

O USO DA NISTATINA COMO AUXILIAR NO ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS DO SOLO (*)

R. N. NEDER, R. DE CAMARGO,
A. MARTINELLI Fo. e H. FALANGHE

Instituto Zimotécnico
Universidade de S. Paulo — Piracicaba

INTRODUÇÃO

A Nistatina, antibiótico produzido por um actinomiceto do solo — *Streptomyces noursei* — possui várias propriedades que a qualificam, não só como valioso agente terapêutico no controle da flora gastro-intestinal do homem, como também de eficiência em sua ação fungistática ou fungicida. Tal antibiótico, até o presente momento, tem sido utilizado estritamente no campo da medicina. Entretanto, suas propriedades, quer fungistáticas, quer fungicidas, sugerem sua aplicação no melhoramento de técnicas de laboratório para o isolamento de bactérias.

E' fato conhecido que, no isolamento de bactérias de solo, muitas vezes, a ocorrência de fungos e leveduras, notadamente os primeiros, pode prejudicar não somente o isolamento como também a contagem das colônias, quando fôr o caso de análise quantitativa. A simples presença de uma colônia de fungo "alastrador" pode acarretar a impraticabilidade de contagem das colônias e, conseqüentemente, o isolamento das mesmas.

Conhecendo-se as propriedades anteriormente citadas da Nistatina e, sabendo-se ainda que, em concentrações tão altas quanto 100 μ g/ml, êste antibiótico não ocasiona inibição das bactérias, ocorreu-nos a possibilidade de usar diferentes do-

(*) Trabalho apresentado no 7.º Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, realizado em julho de 1959 em Piracicaba.

ses de Nistatina em um meio específico para o isolamento de bactérias do solo.

REVISÃO DA LITERATURA

A Nistatina foi relatada como um novo antibiótico, em 1950, por HAZEN & BROWN (1950), com a denominação de Fungicidina. Os autôres relataram êste antibiótico, obtido de um actinomiceto do solo, *Streptomyces noursei*, como efetivo, "in vitro", contra um grande número de fungos e leveduras. Sua ação contra as bactérias foi demonstrada como pouca, ou nenhuma, mesmo em altas concentrações.

NEWCOMER, WRIGHT & STERNBERG (1954-1955), relataram os efeitos da Nistatina sobre *Candida albicans* e vários fungos saprófitas e patogênicos, tanto "in vitro", como "in vivo", observando que, no último caso, a inibição se verifica em concentrações entre 1,5 μ g/ml e 6,25 μ g/ml.

CAMPBELL, O'DELL & HILL (1954-1955) observaram os efeitos do antibiótico, com resultados plenamente satisfatórios, nos seguintes fungos patogênicos: *Cryptococcus neoformans*, *Sporotrichum schenkii* e *Coccidioides immitis*.

HEMPHILL, HERMAN e YOUNG (1957-1958) mostraram ser positiva a ação da Nistatina sobre *Aspergillus*.

A ação fungicida e fungistática da Nistatina foi demonstrada por RANGASWAMI & SAROJANI (1958) em "strains" e esporos de *Deightonella torulosum* em concentrações de 10 a 100 p.p.m. no primeiro caso e 5 p.p.m. no segundo.

Espécies de *Trichomonas*, *Candida*, *Torulopsis* e *Debaryomyces* foram ensaiadas por CARETTA & FURESZ (1955), mostrando outra vez a Nistatina sua ação inibidora.

SARACENI (1958) demonstrou a efetividade da Nistatina sobre o *Geotrichum candidum*.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

O meio de cultura utilizado foi o de extrato de solo — ágar, proposto por LOCHHEAD & CHASE (1943). A êste meio, usado em sua fórmula original para contrôle, foram adicionadas as seguintes doses de Nistatina: 25 U/ml, 50 U/ml,

100 U/ml e 200 U/ml. A Nistatina foi adicionada após a esterilização.

Foram colhidas 4 amostras de solo. Todas foram provenientes da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" e foram retiradas da camada compreendida entre 8 e 16 cm de profundidade, com uma pequena pá metálica, flambada antes de cada coleta. As amostras, imediatamente após terem sido colhidas, foram levadas para o laboratório e trabalhadas

Métodos

O método usado no experimento foi o de placas de contagem e as diluições utilizadas foram: 1:100.000; 1:1.000.000 e 1:10.000.000. A suspensão inicial, isto é, a de 1:10, foi conseguida pela diluição de 100 g de solo em 900 ml de água destilada e esterilizada.

Após 14 dias de incubação, à temperatura de 28°C, fez-se a contagem das colônias.

