

## ACÇÃO DA ASSOCIAÇÃO L-TRIPTOFANO E CITRATO DE FERRO AMONIAICAL SÓBRE A FORMAÇÃO DE BAFO DE *PROTEUS*

### L-TRYPTOPHAN AND FERRIC AMMONIUM CITRATE AS AN INHIBITORY ASSOCIATION ON *PROTEUS* SWARMING

GIL VITAL ALVARES PESSÓA <sup>(1)</sup>  
DILMA SCALA GELLI <sup>(1)</sup>  
MARIA ELISA FERNANDES DE FIGUEIREDO <sup>(1)</sup>  
JOSÉ FERREIRA BRANDÃO <sup>(1)</sup>

#### SUMMARY

Inhibitory effect of L-tryptophan plus ferric ammonium citrate on *Proteus* swarming was tested with good results in sheep blood-agar plates.

#### INTRODUÇÃO

A formação de bafo por espécies do gênero *Proteus* é um fenômeno bem conhecido, causador de inúmeras dificuldades na rotina laboratorial. Segundo JONES & PARK <sup>1</sup>, duas teorias poderiam explicar este fenômeno: a primeira é que a superpopulação local exaure os nutrientes na área de crescimento, o resultante gradiente desses elementos estimulando o crescimento e o movimento em direção à periferia; a segunda, que é ele uma resposta aos produtos metabólicos acumulados durante o crescimento dos organismos não formadores de bafo.

As várias substâncias estudadas como inibidoras da formação de bafo de *Proteus* (azida sódica <sup>6</sup>, ácido bórico <sup>7</sup>, sais biliares <sup>3</sup>, desoxicolato de sódio <sup>2</sup> e outras) apresentam também efeito inibidor secundário sobre o crescimento de outras bactérias. NAYLOR <sup>4</sup> faz uma revisão e classificação dos métodos, mecânicos e químicos, usados até então para inibição do bafo. Jones & Park, estudando 22 aminoácidos adicionados ao meio mínimo de Fildes, verificaram que a estimulação do fenômeno não era devida a um simples aminoácido ou a um grupo específico de aminoácidos, agindo eles, talvez, de maneira não específica dada a possibilidade de existir relação entre formação de bafo e aumento resultante do metabolismo daqueles elementos.

Com base em observação prévia <sup>5</sup> de que L-triptofano associado ao citrato de ferro amoniacal (como contrastante de colônias) inibia a formação do bafo de *Proteus*, no presente trabalho foi estudada possível ação sinérgica dessas substâncias para inibir a formação de bafo em placas de agar-sangue de carneiro.

#### MATERIAL E MÉTODOS

##### 1. Meio de cultura

Foram utilizadas placas de agar-sangue de carneiro preparado como segue:

Proteose peptona n.º 3 (Difco)	1,0 g
Cloreto de sódio	0,5 g
Extrato de carne (Difco)	0,3 g
Agar n.º 3 (Oxoid)	1,2 g
Sangue desfibrinado de carneiro	0,5 ml
Água destilada	100,0 ml

pH = 7,6

O L-triptofano e o citrato de ferro amoniacal foram adicionados, em diferentes concentrações, ao agar-base, antes da adição do sangue.

(1) Do Instituto Adolfo Lutz.

## 2. Cepas

Foram utilizadas três cepas de *Proteus mirabilis*, isoladas de coproculturas (n.ºs IAL-457, IAL-458 e IAL-466).

## 3. Provas realizadas

3.1 — Para verificação da proporção ideal inibitória, foram testadas concentrações variáveis das duas substâncias em estudo (quadro I) adicionadas ao meio de agar-sangue de carneiro. A partir de uma suspensão de *Proteus mirabilis* em solução fisiológica, com turvação correspondente ao tubo n.º 1 da escala de Mac Farland, foi feita diluição a 1:10 em solução fisiológica; dessa diluição foram inoculados 0,05 ml nas placas do meio de cultura em prova por espalhamento com bastão em L. Após incu-

