

ESTUDO DO COMPORTAMENTO DE ALGUNS FILMES FOTOGRAFICOS, REVELADOS E NÃO REVELADOS, NA EVIDENCIAÇÃO RÁPIDA DA GELATINASE BACTERIANA

Luis G. COTILLO Z. (1)
Sebastião Timo LARIA (2)

RESUMO

Com bactérias consideradas gelatinolíticas rápidas e lentas e não gelatinolíticas, foram realizadas provas de liquefação rápida da gelatina em alguns filmes fotográficos revelados e não revelados. Empregaram-se os filmes Gevaert Gevapan 30, Agfa Isochron-Pan 2-8, Microfilme Gevaert, Microfilme Kodak TRI-X Pan e Chapas radiográficas 30 x 40 Kodak e Dental Kodak. As provas foram realizadas usando-se culturas em caldo Martin e água peptonada, inoculadas da maneira usual, e em água peptonada inoculada maciçamente, de modo a obter-se suspensão bacteriana densa desde o início. A incubação foi sempre feita em estufa a 37°C até 96 horas. O microfilme Kodak TRI-X Pan revelado foi o que permitiu a obtenção de resultados específicos sempre que usado com culturas em água peptonada, parecendo poder-se obter resultados mais rápidos quando se emprega inoculação maciça.

INTRODUÇÃO

Inúmeros processos têm sido descritos para se pesquisar a atividade gelatinolítica das bactérias. Assim temos para a pesquisa daquela atividade desde as técnicas clássicas⁶, até aquelas preconizadas por Barer¹, Kohn² e Lautrop¹.

Mais recentemente, Le Minor & Piechaud³ apresentaram método, mais simples e mais rápido, para a pesquisa de gelatinase usando microfilme Kodak revelado e suspensão espessa de bactérias em água peptonada, com incubação em banho-maria a 37°C com agitação cons-

tante. Os autores porém não referem o comportamento de outros tipos de filmes, revelados e não revelados, bem como do microfilme Kodak não revelado, com relação a esta prova.

Assim resolvemos retomar o assunto, com o objetivo principal de verificar quais os resultados que poderiam ser obtidos com outros tipos de filmes, revelados e não revelados, frente à bactérias reconhecidamente gelatinolíticas, rápidas e lentas e não gelatinolíticas. Os outros objetivos dêste estudo seriam observar o efeito sobre o tempo requerido para a atividade gelatinolítica da incubação em estufa, ao invés de em banho-maria com agitação, e da realização da prova com culturas em caldo Martin e água peptonada, inoculados da maneira usual, e em água peptonada inoculada maciçamente.

MATERIAL E MÉTODOS

Bactérias usadas — As cêpas de bactérias utilizadas neste estudo provêm da

Recebido para publicação em 6-4-1966.

Trabalho da Cadeira de Microbiologia e Imunologia Aplicadas (Prof. Dácio de Almeida Christovão) da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da USP.

(1) Instrutor da Cadeira, Catedrático Auxiliar de Microbiologia da Facultad - Farmácia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Peru.

(2) Instrutor da Cadeira.

coleção de cultura do Departamento de Microbiologia da Faculdade de Higiene e Saúde Pública. Foram selecionadas por sua atividade gelatinolítica reconhecidamente rápida ou lenta ou ainda pela sua incapacidade de liquefazer a gelatina². Como representantes do primeiro grupo tomamos *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris* e *Staphylococcus aureus* (4 cêpas); do segundo grupo empregaram-se *Arizona* e *Proteus mirabilis*; para compor o terceiro grupo foram escolhidas *Proteus morgani*, *Salmonella typhi* "O" 901 e "H" 901, *Salmonella paratyphi*, *Salmonella schottmülleri*, *Shigella flexneri* 3, *Shigella flexneri* 5, *Shigella sonnei*, *Citrobacter (Ballerup)*, *Escherichia coli* (2 cêpas), *Aerobacter aerogenes* (2 cêpas), *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus sp.* alfa hemolítico (2 cêpas) e *Streptococcus faecalis*.

Meios de cultura — Usaram-se nas provas agar simples inclinado, caldo Martin e água peptonada; para os dois últimos o volume utilizado foi de aproximadamente 2 ml em tubos 12 x 120 mm.

