To-  
das as amostras de **Mycoplasma** foram resistentes à rifampicina, en-  
quanto todas as amostras de **Acholeplasma** foram sensíveis. Por ou-  
tro lado, todas as amostras de **Acholeplasma** foram resistentes à  
sisomicina, enquanto 10% das amostras de **Mycoplasma** foram sensi-  
veis. Nenhuma das drogas antibacterianas que agem como inibidores  
da síntese da parede celular foi ativa contra os dois gêneros de  
**Mycoplasmatales** estudados. Os resultados obtidos foram utilizados  
para a confecção de um perfil de sensibilidade dos organismos tes-  
tados, visando a uma melhor escolha terapêutica para casos diagnos-  
ticados como infecção por **Mycoplasmatales**.

PADRONIZAÇÃO DE UM TESTE ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)  
PARA SORODIAGNÓSTICO DE INFECÇÕES CAUSADAS POR *Mycoplasma bovis*.

M.H.T. LIBERAL

E. BOUGHTON

Laboratório de Biologia Animal (LBA) - PESAGRO-RIO - Alameda São Boaventura, 770 - 24.123 - Niterói-RJ - Brasil.

Central Veterinary Laboratory (CVL) - Ministry of Agriculture, Fisheries and Food - New Haw Weybridge - KT15 3NB Surrey - England.

Em um teste ELISA indireto, desenvolvido para o sorodiagnóstico de infecções causadas por *M. bovis* foi avaliada a utilidade do uso de albumina bovina (BSA) como agente bloqueador de reações inespecíficas. Dois tipos de microplacas (fabricadas de cloreto de polivinil e de poliestireno) também foram testados para serem usados como carreadores das reações imunológicas. O antígeno de *M. bovis* foi preparado na sua forma integral (apenas lavado) e como antígeno sonificado para ser aderido à microplaca. Os resultados indicaram que o uso de BSA não melhorou a sensibilidade ou especificidade do teste; que o antígeno sonificado de *M. bovis* apresentou resultados mais satisfatórios, e que microplacas fabricadas com cloreto de polivinil se apresentaram superiores em relação àquelas fabricadas de poliestireno no que se refere à quantidade de antígeno, anticorpos e conjugado necessários para a realização da prova imunoenzimática.

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE INFECÇÕES POR *Mycoplasma bovis* UTILIZANDO-SE O TESTE ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay).

M.H.T. LIBERAL

E. BOUGHTON

Laboratório de Biologia Animal (LBA) - PESAGRO-RIO - Alameda São Boaventura, 770 - 24.123 - Niterói-RJ - Brasil.

Central Veterinary Laboratory (CVL) - Ministry of Agriculture, Fisheries and Food - New Haw Weybridge - KT15 3NB Surrey - England.

Um total de 546 amostras de soro bovino foi coletado (de animais vivos e de matadouros) e as amostras foram testadas para presença de anticorpos contra *Mycoplasma bovis*, utilizando-se o teste ELISA indireto. Amostras positivas foram detectadas tanto em animais jovens como em adultos, comprovando a existência no Brasil de rebanhos bovinos acometidos de enfermidades causadas por *M. bovis*. A interpretação visual das reações observadas no teste ELISA foi comparada com a leitura espectrofotométrica obtida num leitor de resultados ELISA acoplado a um computador. Visualmente, 33,3 % dos resultados foram interpretados como positivos, comparados com 37,6% usando o espectrofotômetro. A correlação entre os dois métodos de leitura foi muito boa quando analisada estatisticamente ( $\chi^2 = 2,12$ ;  $p > 0,05$ ). Outros parâmetros foram considerados e analisados e a utilização da leitura visual para o teste ELISA foi discutida para ser introduzida em países e laboratórios que ainda não dispõem de equipamentos modernos e sofisticados.

ESPECIFICIDADE DE UM TESTE ELISA INDIRETO PARA *Mycoplasma bovis* UTILIZANDO-SE SOROS POSITIVOS PARA OUTRAS ESPÉCIES DE *Mycoplasma*.

M.H.T. LIBERAL

E. BOUGHTON

Laboratório de Biologia Animal (LBA) - PESAGRO-RIO - Alameda São Boaventura, 770 - 24.123 - Niterói-RJ - Brasil.

Central Veterinary Laboratory (CVL) - Ministry of Agriculture, Fisheries and Food - New Haw Weybridge - KT15 3NB Surrey - England.