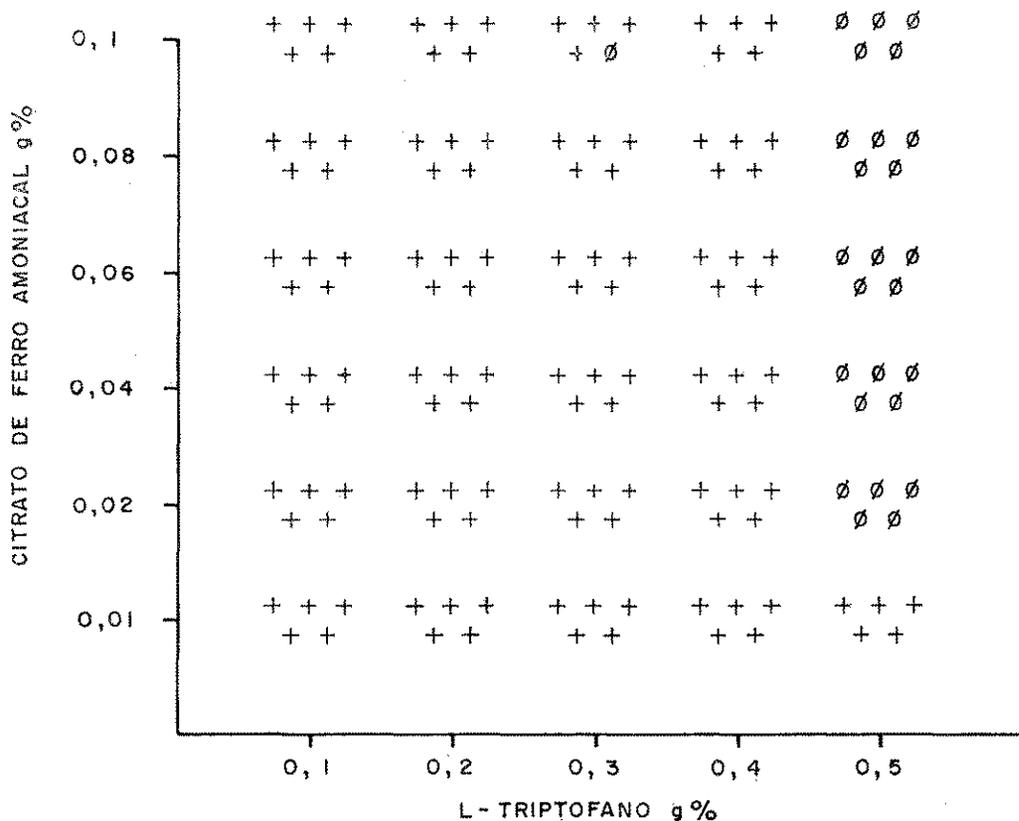
bação a 37°C durante 24 hs foi feita a verificação da presença ou não de bafo.

3.2 — Para verificação da possível ação inibitória da associação em prova sobre o crescimento de outras bactérias foram inoculadas diluições seriadas dobradas de suspensões, em solução fisiológica, de cepas de *Sh. sonnei*, *S. typhimurium*, *E. coli*, *St. aureus* e estreptococos alfa e beta-hemolíticos, em placas de agar-sangue de carneiro contendo L-triptofano e citrato de ferro amoniacal na proporção inibitória mínima ideal, verificada anteriormente, e em placas de agar-sangue; após incubação a 37°C, durante 24 hs, procedeu-se à contagem comparativa das colônias (quadro II).

## RESULTADOS

A observação dos resultados das verificações para determinação da proporção inibitória ideal do gráfico abaixo mostra que o

Relação entre concentrações de L-triptofano e citrato de ferro amoniacal na inibição de bafo pelo *Proteus mirabilis*, em placas de agar-sangue de carneiro.



+ = presença de bafo

Ø = ausência de bafo

Verificação de ação inibitória da associação de L-triptofano (0,5 g%) e citrato de ferro amoniacal (0,02 g%), sobre o crescimento de outras bactérias, no meio em estudo e em agar-sangue de carneiro.