Filmes fotográficos — Os filmes utilizados, Agfa Isochron Pan 2-8, Gevaert Gevapan 30, Microfilmes Gevaert e Kodak TRI-X Pan e chapas radiográficas 30 x 40 Kodak e dental Kodak, foram obtidos no comércio. Cada filme foi dividido em duas partes, uma das quais foi revelada. A revelação foi feita sempre pelo mesmo processo. Posteriormente, todos os filmes, revelados e não revelados, foram cortados em tiras, com aproximadamente 5 mm de largura, que foram esterilizadas por flambagem, através de uma passagem rápida na chama antes de serem introduzidas nos tubos com meios inoculados.

Técnica da prova — Cada tipo de filme, revelado e não revelado, foi experimentado com cada uma das cêpas das bactérias escolhidas, em cultura em caldo-Martin e em água peptonada, inoculados da maneira usual e em água peptonada semeada maciçamente, de modo a obter-se, já de início, suspensão densa. Estas inoculações, foram sempre feitas a partir de cultura de 24 horas em agar

simples inclinado. Em cada tubo de prova, imediatamente após a sua semeadura, mergulhou-se uma tira de filme de modo a ficar a metade fora do meio de cultura, servindo esta metade como controle. A incubação foi realizada em estufa a 37°C, ligeira modificação da técnica seguida por Le Minor e Picchaud³ que empregaram a incubação em banho-maria a 37°C, sob agitação.

As leituras foram realizadas após 10 e 30 minutos e após 1, 2, 18, 24, 48, 72 e 96 horas de incubação. A prova era considerada positiva ao primeiro sinal de descolamento da camada de gelatina do filme. Nos filmes revelados, nos casos positivos o meio tornava-se de cor cinzenta pelo desprendimento de sais de prata. A prolongação da incubação, ainda nêstes casos, tornava a parte mergulhada do filme transparente, contrastando com a parte não mergulhada que permanecia opaca e de cor negra, funcionando assim muito bem como controle. Nos filmes não revelados a única diferença estava na cor da parte não mergulhada que conservou a sua cor original cinzenta.

RESULTADOS

Nas Tabelas I, II e III estão relacionados os resultados das provas de liquefação rápida da gelatina em filmes, revelados e não revelados, realizadas com culturas em caldo Martin e água peptonada inoculadas da maneira usual e em água peptonada inoculada maciçamente. Êste último tipo de cultura será referido sempre como suspensão bacteriana densa.

Com relação aos filmes utilizados, as tabelas mostram que as chapas radiográficas 30 x 40 Kodak e dental Kodak, reveladas e não reveladas, forneceram resultados negativos em quase tôdas as provas. O filme Agfa Isochron Pan 2-8, não revelado, apresentou em todos os casos desprendimento de uma substância corante que dificultou as leituras das provas. Com êste mesmo filme revelado e não revelado, obtiveram-se resultados falsos positivos, nos três tipos de cultura.

TABELA I

Resultados das provas de liquefação rápida da gelatina, em filmes revelados e não revelados, com culturas em caldo Martin.

