

Atividade antibacteriana do *Aspergillus niger* van Tieghem, 1867

Pesquisas em 14 amostras da *National Collection of Type Cultures* (M.R.C.)

por

Adolpho da Rocha Furtado
Biologista

A pesquisa da antibiose entre os cogumelos continua a ser assunto para numerosos trabalhos científicos. Muitas espécies de ficomicetos (18, 22), ascomicetos (18, 22), basidiomicetos (19, 21, 22) e cogumelos imperfeitos (17) já foram estudadas. Todavia, os gêneros *Aspergillus* (6, 17, 20, 22) e *Penicillium* (17, 18, 22) são, até agora, os que apresentam maior número de espécies com atividade antibiotica.

Quanto ao *Aspergillus niger*, já foi verificada sua ação contra virus de plantas (4, 8, 9, 10, 15); cogumelos dos gêneros *Fusarium* e *Helminthosporium* (1), *Aspergillus* (2, 7), *Peziza* (12, 15) e *Rhizoctonio* (13, 15, 16); tuberculina (14); bacilo da tuberculose humana e bovina (15, 23); *Staphylococcus aureus* (3, 11) e mais as seguintes bacterias (3): *Streptococcus pyogenes*, *Micrococcus*, *Staphylococcus albus*, *Pneumococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Echerichia coli*, *Eberthella typhosa*, *Salmonella*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megatherium* e *Pasteurella* sp.

Em nossas pesquisas anteriores (6), 32 amostras de *Aspergillus niger*, da Micoteca do Instituto Oswaldo Cruz, foram inativas contra *Staphylococcus aureus*; identico resultado obtiveram Wilkins e Harris (17).

MATERIAL

Estudamos 14 amostras de *Aspergillus niger*, que nos foram diretamente enviadas por W. H. Wilkins e G. C. M. Harris, do Laboratorio de Micologia do Departamento de Botanica da Universidade de Oxford, com o pedido especial para dosarmos sua atividade antibiotica, pelo método que adotamos

(*) Este Trabalho foi realizado na Secção de Micologia da Divisão de Microbiologia e Imunologia do Instituto Oswaldo Cruz, sob a direção do Dr. Arêa Leão, a quem agradecemos a orientação.

em trabalhos anteriores (5, 6). Todas as amostras enviadas pertencem à National Collection of Type Cultures (M.R.C.) onde estão registradas com os seguintes numeros: 308, 603, 779, 1.161, 1.214, 2.389, 2.390, 2.443, 2.858A, 3.902, 4.030, 5.604, 5.604-A e 5.857-A.

TECNICA

Logo que recebemos as amostras, repicámos em meio de Sabouraud glicosado, a fim de trabalharmos sempre com culturas recentes. Utilizámos, para dosagem, os seguintes meios líquidos: Raulin e Mosseray, levedo peptonado (5) e Czapek-Dox com 5% de "corn-steep".

A pesquisa da atividade antibacteriana foi feita em duas séries: a primeira, nos 6.º, 12.º, e 18.º dias; a segunda, do 3.º dia até o completo desaparecimento. Empregámos a técnica comum de diluições em série, a partir de 1:5, usando como microorganismo teste o *Staphylococcus aureus* n.º 553, da coleção do Dr. Genesio Pacheco. A atividade antibacteriana era verificada pela ausencia de turvação do caldo, após 24 horas de permanencia na estufa a 37.º C.

RESULTADOS

O crescimento nos meios líquidos, à temperatura ambiente, variou muito; algumas amostras apresentaram pelicula completamente branca; outras, parda, amarela ou alaranjada. A esporulação era, às vezes, rápida e abundante (amostras 308, 1.161, 1.214, 2.389, 2.390, 2.443, 3.902, 4.030 e 5.604). A amostra 2.390, desde o 3.º dia, apresentou pigmentação laranja intensa.

Apresentaram atividade total, no meio de Raulin e Rosseray, as seguintes amostras: 1.161 e 2.390 pelo menos até o 42.º dia; 2.389 até o 7.º dia; 4.030 do 12.º ao 17.º dia; 779 e 1.214 apenas no 5.º dia e 2.443 apenas do 8.º dia. Amostras 308, 603, 3.858-A, 3.902, 5.604, 5.604-A e 5.857-A não apresentaram atividade.

DISCUSSÃO

Pelos resultados apresentados acima, podemos observar a atividade antibacteriana de algumas amostras de *Aspergillus niger*. Em nenhuma dosagem, a atividade foi superior a 1:10, o que demonstra a baixa atividade destas amostras nos meios utilizados.

O meio de Raulin e Mosseray foi ainda o mais eficiente. No meio de levedo peptonado, todas as amostras apresentaram-se inativas. Ao contrário

do que esperavamos, a utilização do meio de Czapek-Dox com "corn-steep", que tem aumentado a produção da penicilina, não melhorou em nada a atividade do *Aspergillus niger*.

Chamamos a atenção para o seguinte fato: no meio de Raulin e Mosseray, o líquido de cultura das amostras 1.161 e 2.390 permaneceu ativo por mais de 40 dias, ao fim dos quais, exgotado pelas sucessivas retiradas de material para dosagem, adicionamos 50 ml. do mesmo meio, tendo o cuidado de conservar o micelio. O novo meio ficou inativo por vários dias. Não nos é possível afirmar ainda se o *Aspergillus niger* elabora substância ativa por tanto tempo; se, apesar de cessar a elaboração, a substância é estável à temperatura ambiente ou se vai sendo concentrada no meio à proporção que retiramos material para dosagem.

SUMÁRIO

1. Pesquisamos a atividade antibacteriana em 14 amostras de *Aspergillus niger* da National Collection of Type Cultures.

2. Em meio de Raulin e Mosseray, sete amostras apresentaram atividade total, nunca superior a 1:10, contra *Staphylococcus aureus* n.º 553, sendo que as amostras 1.161 e 2.390 permaneceram ativas por mais de 40 dias.