A especificidade de um teste ELISA indireto para sorodiagnóstico de infecções por *Mycoplasma bovis* foi testada para reações cruzadas com outras espécies do microorganismo, utilizando-se soro de bovinos naturalmente infectados por outros *Mycoplasma*, testados pelo Teste da Fixação de Complemento, e soro de 92 animais sabidamente positivos para *Mycoplasma californicum* e *Mycoplasma bovis*. Os resultados do ELISA provaram que não há reação cruzada entre as espécies de *Mycoplasma* estudadas por este teste, e em todos os casos onde o resultado de ELISA foi de densidade ótica (DO) superior a 0,600, um título de 1/10 a 1/160 foi detectado pelo teste da Fixação de Complemento. Quando o soro positivo para *M. bovis* foi testado em microplacas aderidas com antígeno de *M. californicum*, 85,7% foram negativos e 14,3% foram inconclusivos pelo ELISA. Quando soros positivos para *M. californicum* foram testados em microplacas aderidas com antígeno de *M. bovis*, 45,5% foram negativos e 54,5% foram inconclusivos pelo ELISA. Em nenhuma amostra de soro foi observado resultado positivo, tanto para *M. bovis* como para *M. californicum*, utilizando-se o teste ELISA.

ASPECTOS TÉCNICOS OBSERVADOS EM TESTE ELISA INDIRETO PARA DIAGNÓSTICO DE INFECÇÕES CAUSADAS POR *Mycoplasma bovis*.

M.H.T. LIBERAL

E. BOUGHTON

Laboratório de Biologia Animal (LBA) - PESAGRO-RIO - Alameda São Boaventura, 770 - 24.123 - Niterói-RJ - Brasil.

Central Veterinary Laboratory (CVL) - Ministry of Agriculture, Fisheries and Food - New Haw Weybridge - KT15 3NB Surrey - England

Três parâmetros principais foram analisados em um teste ELISA indireto desenvolvido para o diagnóstico de infecções causadas por *Mycoplasma bovis*: 1) reprodutibilidade dos resultados; 2) tempo limite para a leitura dos resultados; e 3) armazenagem de microplacas contendo o antígeno já aderido a elas. Os resultados indicaram que a variação em termos de densidade ótica (DO), observada nos mesmos soros bovinos testados em dias diferentes (variação entre-testes) ou em microplacas diferentes (variação intra-testes), foi muito pequena quando analisada pelo coeficiente de variação e desvio padrão encontrados. Um atraso de até 15 minutos na leitura das reações enzimáticas desencadeadas durante o ELISA, após a colocação do ácido terminador, não alterou a classificação dos resultados obtidos como positivos ou negativos, permitindo que um maior número de amostras seja testado por vez. Dentre as formas testadas para armazenagem das microplacas já cobertas pelo antígeno, ficou provado que a mais efetiva é aquela em que a diluição ótima do antígeno é distribuída pela microplaca, sendo essa então selada e colocada a 4°C até a época de sua utilização. Resultados satisfatórios foram obtidos até 8 meses após a sua preparação.

DERMATÓFITOS EM GATOS SEM LESÕES CLÍNICAS APARENTES- Moritani, M. M\*; Gambale, W\*\*; Larsson, C.E.\*; Correa, B.\*\*; Paula, C.R.\*\* & Barbosa, A.T.\*\* - \*Fac. Med. Vet. e Zoot. USP- \*\* Inst. C. Biomédicas USP.

Do ponto de vista epidemiológico, os animais domésticos assumem importante papel na transmissão das dermatofitoses ao homem. Nesse sentido novos rumos surgiram a partir de pesquisas demonstrando que esses animais domésticos podem ser portadores de dermatófitos sem apresentarem sinais clínicos de infecção. Dentre esses animais, o gato apresenta particular interesse pelo fato de ter hábitos domiciliares, possibilitando seu contato mais íntimo com o homem. Baseado nesses aspectos relevantes, selecionou-se gatos sem lesões na pele e pelos e pela técnica de Mariat & Adan-Campos, procedeu-se ao isolamento de dermatófitos. Paralelamente avaliou-se a possibilidade de utilização de exame clínico com luz de Wood para detectar-se esses portadores sãos. Até o momento, 36% dos gatos examinados foram portadores de Microsporum canis e 29% de M. gypseum. O exame clínico com luz de Wood foi negativo em 100% dos animais examinados. Esses dados sugerem, a exemplo dos obtidos por outros autores, que o gato tem um papel de destaque como reservatório de dermatófitos, principalmente de M. canis, responsável por Tinea em crianças em nosso meio.

- Auxílio FAPESP Proc. 88/3994-3



AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE CAUDAS DE LAGOSTAS BENEFICIADAS POR DIFERENTES INDÚSTRIAS NO ESTADO DO CEARÁ

T. FEITOSA, N. A. N. MACHADO e M. E. L. VASCONCELLOS

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS-CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS-LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

Foram adquiridas caudas de lagostas congeladas em sete diferentes indústrias beneficiadoras no Estado do Ceará, totalizando 202 amostras, no período de um ano (julho/86-agosto/87).

As amostras eram trazidas ao laboratório em caixas isotérmicas e submetidas a análises bacteriológicas após descongelamento.

Os testes bacteriológicos constaram de contagem de bactérias mesófilas e determinação do Número Mais Provável (NMP) de bactérias do grupo coliforme fecal. A metodologia aplicada foi a recomendada pelo ICMSF (1985).