Atividade Gelatinolítica	Filmes		Agfa Isochron Pan 2-8		Gevaert Gevapan 30		Microfilme Gevaert		Kodak TRI-X Pan		Chapa radiográfica Kodak		Chapa radiográfica dental Kodak		
	Câpas		R	NR	R	NR	R	NR	R	NR	R	NR	R	NR	
Rápida	Serratia marcescens	+ 2 hs + 24 hs	+ 2 hs + 48 hs	+ 2 hs + 48 hs	+ 2 hs + 48 hs	+ 2 hs + 48 hs	+ 2 hs + 24 hs	+ 2 hs + 24 hs	+ 2 hs + 48 hs	+ 2 hs + 48 hs	+ 2 hs + 48 hs	+ 2 hs + 48 hs	+ 2 hs + 48 hs	+ 18 hs Neg.	
	Pseudomonas aeruginosa	+ 96 hs + 48 hs	+ 18 hs Neg.	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 18 hs	
	Proteus vulgaris	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 18 hs + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 18 hs
	Staphylococcus aureus	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 48 hs	Neg. + 18 hs
	Staphylococcus aureus	+ 18 hs + 48 hs	+ 18 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	Neg. + 18 hs
	Staphylococcus aureus	+ 24 hs + 18 hs	+ 24 hs + 18 hs	+ 48 hs + 72 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 96 hs	+ 48 hs + 24 hs	+ 48 hs + 24 hs	+ 48 hs + 24 hs	+ 48 hs + 24 hs	+ 48 hs + 24 hs	+ 48 hs + 24 hs	Neg. + 72 hs
Lenta	Arizona	+ 24 hs + 18 hs	+ 48 hs + 72 hs	+ 72 hs + 48 hs	+ 72 hs + 48 hs	+ 72 hs + 48 hs	+ 96 hs + 96 hs	+ 72 hs + 24 hs	+ 48 hs + 24 hs	+ 48 hs + 24 hs	+ 96 hs + 24 hs	+ 48 hs + 24 hs	+ 48 hs + 24 hs	Neg. + 72 hs	
	Proteus mirabilis	+ 18 hs + 18 hs	+ 48 hs + 72 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 96 hs + 96 hs	+ 96 hs + 24 hs	+ 48 hs + 24 hs	+ 48 hs + 24 hs	+ 96 hs + 24 hs	+ 48 hs + 24 hs	+ 48 hs + 24 hs	Neg. + 72 hs	
Nula	Proteus morganii	+ 18 hs + 24 hs	+ 18 hs + 24 hs	+ 18 hs + 24 hs	+ 18 hs + 24 hs	+ 18 hs + 24 hs	+ 18 hs + 24 hs	+ 18 hs + 24 hs	+ 18 hs + 24 hs	+ 18 hs + 24 hs	+ 18 hs + 24 hs	+ 18 hs + 24 hs	+ 18 hs + 24 hs	Neg. + 72 hs	
	Ballerup	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	Neg. + 72 hs	
	Escherichia coli	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	Neg. + 72 hs	
	Escherichia coli	+ 24 hs + 48 hs	+ 24 hs + 48 hs	+ 24 hs + 48 hs	+ 24 hs + 48 hs	+ 24 hs + 48 hs	+ 24 hs + 48 hs	+ 24 hs + 48 hs	+ 24 hs + 48 hs	+ 24 hs + 48 hs	+ 24 hs + 48 hs	+ 24 hs + 48 hs	+ 24 hs + 48 hs	Neg. + 72 hs	
	Aerobacter aerogenes	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	Neg. + 72 hs
	Aerobacter aerogenes	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	+ 48 hs + 48 hs	Neg. + 72 hs

Str. sp. alfa hemolítico, Str. pyogenes, Str. faecalis, S. typhi 0901 e H901, S. paratyphi, S. schottmülleri, Sh. flexneri 3, Sh. flexneri 5 e Sh. sonnei, revelaram resultados negativos com todos os filmes, revelados e não revelados.

R = revelado.

NR = não revelado.

TABELA II

Resultados das provas de liquefação rápida da gelatina, em filmes revelados e não revelados, com culturas em água peptonada.