3. A utilização do meio de Czapek-Dox com 5% de "corn-steep" não melhorou os resultados obtidos com o meio de Raulin e Mosseray.

4. No meio de levedo peptonado, todas as amostras apresentaram-se inativas.

SUMMARY

The Author investigated the antibacterial activity of 14 strains of *Aspergillus niger* from the National Collection of Type Cultures.

In the Raulin & Mosseray medium, 7 strains presented total activity, never more than 1:10, against *Staphylococcus aureus* n.º 553, The strains of the nrs. 1.161 and 2.390 remained active during more than 40 days.

The Czapek-Dox medium with 5% of corn-steep did not improve the results obtained with the Raulin & Mosseray medium.

In the yeast with peptone medium all the strains are inactive.

BIBLIOGRAFIA

1. CARTER, J. C.
1935. Growth association of microorganisms. *Phytopath.* 1935, 25 (1) : 9.
2. D'AETH, H. R. X.
1939. A survey of interaction between fungi.
Biol. Rev. 1939, 14 (2) : 105-131.
3. FOSTER, JACKSON W. and KAROW, EDWARD O.
1945. Microbiological aspects of penicillin. VIII. Penicillin from different fungi.
J. Bact. 1945, 49 (1) : 19-29.
4. FULTON, ROBERT W.
1943. The sensitivity of plant viruses to certain inactivators.
Phytopath. 1943, 33 (8) : 674-682.
5. FURTADO, ADOLPHO DA ROCHA
1944. Atividade antibacteriana do *Aspergillus flavus*.
Mem. Inst. Osw. Cruz 1944, 41 (1) : 45-57.
6. FURTADO, ADOLPHO DA ROCHA
1944. Pesquisa da atividade antibacteriana em 180 amostras de *Aspergillus Micheli*,
1729. *Mem. Inst. Osw. Cruz* 1944, 41 (2) : 205-222.
7. HOYMAN, WM. G.
1938. Effect of growth-inhibiting substances present in nutrient solution of *Asper-*
gillus species. *Phytopath.* 1938, 28 (1) : 9-10.
8. JOHNSON, JAMES and HOGGAN, ISMÉ A.
1937. The inactivation of the ordinary tobacco-mosaic virus by microorganisms.
Phytopath. 1937, 27 (10) : 1.014-1.027.
9. JOHNSON, JAMES
1938. Plant viruses inhibitors produced by microorganisms.
Science 1938, 88 (2.293) : 552-553.
10. JOHNSON, JAMES
1941. Chemical inactivation and the reactivation of a plant virus.
Phytopath. 1941, 31 (8) : 679-701.
11. PINSCHMIDT, N. W. and LEVY, BARNET
1944. A simples method for the routine search for antibiotic substances produced by
molds. *J. Pharm. Exptl. Therap.* 1944, 82 (1) : 19-22.
12. REINHARDG, M. C.
1892. Das Wachstum der Pilzhyphen.
Jahrb. wiss. Bot. 1892, 23 : 479-566.
Citado por WAKSMAN, SELMAN A. (15).
13. VASUDEVA, R. SAHAI
1936. *Indian J. Agr. Sc.* 1936, 6 : 904-916 e 1941, 11 : 422-431.
Citado por WAKSMAN, SELMAN A. (15)

14. VAUDREMER, ALBERT
1910. Action de quelques microbes sur la tuberculine. Contribution à l'étude de la nature de la tuberculine. Ann. de l'Inst. Pasteur 1910, 24 (3) : 189-195.
15. WAKSMAN, SELMAN A.
1945. Microbial antagonisms and antibiotic substances. Ed. 1945.
16. WEINDLING, R.
1934. Various fungi recently found to be parasitic on *Rhizoctonia solani*. Phytopath. 1934, 24 (10) : 1.141.
17. WILKINS, W. H. and HARRIS, G. C. M.
1942. Investigation into the production of bacteriostatic substances by fungi. I. Preliminary examination of 100 fungal species. Brit. J. Exptl. Path. 1942, 23 (4) : 166-169.
18. WILKINS, W. H. and HARRIS, G. C. M.
1943. Investigation into the production of bacteriostatic substances by fungi. Preliminary examination of a second 100 fungal species. Brit. J. Exptl. Path. 1943, 24 (4) : 141-143.
19. WILKINS, W. H. and HARRIS, G. C. M.
1944. Estimation of the antibacterial activity of fungi that are difficult to grow on liquid media. Nature 1944, 153 (3.899) : 590-591.
20. WILKINS, W. H. and HARRIS, G. C. M.
1944. Investigation into the production of bacteriostatic substances by fungi. V. Preliminary examination of the third 100 fungi, with special reference to strain variation among species of *Aspergillit*. Trans. Brit. Mycol. Soc. 1944. Citado pelos Autores (21, 22).
21. WILKINS, W. H. and HARRIS, G. C. M.
1944. Investigation into the production of bacteriostatic substances by fungi. VI. Examination of the larger Basidiomycetes. Ann. Appl. Biol. 1944, 31 (4) : 261-270.
22. WILKINS, W. H. and HARRIS, G. C. M.
1944. Investigation into the production of bacteriostatic substances by fungi. Preliminary examination of a fourth 100 species, all *Penicillia*. Brit. J. Exptl. Path. 1944, 25 (5) : 135-137.
23. ZORZOLI, G.
1940. Influenza dei filtrati de alcuni miceti sul Bacillo tubercolare umano e bovino. Ann. Inst. Carlos Forlanini 1940, 4 : 208-220. Citado por WAKSMAN, SELMAN A. (15).