RESULTADOS OBTIDOS

Os resultados obtidos foram os expressos na tabela seguinte:

	Bactérias	Fungos	Leveduras
Extrato de solo ágar	3.357.000	443.000	274.000
Extrato de solo ágar + 25 U/ml de meio	6.500.000	211.000	70.000
Extrato de solo ágar + 50 U/ml de meio	6.250.000	132.000	48.000
Extrato de solo ágar + 100 U/ml de meio	6.600.000	17.000	25.000
Extrato de solo ágar + 200 U/ml de meio	6.400.000	9.000	1.250

Os dados da tabela acima representam números de microrganismos por grama de solo

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Da observação dos dados da tabela podemos constatar que a Nistatina, em tôdas as concentrações, é eficiente na inibição de fungos e leveduras, no isolamento de bactérias do solo. Entretanto, nas concentrações de 100 U/ml a Nistatina permitiu a menor contagem de fungos e leveduras, proporcionando assim uma análise numérica mais fácil e mais próxima da real.

Nas placas de extrato de solo-ágar sem Nistatina, a contagem das bactérias foi bem inferior às das demais obtidas, fato êsse que poderia ser resultante não só da competição entre os demais organismos e as bactérias, como também da possibilidade de mascaramento de colônias de bactérias por invasão de fungos "alastradores", principalmente dos gêneros *Neurospora* e *Mucor*.

Foi observado, ainda, que nas 2 maiores concentrações de Nistatina as colônias de fungos, além de em quantidade muito menor, tinham seu aspecto restringido, apresentando-se em formas bem uniformes e, lógicamente, não mais prejudicando a contagem total das bactérias presentes.

SUMÁRIO

O antibiótico Nistatina, produzido por um actinomiceto do solo — *Streptomyces noursei* — foi adicionado nas concentrações de 25 U/ml, 50 U/ml, 100 U/ml e 200 U/ml a um meio específico para isolamento de bactérias do solo, no sentido de se aumentar sua eficiência.

Pode-se observar que a Nistatina, em tôdas as concentrações usadas, mostrou inibir fungos e leveduras, permitindo, entretanto, menor contagem daqueles organismos nas concentrações de 100 U/ml e 200 U/ml, favorecendo assim uma análise numérica das bactérias mais fácil e mais próxima da real

SUMMARY

Nystatin, antibiotic produced by *Streptomyces noursei*, was added at the concentrations of 25 U/ml, 50 U/ml, 100 U/ml and 200 U/ml to a specific medium for the isolation of soil bacteria, in order to increase its efficiency as a bacterial medium.

Nystatin showed its efficiency as inhibitor for yeasts and fungi at the concentrations used.

The best bacterial numerical analysis was possible at the concentrations of 100 U/ml and 200 U/ml.

LITERATURA CITADA

CAMPBELL, C. C., E. T. O'DELL & G. B. HILL, 1954-1955 — Therapeutic activity of nystatin in experimental systemic mycotic infections. *Antibiotics annual*, Ed. H. Welch e F. Martí-Ibanez, pp. 858-862.

CARETTA, G. & S. FURESZ, 1958 — Action of trichomycin and nystatin on *Candida* spp. and *Trichomonas vaginalis*. *Giorn. mal. infettive e parassit.* 10: 742-4.

HAZEN, E. L. & R. BROWN, 1950 — Two antifungal agents produced by a soil Actinomycete. *Science* 112: 423.

HEMPHILL, J. J., Y. F. HEMAN & V. M. YOUNG, 1957-1958 — Comparative antifungal activity of nystatin and amphotericin B in tissue culture for virus propagation. *Antibiotics annual*, Ed. H. Welch e F. Martí-Ibanez, pp. 961-965.

LOCHHEAD, A. G. & F. G. CHASE, 1943 — Qualitative studies of soil microorganisms. V. Nutritional requirements of the predominant bacterial flora. *Soil Sci.* 55: 185-195.

NEWCOMER, V. D., E. T. WRIGHT & T. H. STERNBERG, 1954-1955 — The effect of nystatin when administered simultaneously with tetracycline upon the yeast flora of the gastro-intestinal tract of man. *Antibiotics annual*, Ed. H. Welch e F. Martí-Ibanez, pp. 686-690.

RANGASWAMI, G. & A. P. SAROJANI, 1958 — Fungistatic and fungicidal action of mycostatin on *Deightomella torulosum*. *Current Sci. (India)* 27: 176-177.

SARACENI, G., 1958 — Antifungal activity of nystatin, trichomycin and dichlorohydroxinaldin. *Giorn. Mal. infettive e parassit.* 10: 740.