Atividade Gelatinolítica	Filmes		Agfa Isochron Pan 2-8		Gevaert Gevapan 30		Microfilme Gevaert		Kodak TRI-X Pan		Chapa radiográfica Kodak 30 x 40		Chapa radiográfica dental Kodak		
	Cáps		R	NR	R	NR	R	NR	R	NR	R	NR	R	NR	
Rápida	Serratia marcescens	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 24 hs	+ 18 hs	+ 18 hs	
	Pseudomonas aeruginosa	+ 24 hs	+ 24 hs	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 24 hs	+ 24 hs	+ 24 hs	+ 48 hs	+ 48 hs	+ 48 hs	Neg.	+ 48 hs	+ 48 hs	
	Proteus vulgaris	+ 72 hs	+ 72 hs	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	+ 72 hs	+ 96 hs	+ 24 hs	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
	Staphylococcus aureus	+ 48 hs	+ 48 hs	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	+ 48 hs	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
	Staphylococcus aureus	+ 48 hs	+ 48 hs	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	+ 48 hs	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
	Staphylococcus aureus	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 48 hs	+ 48 hs	+ 48 hs	+ 48 hs	+ 48 hs	+ 48 hs	+ 18 hs	+ 48 hs	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
	Staphylococcus aureus	+ 48 hs	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	+ 48 hs	+ 48 hs	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	
Lenta	Arizona	+ 24 hs	+ 24 hs	+ 48 hs	+ 72 hs	+ 48 hs	Neg.	+ 72 hs	+ 48 hs	Neg.	Neg.	+ 48 hs	+ 48 hs	Neg.	
	Proteus mirabilis	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 72 hs	+ 48 hs	+ 72 hs	+ 96 hs	+ 72 hs	+ 24 hs	+ 24 hs	Neg.	+ 96 hs	+ 72 hs	+ 72 hs	
Nula	Proteus morganii	+ 96 hs	+ 96 hs	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	+ 24 hs	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	
	Ballerup	+ 24 hs	+ 24 hs	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	
	Escherichia coli	+ 48 hs	+ 48 hs	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	
	Escherichia coli	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	
	Aerobacter aerogenes	+ 24 hs	+ 24 hs	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	
	Aerobacter aerogenes	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	

Str. sp. alfa hemolítico, Str. pyogenes, Str. faecalis, S. typhi 0901 e H901. S. paratyphi, S. schottmülleri, Sh. flexneri 3, Sh. flexneri 5 e Sh. sonnei, revelaram resultados negativos com todos os filmes, revelados e não revelados.

R = revelado.
NR = não revelado.

TABELA III

Resultados das provas de liquefação rápida da gelatina, em filmes revelados e não revelados, com suspensões bacterianas densas.

Atividade Gelatinolítica	Filmes		Agfa Isochron Pan 2-8		Gevaert Gevapan 30		Microfilme Gevaert		Kodak TRI-X Pan		Chapa radiográfica Kodak 30 x 40		Chapa radiográfica dental Kodak	
			R	NR	R	NR	R	NR	R	NR	R	NR	R	NR
	Cépas													
Rápida	Serratia marcescens	+ 1 h	+ 1 h	+ 1 h	+ 1 h	+ 1 h	+ 1 h	+ 1 h	+ 1 h	+ 1 h	+ 1 h	Neg.	+ 18 hs	+ 18 hs
	Pseudomonas aeruginosa	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 24 hs	+ 48 hs	+ 48 hs	+ 48 hs	Neg.	+ 24 hs	+ 24 hs
	Proteus vulgaris	+ 72 hs	+ 72 hs	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	+ 72 hs	+ 72 hs	+ 18 hs	+ 18 hs	Neg.	Neg.	Neg.
	Staphylococcus aureus	+ 48 hs	+ 48 hs	+ 48 hs	+ 48 hs	+ 48 hs	+ 48 hs	Neg.	Neg.	+ 48 hs	Neg.	Neg.	+ 48 hs	Neg.
	Staphylococcus aureus	+ 48 hs	+ 48 hs	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	+ 48 hs	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
	Staphylococcus aureus	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 48 hs	+ 48 hs	+ 18 hs	+ 48 hs	Neg.	+ 18 hs	Neg.
	Staphylococcus aureus	+ 48 hs	+ 48 hs	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	+ 48 hs	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Lenta	Arizona	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 48 hs	+ 48 hs	+ 48 hs	+ 72 hs	+ 72 hs	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 24 hs	Neg.	+ 24 hs	+ 24 hs
	Proteus mirabilis	+ 24 hs	+ 24 hs	+ 48 hs	+ 48 hs	+ 48 hs	+ 96 hs	+ 96 hs	+ 48 hs	+ 48 hs	+ 72 hs	Neg.	+ 48 hs	+ 48 hs
	Proteus morganii	+ 96 hs	+ 96 hs	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	+ 24 hs	Neg.	Neg.	Neg.
Nula	Ballerup	+ 24 hs	+ 24 hs	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
	Escherichia coli	+ 48 hs	+ 48 hs	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
	Escherichia coli	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
	Aerobacter aerogenes	+ 24 hs	+ 24 hs	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
	Aerobacter aerogenes	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.