Bactérias por placa  Diluições semeadas	Salmonella typhimurium		Shigella sonnei		Escherichia colli		Staphylococcus aureus		Estreptococo alfa hemolitico		Estreptococo beta hemolitico	
	AS	AS+T	AS	AS+T	AS	AS+T	AS	AS+T	AS	AS+T	AS	AS+T
10 <sup>-4</sup>	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	40	50	∞	∞
10 <sup>-6</sup>	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	6	3	∞	∞
10 <sup>-8</sup>	∞	∞	∞	∞	∞	∞	30	36	2	3	∞	∞
10 <sup>-10</sup>	∞	∞	∞	∞	∞	∞	10	10	—	—	800	900
10 <sup>-12</sup>	∞	∞	∞	∞	∞	∞	6	7	—	—	580	500
10 <sup>-14</sup>	∞	∞	34	32	40	42	...	...	...	...	...	...
10 <sup>-16</sup>	∞	∞	34	32	30	36	...	...	...	...	...	...
10 <sup>-18</sup>	600	700	15	15	16	14	...	...	...	...	...	...

∞ incontáveis  
— ausência de crescimento  
... desconhecido

AS agar - sangue  
T L - triptofano

L-triptofato, na concentração mínima de 0,5 g%, associado ao citrato de ferro amoniacal em concentrações superiores a 0,01 g%, impediu em tôdas as placas do meio em estudo a formação de bafo.

Tendo em vista os resultados acima, foram estabelecidas as concentrações mínimas de 0,5 g% de L-triptofano e 0,02 g% de citrato de ferro amoniacal como as adequadas.

Examinando-se os resultados do quadro da pág. anterior referentes ao comportamento de várias espécies bacterianas nas placas em estudo, em comparação ao verificado em placas de agar-sangue comum, foi constatado não ter havido efeito inibitório sobre seu crescimento, nem alterações aparentes na morfologia das colônias.

#### CONCLUSÕES

Estes resultados preliminares evidenciam a utilidade do emprêgo da associação de L-triptofano e citrato de ferro amoniacal para inibir a formação do bafo de *Proteus*. Resultados semelhantes foram obtidos por um dos autores<sup>5</sup> quando estudou essa associação para isolamento de enterobactérias. O meio descrito está sendo, no momento, experimentado para o isolamento de germes patogênicos de urina, com a finalidade de estudar-se sua aplicação em laboratório.

#### RESUMO

Foi verificado o efeito inibitório da associação de L-triptofano e citrato de ferro

amoniacal sobre a formação de bafo por *Proteus*.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. JONES, H. G. & PARK, R. W. A. — The influence of medium composition on the growth and swarming of *Proteus*. *J. Gen. Microbiol.*, 47:369-77, 1967.
2. LEIFSON, E. — New culture media based on sodium desoxycholate for the isolation of intestinal pathogens and for the enumeration of colon bacilli in milk and water. *J. Path. Bact.*, 40:581-99, 1935.
3. MacCONKEY, A. T. — *Bile-salt neutral red lactose agar*. In MACKIE, T. J. & McCARTNEY, J. E. — *Handbook of practical bacteriology*. 6.ed. Edinburg, Livingstone, 1942. p. 137.
4. NAYLOR, P. G. D. — The effect of electrolytes or carbohydrates in a sodium chloride deficient medium on the formation of discrete colonies of *Proteus* and the influence of these substances on Growth in liquid culture. *J. Appl. Bact.*, 27(3):422, 1964.
5. PESSOA, G. V. A. et alii — Um novo meio para diferenciar o grupo *Proteus-Provuidence* de outras bactérias. Trabalho em elaboração.
6. SNYDER, M. L. & LICHSTEIN, H. C. — Sodium azide as an inhibiting substance for gram-negative bacteria. *J. Infect. Dis.*, 67:113-5, 1940.
7. SYKES, J. A. & REID, R. — The control of the swarming of *Proteus vulgaris* by boric acid. *J. Gen. Microbiol.*, 3:117, 1949.

Recebido para publicação em 14 de julho de 1971.