Os resultados obtidos mostraram que em relação a contagem de bactérias mesófilas, 12% das amostras de origem B, 16% de origem D, 14% de origem F e 27% de origem G, apresentaram contagem acima do padrão permitido pela DINAL (1987), enquanto que em relação ao NMP de coliformes fecais somente 1,7% e 0,3% de amostras de origem B e D, respectivamente, ultrapassaram o padrão microbiológico fixado.

STAPHYLOCOCCUS AUREUS E COLIFORMES FECALIS NO QUEI  
JO DE COALHO DO ESTADO DO CEARÁ

T. FEITOSA, N. A. N. MACHADO e M. E. L. VASCONCELLOS

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTO-CENTRO DE CIÊN  
CIAS AGRÁRIAS-LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA

Foram examinadas bacteriologicamente 21 amostras de queijo coalho procedentes de três municípios do Es tado do Ceará.

As amostras foram obtidas no local de processamento e submetidas a análises microbiológicas nos períodos de zero, 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias. As primeiras a nálises foram realizadas no período máximo de seis horas após a obtenção das amostras, sendo as demais armazenadas à temperatura ambiente e analisadas pos- teriormente.

As análises bacteriológicas revelaram níveis elevados de microrganismos indicadores de condições higiênico- sanitário, sugerindo providências de ordem tecnológica e estudos para o estabelecimento de padrões regulamen- tares.

No que diz respeito à presença de S. aureus, os resul- tados evidenciaram que apenas as amostras da região A apresentaram contagens acima do nível máximo per- mitido pela DINAL ( $10^3$ /g).

OCORRÊNCIA DE BOLORES E LEVEDURAS E DE BACTÉRIAS DO GRUPO COLIFORME FECALIS EM BISCOITO SALGADO DO TIPO "CREAM CRACKER".

N. A. N. MACHADO, T. FEITOSA, M. E. L. VASCONCELLOS e J. C. GASPAR JUNIOR.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS-CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS-LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade microbiológica de biscoitos salgados do tipo "Cream Cracker", com relação à presença de bolores e leveduras e de bactérias do grupo coliformes fecais. A metodologia usada foi a recomendada pelo ICMSF (1985).

Foram analisadas 51 amostras de biscoitos salgados de quatro marcas (A, B, C, D), sendo 15 (29,4%) de A, 17 (33,3%) de B, 11 (21,6%) de C e 8 (15,7%) de D.

Somente em relação à marca B, todas as amostras analisadas estiveram dentro dos limites de padrões microbiológicos estabelecidos pela DINAL (1987), tanto para bolores e leveduras quanto para coliformes fecais, ainda que a maioria das amostras das marcas A, C e D também estivessem nesses limites. Uma (1,96%) única amostra das 51 analisadas, de marca C, ultrapassou o máximo permitido para coliformes fecais (máximo de 1/g), enquanto que seis (11,8%) amostras, sendo uma (1,96%) de marca A e cinco (9,8%) de marca D, superaram os limites máximos permitidos para bolores e leveduras (máximo de  $10^3$ /g).

FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DE BETERRABA AÇUCAREIRA POR *Z. MOBILIS* CP4 E *S. CEREVISIAE* IZ 1904.

M.C. DIEZ JEREZ E I. MACIEL DE MANCILHA.

DEPTO. DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS - UFV - VIÇOSA - MG.

Considerando a necessidade de estudar outros microrganismos além das leveduras, assim como outras fontes de matérias primas além da cana-de-açúcar, para a produção de etanol, o presente trabalho consistiu em realizar um estudo comparativo entre a levedura *S. cerevisiae* IZ 1904 e a bactéria *Z. mobilis* CP4, utilizando suco de beterraba açucareira (*Beta vulgaris* L.) como fonte de sacarose. Otimizou-se o meio de fermentação quanto a adição de diferentes fontes de N e P, presença ou ausência de fonte de magnésio ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ) e/ou extrato de levedura. Estudou-se também o efeito da variação da concentração de extrato de levedura e o uso de pantotenato de cálcio como seu possível substituto. Os resultados foram comparados com aqueles obtidos com o suco de beterraba açucareira sem adição de nutrientes.

A determinação de açúcar redutor e açúcar redutor total foi realizada pelo método do ácido dinitrosalísílico (DNS), a massa celular foi estimada pela medida da turbidez a 600 nm e o etanol produzido por cromatografia gasosa.

Verificou-se que a ausência da fonte de Mg não afetou o consumo de açúcar por *Z. mobilis* CP4 e que a presença de extrato de levedura seria o fator limitante na fermentação por este microrganismo. Por outro lado, a ausência de Mg quanto a de extrato de levedura afetaram significativamente a fermentação por *S. cerevisiae* IZ 1904. O maior consumo de açúcar por ambos os microrganismos foi verificado na concentração de 10 g/L de extrato de levedura. Os resultados também mostram que o extrato de levedura pode ser parcial ou totalmente substituído por pantotenato de cálcio sem afetar a cinética da fermentação por ambos os microrganismos. Em geral, *Z. mobilis* CP4 apresentou maior eficiência de conversão que *S. cerevisiae* IZ 1904 em todas as condições estudadas.