Str. sp. alfa hemolítico, Str. pyogenes, Str. faecalis, S. typhi 0901 e H901, S. paratyphi, S. schottmülleri, Sh. flexneri 3, Sh. flexneri 5 e Sh. sonnei, revelaram resultados negativos com todos os filmes, revelados e não revelados.

R = revelado.

NR = não revelado.

TABELA IV

Resultados das provas de liquefação rápida da gelatina, com suspensões densas de bactérias gelatinolíticas rápidas e lentas, em filme Gevaert Gevapan 30 e microfilmes Gevaert e Kodak TRI-X Pan, revelados e não revelados.

Atividade Gelatinolítica	Filmes		Revelados			Não revelados		
	Cépas		Gevaert Gevapan 30	Microfilme Gevaert	Microfilme TRI-X Pan Kodak	Gevaert Gevapan 30	Microfilme Gevaert	Microfilme TRI-X Pan Kodak
Rápida	Serratia marcescens		+ 1 h	+ 1 h	+ 1 h	+ 1 h	+ 1 h	+ 1 h
	Pseudomonas aeruginosa		+ 18 hs	+ 24 hs	+ 48 hs	+ 18 hs	+ 24 hs	+ 48 hs
	Proteus vulgaris		Neg.	Neg.	+ 24 hs	Neg.	+ 72 hs	+ 18 hs
	Staphylococcus aureus		+ 48 hs	Neg.	+ 48 hs	+ 48 hs	Neg.	Neg.
	Staphylococcus aureus		Neg.	Neg.	+ 48 hs	Neg.	Neg.	Neg.
	Staphylococcus aureus		+ 18 hs	+ 48 hs	+ 18 hs	+ 18 hs	+ 48 hs	+ 48 hs
Lenta	Arizona		+ 48 hs	+ 96 hs	+ 48 hs	+ 48 hs	+ 96 hs	+ 72 hs
	P. mirabilis		+ 48 hs	+ 72 hs	+ 18 hs	+ 48 hs	+ 72 hs	+ 24 hs

Neg. = gelatinólise negativa.

com *E. coli*, *A. aerogenes*, *Citrobacter (Ballerup)* e *Proteus morganii*. Os microfímes Gevaert e TRI-X Pan Kodak não revelados apresentaram falsos positivos unicamente com o *P. morganii*. O microfilme Gevaert revelado mostrou um resultado falso positivo com *P. morganii* em cultura em caldo Martin.

Nas mesmas Tabelas I, II e III pode-se constatar que as culturas em água peptonada revelaram resultados mais rápidos do que as culturas em caldo Martin. Por outro lado, pareceria que com culturas em água peptonada inoculada maciçamente o resultado da gelatinólise seria conseguido mais rapidamente que com as culturas em água peptonada inoculada da maneira usual.

Na Tabela IV, estão relacionados os resultados das provas realizadas com as suspensões bacterianas densas — tipo de cultura que se provou mais eficiente — dos germes gelatinolíticos rápidos e lentos, frente aos filmes que deram resultados mais satisfatórios, Gevaert Gevapan 30 e microfímes Gevaert e Kodak TRI-X Pan, revelados e não revelados.

DISCUSSÃO

Nos quadros apresentados observa-se uma variação acentuada da sensibilidade dos diversos filmes usados na prova da liquefação da gelatina. Isto faz com que nem todos os filmes possam ser empregados na execução desta prova, dado que resultados falsos positivos e falsos negativos podem ser obtidos.

Por outro lado, procedendo-se à incubação até 96 horas em estufa a 37°C, as respostas à prova foram obtidas em tempos que variaram com o meio de cultura empregado, com o inóculo e ainda com a condição do filme, ou seja, revelado ou não revelado.

Na Tabela IV, podem ser verificadas mais facilmente a variação do tempo de resposta para aquelas bactérias consideradas gelatinolíticas rápidas (*P. vulgaris*, *S. marcescens*, *St. aureus*, *Ps. aeruginosa*) e lentas (*P. mirabilis* e *Arizona*) e ainda os

resultados falsos negativos com os três tipos de filmes mais satisfatórios.

Le Minor e Piechaud⁵ empregando bactérias gelatinolíticas rápidas e lentas verificaram resultados positivos em tempos que em alguns casos diferem daqueles por nós obtidos. Com relação a *Serratia marcescens*, obtivemos resposta da prova em 1 hora, enquanto aquêles autores tiveram resultado em 2 a 3 horas. Para *Ps. aeruginosa* e *St. aureus*, os tempos por nós obtidos foram muito maiores do que os encontrados pelos autores referidos. Estas diferenças poderiam ser atribuíveis a variação de cêpas. Ainda que os resultados mais lentos por nós obtidos fossem devidos ao método de incubação utilizado, estufa em vez de banho-maria com agitação, ainda assim o método ter-se-ia demonstrado eficiente e suficientemente rápido.

Na avaliação total dos resultados, podemos apreciar que o único filme que sempre apresentou resultados específicos foi o microfilme Kodak TRI-X Pan, revelado. As chapas radiográficas 30 x 40 e a dental — ambas Kodak — e o microfilme Kodak TRI-X Pan não revelado mostraram resultados falsos negativos. Os demais filmes, revelados e não revelados, quando testados frente às cêpas usadas neste estudo, deram alguns resultados positivos falsos.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo nos permitem apresentar as seguintes conclusões:

1. Dos filmes empregados, o microfilme Kodak TRI-X Pan revelado foi o único que forneceu resultados específicos na prova de liquefação rápida da gelatina, sempre que usado com culturas em água peptonada. Com este mesmo filme não revelado, obtiveram-se resultados falsos negativos.

2. Os demais filmes usados, Agfa Isochron Pan 2-8, Gevaert 30, Microfilme Gevaert e Chapas Radiográficas 30 x 40 Kodak e Dental Kodak, quer revelados, quer não revelados, tendo apresentado re-

sultados falsos positivos e falsos negativos, com qualquer tipo de cultura, não devem ser empregados nesta prova.

3. As culturas em água peptonada revelaram resultados mais rápidos do que as culturas em caldo Martin. Pareceria, por outro lado, que se empregando culturas em água peptonada inoculada maciçamente os resultados positivos seriam obtidos mais rapidamente que com culturas em água peptonada inoculada maneira usual.

4. A incubação em estufa a 37°C é eficiente quando os resultados são observados até 96 horas.

SUMMARY

The present paper refers to bacterial gelatinase tests. Rapid and slow liquefying bacteria were used as well as non-liquefying species. Tests were run on photographic films, developed and undeveloped. Brands used were Agfa Isochron Pan Gevaert Gevapan 30, Gevaert and TRI-X Pan Kodak microfilms, 30 x 40 cm Kodak Medical X-ray and Kodak Dental X-ray films. Culture media used were peptone water and Martin's infusion broth. Inoculation methods were both conventional and massive, where peptone water were concerned and only conventional regarding Martin's infusion broth. Incubation was carried out at 37°C for 96 hours. Specific results were obtained with developed

Kodak TRI-X Pan microfilm when peptone water cultures were used. It would seem that the use of massively inoculated cultures in peptone water might provide faster results.

AGRADECIMENTO

Ao técnico José Moraes de Godoy da Cadeira de Microbiologia e Imunologia Aplicadas, o nosso reconhecimento pelo valioso auxílio técnico prestado na execução deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARER, G. citado por WILSON, G. S. & MILES, A. A. — Topley and Wilson's principles of bacteriology and immunity. 4th ed. London, Edward Arnold, 1955. v. I, p. 453.
2. BREED, R. S. et alii — Bergey's manual of determinative bacteriology. 7th ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1957.
3. KOHN, J. — The use of denatured gelatin for biochemical tests. *J. Clin. Path.*, 6: 250, 1953.
4. LAUTROP, H. — A modified Kohn's test for the demonstration of bacterial gelatin liquefaction. *Acta Path. Microb. scand.*, 39 (5): 357-369, 1956.
5. LE MINOR, L. & PIÉCHAUD, M. — Une méthode rapide de recherche de la protéolyse de la gelatine. *Ann. Inst. Pasteur*, 105 (4): 792-794, oct. 1963.
6. SOCIETY OF AMERICAN BACTERIOLOGISTS — Manual of microbiological methods. — New York, McGraw-Hill, 1957.